Späth, H. L. Der Johannistrieb. Ein Beitrag zur Kenntnis der Periodizität und Jahresringbildung sommergrüner Holzgewächse. Berlin 1912.
Staby. Verschluss der Blattnarben nach Abfall der Blätter. Flora 1886.
Volkens, G. Laubfall und Blatterneuerung in den Tropen. Berlin 1912.
Wiesner, J. Zur Laubfallfragz. Ber. d. deutsch. bot. Ges. 25, 1906.

Zur chemischen Organisation der Zelle.

Von W. Ruhland.

Vor kurzem habe ich den Nachweis geführt[1]), dass die Durchlässigkeit der lebenden Plasmahaut, gemäß ihrer Gelnatur, für Kolloide durch die Teilchengröße der Sole (Dispersitätsgrad, spezifische Oberfläche) bestimmt wird. Diese Rolle des physikalischen Spannungshäutchens des Protoplasten entsprach also genau der eines Ultrafilters, von welchem die Teilchen der Sole je nach der „Konzentration", also Porenweite des Filtergels, durchgelassen oder zurückgehalten werden. Diese einfachen physikalischen Beziehungen traten rein, vor allem von Adsorptionserscheinungen ungestört, zutage, wenn die Sole in genügendem Überschuss verwendet wurden.

Ich hatte in jener Arbeit als Sole wegen ihres leichten Nachweises in der Zelle die wässerigen „Lösungen" einer großen Anzahl von Anilinfarbstoffen verwendet, bei denen die Dispersität den gesamten weiten Bezirk zwischen groben Suspensoiden bis nahe zu iondispersen Lösungen umfasst. Da ferner zu diesen Verbindungen, je nachdem der Farbstoff das Kation oder Anion bildet, sowohl positiv wie negativ geladene Kolloide gehören, erschien es mir zur Begründung der entwickelten Auffassung nicht nötig, noch andere Kolloide in meine Veröffentlichung einzubeziehen, um so weniger, als mir bereits einige Versuche mit nichtpermeierenden zelleigenen Kolloiden, wie Gerbstoffen, Saponinen, Anthocyanverbindungen, Inulin u. s. w., wie nicht anders zu erwarten war, die Gültigkeit der gefundenen Gesetzmäßigkeiten auch für diese dargetan hatten.

Wenn nun auch demnach diese zelleigenen Kolloide für das kapillarchemische Verständnis der Plasmahaut kaum wesentlich Neues bieten dürften, so wird doch für die Beurteilung ihrer Leitung, Speicherung, event. ihres ganzen physiologischen Verhaltens das genauere Studium ihrer Diffusibilität in Gelen erhebliche Bedeutung haben. Es ist indessen nicht meine Absicht, im folgenden Näheres in dieser Richtung mitzuteilen.

Vielmehr wandte sich mein Interesse nach Aufdeckung der Ultrafilternatur der lebenden Plasmagrenzhäute an Pflanzenzellen vor allem dem Verhalten der Enzyme zu, da dieses weit mehr

1) „Studien über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut" (Jahrb. f. wiss. Botan. 51. 1912, S. 376).

als die spezielle Kapillarchemie der übrigen zelleigenen Kolloide von zellphysiologischer Bedeutung sein musste.

Die besondere Schwierigkeit, welche das chemische Getriebe der Zelle auch nach Auffindung der zahlreichen Enzyme dem physiologischen Verständnis von jeher bot, lag vor allem in der verwirrenden Mannigfaltigkeit, dem lokalen und zeitlichen und doch anscheinend ungestörten Nebeneinanderlaufen der verschiedenen, ohne Zweifel z. T. antagonistischen Einzelreaktionen.

Gerade dieses Problem hat bekanntlich Hofmeister[2]) vor einigen Jahren zum Gegenstand einer anziehenden Darstellung gemacht und ist hierbei auf Grund unserer bisherigen Kenntnisse und aus vorwiegend theoretischen Erwägungen heraus zu Vorstellungen gelangt, die seither in vielen die Enzymwirkungen zusammenfassend betrachtenden Arbeiten Beifall — von manchen Autoren allerdings nicht uneingeschränkten — gefunden haben[3]). Demzufolge dürfte es sich wohl empfehlen, in den nachfolgenden Zeilen, die in aller Kürze die gleiche Frage behandeln sollen, an die Hofmeister'sche Darstellung anzuknüpfen, wozu sie auch durch ihre Prägnanz besonders geeignet erscheint.

Wenn wir von demjenigen uns hier weniger interessierenden Teil der Ausführungen Hofmeister's absehen, welche die katalytische Natur der Enzymreaktionen in ihrer physiologischen Bedeutung behandeln, so können wir zwei Hauptpunkte in jener Darstellung hervorheben: Beide betreffen die Kolloidnatur der Enzyme, und zwar wird ihre Bedeutung einmal darin gefunden, dass die letzteren als die chemischen Mittel der Zelle durch sie vor einer Ausschwemmung durch den die Zelle stetig durchsetzenden Diffusionsstrom sichergestellt werden. Ferner ist aber auch die aus allgemein chemischen Gründen zu fordernde speziellere Lokalisierung der einzelnen Enzyme innerhalb des Protoplasten nach Hofmeister aus ihrer Kolloidnatur in Verbindung mit der besonderen Struktur des Protoplasmas zu folgern.

Beide Hauptpunkte haben also, wie man sieht, im Grunde das Problem der diosmotischen Eigenschaften des Plasmas für Enzyme zum Gegenstande, dessen Wichtigkeit in der Tat nicht überzeugender dargetan werden kann, als es von Hofmeister an jener Stelle geschieht. Wir werden im folgenden öfter Gelegenheit nehmen, auf seine Ausführungen im einzelnen einzugehen. Zunächst aber, und namentlich um unsere eigenen Anschauungen zu begründen, ist es geboten, das genannte Grundproblem etwas näher zu erörtern.

---

2) „Die chemische Organisation der Zelle" (Naturwiss. Rundschau, 1901).

3) Vgl. zu dieser Frage u. a. Czapek, „Biochemie der Pflanzen", Bd. I, S. 35; Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., S. 13; M. Jacoby, „Stoffwechsel der Zelle" (Oppenheimer's Handb. d. Biochem. II [1908], 11); Höber, „Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe", 3. Aufl., S. 619).

Was zunächst überhaupt die Kolloidnatur der Enzyme anbelangt, so wird sie wohl meist als feststehend angenommen. Oppenheimer[4]) sieht darin sogar das Einzige, was über die Natur der meisten Fermente mit Sicherheit ausgesagt werden kann. In der Tat dürfte das für alle zweifellos als solche charakterisierten Enzyme Geltung haben. Auf die Tatsachen, welche im einzelnen dafür sprechen und in Anspruch genommen worden sind, alle einzugehen, würde hier zu weit führen. Es muss deshalb auf die bekannten Sammelwerke verwiesen werden. Freilich bleibt eine kritische Durcharbeitung dieses schwierigen Kapitels wohl immer noch zu wünschen.

Etwaige Zweifel an der Kolloidität der Enzyme knüpfen sich wohl an die Tatsache der immer noch mangelnden „Reindarstellung" derselben. Aber gerade diese Tatsache, d. h. die Unmöglichkeit auf Grund von wiederholten Fällungen mit Alkohol u. s. w., und vor allem von Dialysen zu echt gelösten Enzymen zu gelangen, ist neben deren Adsorptions- und Diffusionserscheinungen[5]) wohl das stärkste Argument für die Kolloidnatur.

Die diosmotischen Eigenschaften der Oberflächenspannungshäutchen (Vakuolenhaut und äußere Plasmamembran) der pflanzlichen Protoplasten für Kolloide lassen sich, wie ich in meiner oben zitierten Arbeit gezeigt habe, aus Versuchen über deren Diffusibilität in erstarrten, mindestens etwa 10%igen Gelatinegelen[6]) erschließen. Ich brachte zu diesem Zweck in derselben Weise wie bei den analogen Versuchen mit Farbstoffen mit einer 2 mm im Durchmesser betragenden Platinöse Tropfen der „gesättigten" Enzymlösungen auf die Gelatineoberfläche und stellte die Ausbreitung nach 2 Tagen fest. Untersucht wurden nur einige wenige Enzyme, welche meist durch zweimalige Alkoholfällung aus den Pressäften gewonnen waren.

Sehr bequem in der Ausführung sind z. B. Versuche mit Diastase, wie sie übrigens in ähnlicher Weise, natürlich zu anderen Zwecken, schon öfter, und zwar zuerst wohl von Brown und Morris[7]) ausgeführt worden sind. Untersucht wurden die Sekretionsdiastase des Gerstenmalzes und die Translokationsdiastase aus Erbsenpflanzen, die bekanntlich besonders reichlich in diesen enthalten ist. Da Translokationsdiastase auf gewöhnliche Stärke, besonders intakte Stärkekörner, nur langsam einwirkt, wurde der schwach sauren,

4) „Die Fermente und ihre Wirkungen", 3. Aufl. (1910), Bd. I. S. 28.

5) Auf die ausgedehnte neuere Literatur darüber kann hier nicht eingegangen werden. Man vergleiche z. B. Höber, a. a. O., S. 284ff., 317, 384 u. s. w.

6) Über die Bedeutung der kapillaren Ausbreitungserscheinungen von Kolloiden in Fließpapier für deren Durchtrittsfähigkeit vergleiche meine oben zitierte Arbeit S. 395 ff. Die Gelatine, deren Sorten etwas verschiedene Durchlässigkeit haben, darf natürlich nicht lange und hoch erhitzt werden.

7) „Contributions to the chemistry and physiology of foliage leaves" (Journ. Chem. Soc. 63, 1893).

15 %igen, mit Thymol steril gehaltenen Gelatine eine wenig „lösliche Stärke“ von Merck vor dem Erstarren beigemischt und die Ausbreitung darauf durch Übergießen der Platte mit Jodjodkaliumlösung festgestellt. Da die Ausbreitungszeiten 24 und 48 Stunden betrugen, spielte die verschiedene Wirkungsgeschwindigkeit keine Rolle mehr. Nach 48 Stunden fand keine wesentliche Ausbreitung mehr statt.

Das Resultat war, dass beide Diastasen eine ungefähr gleiche, und zwar erhebliche Ausbreitung zeigten. Die Diffusionshöfe betrugen bei wirksamen Präparaten nach Ablauf von 48 Stunden etwa 1,5—2,5 cm im Durchmesser[8]).

In ähnlicher Weise wurde eine aus Zuckerrübenblättern erhaltene kräftige Invertase[9]) untersucht. Nachdem sich die Ausbreitung der durch Zusatz eines im Gel nicht diffusiblen Farbstoffes (Chicagoblau B) nach dem ursprünglichen Umriss markierten Tropfen während 48 Stunden vollzogen hatte, wurden schmale Ringzonen vom Radius 1,0—1,5 cm aus der Gelatine ausgestanzt, in gelinder Wärme gelöst und zu einer mit Toluol versetzten Rohrzuckerlösung zugefügt. Die Wirksamkeit des Enzyms konnte leicht mit dem Halbschattenapparat polariskopissh festgestellt werden.

Als Beispiel für ein glykosidspaltendes Enzym wurde die von Marshall Ward und Dunlop[10]) studierte Rhamnase gewählt. Kleine Mengen der feucht zerriebenen Raphe des Samen von *Rhamnus infectoria* (der sogen. persischen Beere) wurden auf die thymolhaltige Gelatineoberfläche gebracht und nach 2 Tagen Ausstanzungen in 0,5 cm Entfernung rings um die Samenteilchen vorgenommen. Wenn diese Gelatinestückchen vorsichtig geschmolzen und in Auszüge aus dem Perikarp der Früchte derselben Pflanze, die bekanntlich keine Rhamnase, sondern das Xanthorhamnin enthalten, eingetragen wurden, so erfolgte nach kurzer Frist das Ausfallen des charakteristischen goldgelben Niederschlages der färbenden Substanz.

Um in derselben Richtung auch ein oxydasisches Enzym zu untersuchen, wurde Pressaft aus Grasblättern auf mit einer Thymolgelatine überzogenen Objektträgern tropfenweise aufgetragen. Nachdem die Objektträger 2 Tage in einer sauerstoffreien Atmosphäre verweilt hatte, wurden sie in eine frisch bereitete Guajaklösung eingetragen. Nach genügender Einwirkung und Verdunstung des Alkohols wurde auf die Gelatine schwache Wasserstoffsuperoxyd-

---

8) Die Durchmesser hängen natürlich auch von der Stärkekonzentration ab, da von den geringen Enzymmengen in den äußeren Diffusionszonen schließlich nicht mehr alle Stärke verzuckert werden kann.

9) Vgl. W. Ruhland, „Untersuchungen über den Kohlenhydratstoffwechsel von *Beta vulgaris*“ (Jahrb. f. wiss. Bot. 50 [1911], 200).

10) „On some points in the histology of the fruits and seeds of Rhamnus“ (Ann. of Botan. I, 1887, 1).

lösung aufgetragen, welche nun an der Bläuung eine entsprechende Ausbreitung der Oxydase erkennen ließ[11]).

Alle diese Versuche lassen also übereinstimmend eine überaus leichte Diffusibilität der Enzyme in Gelen erkennen, welche an die der leicht beweglichen Anilinfarbstoffe erinnert und zeigen, dass die Dispersität oder „spezifische Oberfläche" derselben eine sehr hohe sein muss. Ebenso folgt aus diesen Resultaten nach Analogie der Farbstoffe und anderen Kolloiden unzweifelhaft, dass alle diese Enzyme leicht durch die lebende Plasmahaut hindurchtreten müssen.

Wir können uns also nicht mit Hofmeister zu der Annahme verstehen, dass schon der Kolloidcharakter die Enzyme vor einer „Ausschwemmung" aus der Zelle sichert. Vielmehr reiht sie ihr Verhalten in Gelen unter diejenigen Kolloide, welche weitaus leichter als die meisten iondispersen Stoffe zu permeieren vermögen.

Wie stimmen nun unsere sonstigen physiologischen Erfahrungen zu diesen Resultaten? Bezüglich der sekretorischen oder sogen. „Ektoenzyme", wie es die Malzdiastase u. a. ist, kann ja kein Zweifel herrschen, dass sie bei der Sekretion durch die Plasmahaut der ausscheidenden lebenden Zellen nach außen hindurchtreten. Solche Fälle sind nun aber relativ selten, die weitaus größere Mehrzahl der Enzyme wird von der lebenden Zelle festgehalten und tritt, so lange diese unbeschädigt ist, nicht einmal in Spuren in umspülende Außenflüssigkeiten über.

Selbstverständlich folgt daraus durchaus nicht, wie man wohl vielfach geschlossen hat, dass derartige Enzyme die Plasmahaut nicht zu permeieren vermögen. Endosmotische Versuche in dieser Hinsicht, also ob bei Darbietung von Enzymen in Außenlösungen ihr Eintritt in die Zelle an chemischen Wirkungen daselbst erkannt werden kann, sind schon öfter angestellt worden, soweit mir bekannt, wohl immer mit negativem Ergebnis. Ja, sogar mit toten Zellen sind solche Versuche meist erfolglos geblieben. Schon Brown und Morris[12]) glaubten, als sie feststellten, dass bei der Keimung der Getreidesamen zunächst die Wände der toten Endospermzellen gelöst werden, dass dies wegen der geringen Diffusibilität der von Scutellum sezernierten Diastase erfolge; und Krabbe[13]) gelang es in der Tat selbst bei wochenlang dauernden sorgfältigen Versuchen niemals, eine Korrosion von Stärkekörnern innerhalb unverletzter, in Diastaselösungen befindlicher toter Zellen aufzufinden. Auch mir ist dies im allgemeinen nicht gelungen.

11) Ein analoger Versuch bei Grüß: „Über Oxydasen und die Guajakreaktion" (Ber. Deutsch. Botan. Gesellsch. XVI, 1898, 139).

12) „Researches on the germination of some of the Gramineae" (Journ. Chem. Soc. 57, 1890).

13) „Untersuchungen über das Diastaseferment" (Jahrb. f. wiss. Botan., 21. (1890), S. 520.

Andrerseits war Krabbe aber in der Lage, die vielfach mit Pergamentpapier, Kollodiumsäckchen, künstlichen Lipoidhäutchen[14]) u. s. w. festgestellte Dialysierbarkeit der Diastase durch eigene Versuche mit Holzmembranen zu bestätigen. Bei allen diesen Versuchen kommt freilich die anfangs verhältnismäßig schnelle Dialyse bald zum Stillstand. Die Ursache davon tritt bei Fällungsversuchen mit Suspensionen oder namentlich bei Filtrierversuchen mit Ton- etc. -kerzen[16]) klar zutage: sie liegt offenbar in Adsorptionsvorgängen und der allmählichen Verstopfung der Filterporen, augenscheinlich durch die von den Enzymen praktisch nicht trennbaren weniger dispersen proteoiden Begleitstoffe.

Während dementsprechend Krabbe, welcher mit rohen Gerstenmalzauszügen arbeitete, zu ganz negativen Ergebnissen kam, gibt z. B. Grüß[17]) an, dass er mit Hilfe eines gut gereinigten und kräftig wirksamen Diastasepräparates schließlich deutliche Korrosionen an Stärkekörnern innerhalb intakter toter Zellen erhalten habe. Freilich beobachtete er dies auch erst nach mehrwöchentlicher Versuchsdauer, und nachdem wohl auch die Membran fermentative Veränderungen erlitten hatte.

Bei diesen Versuchen dringt nun offenbar, genau wie bei den Dialyseversuchen mit den verschiedenen Membranen, anfänglich ziemlich rasch, bald aber nur noch wenig oder gar keine Diastase mehr ein. Die sehr geringe Diastasemenge, die auf solche Weise überhaupt in das Zellinnere gelangt, genügt offenbar meist nicht, um deutliche Korrosionen hervorzurufen. Nur ein einschlägiger Versuch von vielen sei hierzu kurz erwähnt. Eine von mir frisch dargestellte Malzdiastase hatte bereits nach 24 Stunden bei $+8^{\circ}$ C. freiliegende Kartoffelstärke korrodiert, vermochte indessen selbst bei dreiwöchentlicher Versuchsdauer keine erkennbare Wirkung an Schnitten durch die Kartoffelknolle, d. h. auf Stärkekörner auszuüben, die in sonst intakten, aber mit Chloroform getöteten Zellen eingeschlossen waren. Lässt man die Schnitte dagegen vor dem Versuch kurz in Wasser von etwa 70—80° C. verweilen, so dass die Stärke mehr oder weniger verkleistert wird, so kann man schon nach 24 Stunden, und auch mit rohen Gerstenmalzauszügen, ein völliges Verschwinden der Stärke aus vielen oder den meisten intakten Zellen feststellen, da die Diastase auf Kleister bekanntlich viel leichter wirkt, also sich auch eine sehr geringe eingedrungene En-

14) Swart, Biochem. Zeitschr. 6, 1907, 358.

15) Michaelis, Biochem. Zeitschr. 10, 1908, 283; ebenda 12, 1908, 26; Dauwe, Hofmeister's Beitr. 6 (1905), 426; Hedin, Zeitschr. physiol. Chem. 60, 1909, 364 u. s. w.

16) Holderer, „Recherches sur la filtration des diastases" (Thèse, Paris 1911, zit. nach Botan. Centralbl.) u. a.

17) „Über das Verhalten des diastasischen Enzyms in der Keimpflanze" (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd 26, 1894, 379).

zymmenge an der Wirkung sogleich bemerkbar macht. Dass die Ursache nicht in irgendwelcher Veränderung der Zellhäute liegt, die bei ihrer Widerstandsfähigkeit und dem nur kurzen Verweilen in höherer Temperatur ja auch sehr unwahrscheinlich wäre, zeigt u. a. der Umstand, dass die hierbei zufällig nicht verkleisterten Körner in der Diastase wochenlang intakt bleiben können.

Dass Diastase und die meisten anderen Enzyme tatsächlich den toten Plasmaschlauch und die Zellhaut sehr leicht und schnell durchdringen, zeigten eigene sowie zahlreiche Exosmoseversuche verschiedener Autoren. Unter anderen hat noch jüngst Wohllebe[18]) nachgewiesen, dass nach dem Absterben von Wurzeln sogleich Diastase nach außen tritt.

Aber gerade auf die Erfahrungen mit endosmotischen Versuchen ist hinzuweisen, wenn man die Verhältnisse an lebenden Zellen beurteilen will. In der Tat werden wir nicht erwarten dürfen, durch äußere Darbietung z. B. von Diastase Stärkeauflösung im Innern lebender Zellen direkt herbeizuführen, da, wie wir oben sahen, ja schon das beim Absterben koagulierte Plasma und die Zellhaut, zu denen hier als störendes Adsorbens noch die viel engporigeren und also leichter verstopfbaren Gele der lebenden Plasmahaut hinzukommen würden, wochenlang jede sichtbare Wirkung auf intakte Stärkekörner verhinderten. Auf andere naheliegende Schwierigkeiten bei derartigen Versuchen (längere Versuchsdauer, Stärkeumsatz, der schon an sich in der lebenden Zelle erfolgt, mittelbare Wirkungen eindringender Enzyme auf das lebende Plasma und umgekehrt u. s. w.) sei nur kurz hingewiesen.

Es wäre deshalb verfehlt, eine Erhärtung der aus den Diffusionsversuchen mit Gelen gefolgerten leichten Permeabilität der Plasmahaut durch endosmotische Versuche mit Enzymen zu fordern. Eigene langdauernde Versuche mit lebenden Schnitten in oft gewechselten Diastaselösungen bei Temperaturen von + 5 bis 8° C. haben, wie zu erwarten war, nie eindeutige, positive Resultate ergeben. Ebensowenig gelang es mir jemals, z. B. durch Invertaselösungen[19]) spezifische Wirkungen (Druckänderungen) in lebenden Zellen der *Beta*-Wurzel gegenüber Kontrollschnitten zu erzeugen.

Immerhin wäre es erwünscht, Tatsachen in dieser Richtung anführen zu können In der Literatur finden sich gelegentlich bezügliche Hinweise. So gibt z. B. Tischler[20]) an, dass er stärkehaltige und keimungsunfähige Pollen von *Cassia Fistula* durch

18) Wohllebe, „Untersuchungen über die Ausscheidung von diastatischen und proteolytischen Enzymen bei Samen und Wurzeln“ (Dissert., Leipzig 1911).

19) Auch Invertase tritt aus abgestorbenen Zellen meist sogleich nach außen. Vgl. u. a. W. Ruhland, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 50 (1911), S. 253 f.

20) „Untersuchungen über den Stärkegehalt des Pollens tropischer Gewächse“ (Jahrb. f. wiss. Bot. 47, 1910, 219).

Übertragen in diastasehaltiges Wasser zur Auflösung der Stärke und zum Auskeimen gebracht habe. Wie aus dem ganzen Gedankengange und mehreren Stellen bei Tischler auch noch ausdrücklich hervorgeht, nimmt dieser Autor hier eine unmittelbare lösende Wirkung der eingedrungenen Diastase an[21]).

Nach unseren Erfahrungen vermögen wir ihm, obwohl wir seine Objekte nicht unter den Händen gehabt haben, hierin nicht beizustimmen. Die erwähnte Wirkung vollzog sich nach Tischler in kürzester Frist. Schon nach wenigen Stunden war die Stärke meist ganz oder zum Teil aufgelöst und die Körner sogar schon in Keimung begriffen. Die angewendete Diastaselösung war eine sehr schwache. Man vergleiche damit, was oben über die Dauer solcher Versuche selbst mit toten stärkehaltigen Zellen gesagt wurde. Auch Pollenkörner verhalten sich nicht anders. Ich habe verschiedene unreife stärkehaltige Pollen, deren Zellhaut für das Enzym also noch leichter permeabel war, in Chloroform getötet und in starke Diastaselösungen gebracht. Es dauerte 4—5 Wochen, bis hier und da im günstigen Falle einmal gewisse Anzeichen einer Diastasewirkung sich erkennen ließen. Mit lebenden Pollenkörnern habe ich nie den geringsten Erfolg gehabt.

Dennoch ist natürlich an der von Tischler beobachteten Wirkung des Diastasepräparates auf die Keimung der Pollenkörner nicht zu zweifeln, und auch v. Faber berichtet[22]) von einem völlig entsprechenden Versuch an Pollenkörnern von *Psychotria bacteriophila*. Es muss somit von dem zugesetzten Präparat natürlich auch etwas in das Plasma des Pollens eingedrungen sein, und zwar mit großer Geschwindigkeit, wenn man bedenkt, dass sogar die Keimung schon in der genannten Frist erfolgt war. Wir dürften also diesen interessanten Tischler'schen Versuch als Beweis für die aus unseren Geldiffusionsversuchen gefolgerte leichte Durchtrittsfähigkeit durch die Plasmahaut ins Treffen führen, wenn es sicher wäre, dass tatsächlich eigentliches Enzym aus dem zugesetzten Präparat die angeführte Wirkung ausübte. Es ist aber natürlich auch mög-

---

21) Ein sicher bezeugter Fall einer von außen bewirkten Sekretion eines Enzyms in das Innere einer lebenden Zelle hinein ist mir vom normalen pflanzlichen Stoffwechsel nicht bekannt. Spatzier („Über Auftreten und die physiologische Bedeutung des Myrosins in der Pflanze," Jahrb. f. wiss. Bot. 25, 1893, S. 39) gibt an, dass ihm an keimenden Senfsamen ein schwacher Senfölgeruch aufgefallen sei. Da hier bekanntlich Glykosid und Myrosin in gesonderten lebenden Zellen enthalten sind, könnte eine solche Sekretion vermutet werden. Mir ist dieser Geruch nur bei *Sinapis alba* aufgefallen; hier kommen aber Myrosinzellen in der Testa vor, die z. B. bei *Brassica nigra* fehlen. Es handelt sich also offenbar beim weißen Senf um Reaktionen in der toten, beim Keimen mit Wasser durchtränkten Testa. — Inwieweit durch Parasiten solche Sekretionen hervorgerufen werden, soll hier nicht weiter erörtert werden.

22) Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. 51, 1912, S. 311 Anm.

lich, dass andere, vielleicht nur in Spuren anwesende Bestandteile desselben im Spiele sind bei dieser Reizwirkung. Diese mag dann möglicherweise wesentlich in einer Anregung des Plasmas zu vermehrter Diastasebildung bestehen, welche die vielleicht deshalb keimungsunfähig gewordenen Pollenkörner eingebüßt hatten.

Eine ähnliche, zwar nicht auf die Keimung der Pollenkörner, sondern auf die Richtung der Pollenschläuche bezügliche, und zwar positiv chemotropische Wirkung von Diastasepräparaten hat bekanntlich Lidfors[23]) beschrieben, aus denen ebenfalls eine Bestätigung unserer aus den Geldiffusionsversuchen gezogenen Schlüsse zu entnehmen wäre. Lidfors hat mit dialysierter Diastase gearbeitet, und auch Präparate aus den Pressäften verschiedener Pflanzen (Gerstenmalz, Pisum, Lathyrus) verwendet, wobei eine je nach deren Diastasegehalt verschieden starke chemotropische Wirkung von ihm beobachtet wurde. Ich selber fand auch Invertase wirksam. Ein durch zweifache Alkoholfällung aus Presssaft von *Beta vulgaris* gewonnenes und 6 Wochen lang unter Thymolzusatz durch Dialyse gegen fast täglich gewechseltes destilliertes Wasser gereinigtes Präparat gab folgende Resultate mit Pollen von *Primula sinensis* auf Agar: War Material der Wurzel verarbeitet worden, so war kaum eine deutliche chemotropische Wirkung zu erkennen, dagegen erwies sich Blattmaterial als überaus wirksam. Ersteres enthielt kein Invertase und nur schwer nachweisbare Diastasemengen, letzteres war an beiden Enzymen, namentlich auch an Invertase reich[24]). Allerdings ist auch hierin noch kein ganzbindender Beweis im obigen Sinne zu erblicken.

Sehr bemerkenswert ist schließlich noch, dass neuerdings Lehmann und Ottenwälder[24a]) übereinstimmend mit den älteren Angaben von Crocker, Waugh, Kinzel u. a. das Eindringen proteolytischer Enzyme in keimende Samen von außen her dartun konnten.

Das Vermögen der uns hier interessierenden Enzyme, sehr geschwind durch die lebende Plasmahaut zu permeieren, kann jedenfalls nicht ernstlich angezweifelt werden. Für die Sekretionsdiastase des Malzes ist das selbstverständlich. Diese hat aber keine andere Geldiffusion als die Translokationsdiastase der Erbse, die Invertase u. s. w. Die Geldiffusion aller ist sehr erheblich und so groß wie die leicht permeierender Anilinfarbstoffe.

Ein Bedenken dagegen, die auf Grund von Versuchen mit Farbstoffen gewonnenen Erfahrungen über die Kolloidpermeabilität der

23) Vgl. namentlich Zeitschr. f. Bot., I, 1909. Über das Eindringen solcher chemotropisch wirksamen Stoffe vergl. W. Rothert, „Beobachtungen und Betrachtungen über taktische Reizerscheinungen“ (Flora 88, 1901, S. 370, bes. S. 410 ff.).

24) Ruhland, Jahrb. f. wiss. Bot. 50 (1911), S. 200.

24a) Zeitschr. für Botanik 5 (1913), 346.

Plasmahaut auch auf andere Kolloide anzuwenden, kann wohl auch nicht bestehen. Denn die von mir geprüften, sehr zahlreichen Farbverbindungen waren von der verschiedensten chemischen Beschaffenheit, zeigten die verschiedensten Abstufungen des Kolloidcharakters, umfassten sowohl anodisch wie kathodisch wandernde Verbindungen, und solche, die dem Typus der hydrophilen wie dem der suspensoiden Kolloide entsprachen. Für alle diese Kategorien erwiesen sich die bezüglich des Permeierens aufgefundenen Gesetzmäßigkeiten als durchgehend gültig. Dasselbe gilt, wie wir oben sahen, für die bisher geprüften, nicht gefärbten, zelleigenen Kolloide. Die Enzyme zeigen besonders leichte Geldiffusibilität; sie sind wohl den Hydrophilkolloiden zuzuzählen. Elektrische Überführungsversuche an ihren „Lösungen“ [25]) oder Bestimmungen des isoelektrischen Punktes[26]), ferner Adsorptionsstudien haben ergeben, dass auch bei ihnen bald ein saures, bald ein basisches Verhalten vorherrscht.

Ist es nun schon unzulässig, wie Hofmeister wollte, aus dem bloßen Kolloidcharakter der Enzyme ein Gebundensein an die Mutterzelle zu folgern, so müssen wir nach den hier mitgeteilten Erfahrungen in den Enzymen sogar solche Kolloide erblicken, die auf das leichteste die Plasmahaut zu permeieren vermögen. Wir sehen jedoch, dass die lebende unversehrte Zelle, ihre Enzyme, von den sekretorischen abgesehen — durchaus festhält und nicht in den geringsten Spuren an umspülende Lösungen nach außen abgibt[27]), eine Tatsache, die somit einer ganz anderen Erklärung als der auf den kolloiden Charakter der Enzyme und die Permeabilität der Plasmahaut bezüglichen bedarf.

In die Erörterung dieses wichtigen Punktes wollen wir gleich die sich an den zweiten Hauptpunkt der Hofmeister'schen Ausführungen über die chemische Organisation der Zelle anknüpfenden Fragen einbeziehen.

Hofmeister fordert, wie wir sahen, nicht nur ein Festhalten der Enzyme durch die Zelle, sondern er legt mit Recht besonderen Nachdruck darauf, dass auch deren Lokalisation im Plasma eine ganz bestimmte sein müsse. Wir wollen ganz kurz die Gesichtspunkte, die ihn zu einer solchen Auffassung drängen, wiedergeben, um uns gleichzeitig darüber klar zu werden, ob die Vorstellungen, zu denen unser Autor im einzelnen gelangt, auch für uns jetzt noch annehmbar sind.

25) V. Henri, Soc. de Biol. 1907, S. 296.

26) Michaelis, Biochem. Zeitschr. 16 (1909), 81 u. 486; 17 (1909), 231; 19 (1909), 181; 28 (1910), 1.

27) Einzelne gegenteilige Angaben in der Literatur, auf die es nicht einzugehen lohnt, sind unkritisch. Meine eigenen Versuche erstreckten sich namentlich auf diastase- und invertasehaltige Pflanzen. Man erwäge auch die Verhältnisse in Wasserbewohnern.

Hofmeister betrachtet die Einrichtungen im „Hausrat" der Zelle, „welche räumlich den ungestörten Verlauf der vitalen Reaktionen sichern". Er fragt[28]): „Ist die Zelle als Ganzes ein Gefäß, erfüllt von einer homogenen Lösung, in der sich sämtliche chemische Vorgänge abspielen, oder schließt sie eine Anzahl von getrennten Gefäßen ein, bestimmt, den ungestörten Ablauf der einzelnen Reaktionen nebeneinander zu sichern? Die Antwort darauf muss für die leicht diffusiblen Stoffe, für Gase und Salze, viele Nährstoffe und fast alle Abfallprodukte dahin lauten, dass sie überall in der Zelle zusammentreffen und daher auch überall aufeinander reagieren können. In Wirklichkeit stellt diese Art Vorgänge, z. B. die Bindung von Kohlensäure durch Alkali, nur einen kleinen Teil der vitalen Reaktionen dar. Die meisten in den Zellen sich abspielenden sind an ein kolloides Substrat oder zum mindesten an die Vermittelung eines kolloiden Reagens, eines Fermentes, geknüpft, können daher in dem kolloiden Gefüge des Protoplasmas ganz gut eine bestimmte Lokalisation haben. Von den intrazellulären Profermenten und Fermenten im besonderen ist zu erwarten, dass sie mangels einer Diffusibilität dort, wo sie in der Zelle entstanden sind, auch verbleiben, dort gewissermaßen festwurzeln und nur in Tätigkeit treten, wenn ihnen das adäquate Material zugeschwemmt wird. Eine solche Vorstellung setzt allerdings das Bestehen von zahlreichen kolloiden Scheidewänden im Protoplasma voraus" . . .

Er weist dann vor allem darauf hin, dass ohne solche strengere Lokalisierung der Fermente unverständlich bliebe, wie im Plasma nebeneinander so verschiedene, zum Teil chemisch entgegengesetzt verlaufende Prozesse, wie Hydrierung und Wasserentzug, Oxydations- und Reduktionsvorgänge u. s. w. möglich seien, und ferner müsse eine gesetzmäßige Reihenfolge der chemischen Reaktionen stattfinden, damit im Abbau und Aufbau verschiedener Stoffe durch viele Zwischenstufen wirklich ganz bestimmte Produkte entstehen. Aus diesen Gründen sei ein einziger, gleichartiger Reaktionsraum, eine „ubiquitäre Gleichwertigkeit des Protoplasmas" a priori unmöglich.

Dieser Begründung sowie der Vorstellung einer Lokalisation der chemischen Mittel im Hausrat der Zelle wird man nur beipflichten können und in der einschlägigen Literatur ist hiergegen denn auch wohl nirgends Einspruch erhoben worden.

Anders steht es natürlich mit der Art, wie er diese Lokalisation entstanden denkt, wobei er wieder von der irrigen Annahme einer Unmöglichkeit der Diffusion eines Kolloides im anderen ausgeht. In Wahrheit wird aber ein Kolloid, das schon imstande ist, die Plasmahaut zu passieren, im Plasma selbst noch weit leichter

28) A. a. O. S. 613.

beweglich sein. Denn in diesem ist molekular und kolloidal gelöstes Wasser reichlichst vorhanden, während in der Plasmahaut die Teilchen sehr dicht aneinander gerückt sein müssen, wie in den wasserärmsten Gelen, so dass dort nur wenig Imbibitionswasser, vielleicht gar nur Quellungswasser im Sinne Nägeli's, d. h. nur solches zu denken ist, das mehr oder weniger im Bereich der molekularen Wirkungssphäre der einzelnen Bausteine der hautbildenden Plasmateilchen festgelegt ist. Wie sehr aber die Kolloiddiffusion in wasserreichen Gelen ansteigt, haben die Ultrafilterversuche übereinstimmend gezeigt.

Trotzdem wollen wir noch einen Blick auf das konkrete Bild der Plasmastruktur werfen, zu der Hofmeister gelangt. Man kann, meint er, sich „die kolloiden Reagentien durch undurchlässige Scheidewände getrennt denken. Bei der Vielseitigkeit der chemischen Vorgänge kommt man damit zur Forderung einer sehr ausgiebigen Vakuolenbildung, event. über die Grenze des Sichtbaren hinaus, und so kann man den Gründen, welche von hervorragender morphologischer Seite für die Existenz einer Schaumstruktur beigebracht worden sind, auch physiologisch-chemische Erwägungen beigesellen. So begreift es sich, dass das Leben, wie wir es kennen, stets an ein kolloides Substrat geknüpft ist, denn nur ein solches ermöglicht bei genügender Durchlässigkeit für Nichtkolloide einen komplizierten Aufbau auf kleinstem Raum".

Auf die Frage der Schaumstruktur des Plasmas können wir hier nicht näher eingehen. Schon Pfeffer[29]) hat betont, dass unsere Erfahrungen über die Eigenschaften und Tätigkeiten des Protoplasmas mit der Wabenstruktur zwar völlig verträglich sind, diese aber durchaus nicht unbedingt erfordern. Die neueren ultramikroskopischen Untersuchungen haben aber ergeben, dass das Plasma nur in wenigen abweichenden Fällen teilweise schaumig erscheint, sonst aber den Charakter einer sehr feinen Emulsion oder mehr den eines diffusen Gels besitzt, und Lepeschkin[30]) hat mit Recht auf die Unverträglichkeit der Annahme einer allgemeinen Schaumstruktur mit dem Aggregatzustand, den Bewegungserscheinungen u. s. w. des lebenden Plasmas hingewiesen. Aber selbst wenn wir die unzulässige Annahme einer Schaumstruktur gelten ließen, und weiter, wofür keinerlei Tatsachen vorliegen, den einzelnen Wabenräumen den Charakter kleinster Vakuolen[31]) und somit natürlich

29) Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., Bd. II, S. 720, Anm. 1.

30) „Über die Struktur des Protoplasmas" (Ber. Deutsche Bot. Gesellsch. 29 [1911], 181).

31) Ebensogut könnten aber die „Wabenräume" von lebendiger Substanz erfüllt sein und ihre Wandungen abweichende Beschaffenheit haben. Vgl. u. a. Pfeffer a. a. O., Bd. I, S. 37. Die Annahme, dass die Enzyme nur in Vakuolen vorhanden wären und wirkten, würde übrigens mit manchen Tatsachen in Wider-

den Wabenwänden die der äußeren Plasmahaut analogen Eigenschaften von „Vakuolenhäuten" zuerteilen würden, so wäre damit angesichts der Permeabilität derselben für Enzyme nichts im Hofmeister'schen Sinne gewonnen.

Ich vermag in Anbetracht dieser Schwierigkeiten und um allen bisher beobachteten Tatsachen gerecht zu werden, zu keiner anderen Vorstellung als der einer festen Verkettung der Enzyme mit den Plasmateilchen zu gelangen und bin überzeugt, dass zu einer solchen Vorstellung auch speziellere oder andere allgemein-physiologische Erwägungen führen werden. Es ist z. B. bemerkenswert, dass Lepeschkin[32]), von anderen Überlegungen ausgehend, zur Annahme einer Lokalisierung der chemischen Mittel der Zelle in bestimmten disperse Teilchen des Plasmas gelangt, was der von mir entwickelten Vorstellung im Grunde sehr nahe kommt.

Die Bindung der Enzyme an die Plasmateilchen dürfte wohl als eine chemische anzusehen sein. Denken könnte man zunächst freilich wohl auch an eine bloße Adsorption, sei es an der Oberfläcbeeiner der dispersen Phasen des Plasmas oder an dessen Grenzflächen selbst. Dass z. B. die bei der Überführung elektronegative Invertase auch im adsorbierten Zustand wirksam ist, geht aus Angaben von Michaelis[33]) hervor.

Die Annahme einer chemischen Verkettung mit den lebenden Plasmateilchen, welche die Wirksamkeit der Enzyme nicht behindert, wohl aber erlaubt, sie auf eine abgegrenzte Stelle des Plasmaleibes einzuschränken bezw. sie dort jederzeit hinzuschaffen und ihr Wirken regulatorisch unmittelbar zu beeinflussen, dürfte indessen weit befriedigender sein, als wenn man in diesem ganzen, ungeheuer komplizierten, durch so vielfache Auslösungen regulatorisch verknüpften Reaktionsmechanismus des Plasmas den durch physikalische Zufälligkeiten bedingten Adsorptionsbindungen unnötig einen so tiefgreifenden Anteil zugestehen wollte. Auch die Möglichkeit der Zelle, ein Enzym vorübergehend oder dauernd durch vielleicht nur geringfügige Umlagerungen innerhalb der „Pangene" außer Wirkung zu setzen und abwechselnd neu zu bilden, wird man nurr durch chemische Verkettung erklären können.

Ich vermeide hier aber alle molekularen Spekulationen und mache nur noch auf zwei wichtige physiologische Gesichtspunkte aufmerksam.

---

spruch stehen. Vgl. u. a. die Diastasen, welche die sicherlich im Plasma liegenden Stärkekörner lösen, und meine Ausführungen über die Lokalisation der Invertase bei *Beta* (a. a. O. S. 252 f.).

32) A. a. O. S. 189.

33) „Die Adsorptionsaffinitäten der Hefe-Invertase" (Biochem. Zeitschr. VII, 1908, 488).

Der eine ist energetischer Art. Der Biochemiker, der sich gewöhnt hat, in den chemischen Lebenserscheinungen eine komplizierte Kette enzymatischer Prozesse zu sehen, und vor allem deren Reaktionsprodukte zu betrachten, gelangt naturgemäß in Anlehnung an seine extravitalen chemischen Erfahrungen vielfach zu gröber mechanischen Vorstellungen, auch weil er oft nicht entsprechend die Grundtatsache des Betriebsstoffwechsels, bei welchem es der lebenden Substanz um Energiegewinn und Energietransformation zu tun ist, einschätzt. Da aber solche Transformationen als Quelle einer bestimmten vitalen Arbeitsleistung ohne zweckentsprechende regulatorische Vorrichtungen, die nirgends anders als im Plasma selbst liegen können, undenkbar sind, so ist, damit diese „Struktur" des Plasmas in Wirksamkeit treten könne, der Physiologe längst dazu gelangt, eine möglichst innige Einbeziehung der reagierenden Stoffe in den molekularen Wirkungsbereich der Plasmabausteine, eine wenigstens lockere Anlagerung an die lebenden Teilchen zu fordern[34]). Dass einem solchen notwendigen Gedankengange unsere Plasmaenzymbindung zu Hilfe kommt und dass auf diese Weise auch wieder den von Hofmeister entwickelten Prinzipien Rechnung getragen wird, dürfte einleuchten, auch wenn man zunächst nur an die intermediären Additionsprodukte zwischen Enzym und den Ausgangsstoffen bezw. den Reaktionsprodukten denkt.

Der zweite hier hervorzuhebende Gesichtspunkt knüpft sich an die Tatsache, dass manche Enzyme, wie man längst weiß, auf keine Weise vom Plasma also auch nicht nach dem Töten und Zerreiben der Zellen zu trennen sind. Diese Enzyme, zu denen z. B. das der Milchsäuregärung, die Alkoholoxydase, manche proteolytische Enzyme (z. B. bei Pilzen) gehören, und deren Anwesenheit demgemäß nicht an Auszügen, sondern nur an Versuchen mit dem Organbrei erkannt werden kann, sind als „intrazellulare" bezeichnet worden[35]). Während sie aber bisher allen übrigen ziemlich schroff gegenüberstanden, würden sie nunmehr nur noch graduell, durch eine festere, auch noch postmortale Verkettung mit dem Plasma abweichen. Hierhin dürften auch jene zahlreichen Fälle gehören, in denen man[36]) von einem „Fermentativ-Vermögen" des Plasmas

34) Die Angaben von Boysen-Jensen (Biochem. Zeitschr. Bd. 40, 1912, S. 420), der in vitro allein durch die gleichzeitige Anwesenheit und Tätigkeit oxydasischer Atmungsenzyme die „Energie" für eine extravitale Rohrzuckersynthese durch Zymase gewonnen haben will, also ohne Transformation und Übertragung durch das Protoplasma, bedürfen wohl dringend der Bestätigung.

35) So M. Jacoby (Ergebnisse der Physiol. I, 1902, 213); vgl. auch E. Abderhalden und H. Pringsheim (Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, 1910, 180). Hofmeister (a. a. O. S. 583) u. a. gebrauchen diese Bezeichnung übrigens für nichtsekretorische Enzyme.

36) Vgl. z. B. Green-Windisch, „Die Enzyme", S. 343ff.

gesprochen hat. Beijerinck hat bekanntlich sogar Buchner's Zymase noch als „Protoplasma" angesprochen[37]).

Den geraden Gegensatz zu ihnen bilden die Sekretions-(„Ekto-") enzyme, die vom Plasma in freiem Zustand abgeschieden werden und dann infolge ihrer hohen Dispersität aus der lebenden Zelle nach außen zu diffundieren vermögen.

Zwischen beiden Extremen steht dann die große Mehrzahl der bisher genauer studierten Enzyme, deren Bindung mit dem Plasma beim Tode gleichzeitig mit den übrigen tiefgreifenden chemischen und physikalischen Veränderungen daselbst zerfällt[38]). Vermutlich wird der hierbei in Freiheit gesetzte, wasserlösliche fermentative Anteil immer noch eine Eiweißverbindung mit „zymophorer" Gruppe darstellen. Es ist ja bisher nur in ganz vereinzelten Fällen angeblich gelungen, durch vielfache fraktionierte Fällungen, Wiederauflösungen, Dialysen u. s. w. zu Präparaten zu gelangen, die keinerlei „Eiweißreaktionen" mehr ergeben.

Beim Absterben der Zelle sehen wir solche Enzyme meist sogleich nach außen diffundieren, wo sie an ihren chemischen Wirkungen erkannt werden können. Wenn das in einzelnen Fällen nicht eintritt, so z. B. bei manchen pflanzlichen Proteasen[39]), manchen Invertasen (*Monilia* etc.) und Lipasen, sondern erst nach Zerstörung der Zellhaut ein lösliches Enzym erhalten wird, so dürfte hier beim Tode eine hochkolloide, wenngleich ebenfalls „wasserlösliche" Eiweiß-Enzymverbindung aus den die ursprünglichen physiologischen Einheiten bildenden Plasmateilchen abgespalten werden.

Halle a. S, Botan. Institut d. Universität, 10. Januar 1913.

Über die Veränderung des Auges bei Leptodora Kindtii (Focke) unter dem Einfluss von Nahrungsentziehung.

(Eine experimentelle Untersuchung.)

(Vorläufige Mitteilung.)

Von **Nicolaus Tschugunoff.**

(Aus der biologischen Station in Kossino [bei Moskau] und aus dem Laboratorium des zoologischen Museums der Universität Moskau.)

Über die Veränderung des Auges bei *Cladocera* existieren in der zoologischen Literatur zwei verschiedene Ansichten. P. Kapterew (3) war der erste, der diese Erscheinung beschrieb: auf Grund

37) Vgl. u. a. auch H. Fischer, „Über Enzymwirkung und Gärung" (Sitz.-Ber. d. niederrhein. Gesellsch. f. Natur- u. Heilk., 1903).

38) Wie ich a. a. O. S. 254 mitteilte, können die Zellen der *Beta*-Wurzel schon so schwer geschädigt sein, dass sie ihren Rohrzucker reichlich herausdiffundieren lassen, Invertase tritt dagegen erst mit erfolgtem Tode aus.

39) Wohllebe, a. a. O. Derartige Enzyme sind vielfach als „Endoenzyme" bezeichnet worden. Indessen ist auch dieser Begriff nicht von allen Autoren in einheitlichem Sinne gebraucht worden.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Biologisches Zentralblatt

Jahr/Year: 1913

Band/Volume: 33

Autor(en)/Author(s): Ruhland Wilhelm Otto Eugen

Artikel/Article: Zur chemischen Organisation der Zelle. 337-351