Nochmals: Aktives Eiweiß und Tannin in Pflanzenzellen.

Von **O. Loew** und **Th. Bokorny**.

Vor kurzem hat Wisselingh[1]) einen Artikel veröffentlicht, in welchem er seine Behauptung wiederholt, daß die Fällungen durch Basen in Spirogyrazellen lediglich Gerbstoff-Fällungen seien. Der Artikel scheint wesentlich eine Übersetzung eines schon im Jahre 1911 in Holland publizierten zu sein[2]), denn er nimmt gar keine Rücksicht auf unsere inzwischen erfolgte Widerlegung, welche in Flora 1911, Bd. CII, pag. 113 und 1914, Bd. CVII, pag. 111 erschienen ist[3]). Wir müssen daher die Leser, welche in dieser Sache sich ein richtiges Urteil bilden wollen, ersuchen, nach dem Grundsatz: „audiatur et altera pars", unsere Widerlegung in Betracht zu ziehen.

Zur Charakterisierung der Mitteilung Wisselingh's seien hier jedoch noch einige weitere Bemerkungen veröffentlicht. Wisselingh sucht des Langen und Breiten zu zeigen, daß verschiedene organische Basen mit Gerbstoff schwerlösliche Niederschläge geben. Dieses Faktum ist indessen jedem Anfänger in Chemie und Botanik bekannt. Ja schon vor mehr als 80 Jahren war dieses eine bekannte Sache gewesen und es wurde Gerbstoff schon damals benützt, um Alkaloide aus wässerigen Pflanzenextrakten zu fällen und zu isolieren[4]).

Wisselingh scheint nicht zu wissen, daß sich die Verbindungen von Gerbstoff mit Alkaloiden schon in verdünntem Alkohol auflösen, während die Ausscheidungen in den Zellen von Spirogyra schon durch verdünnten Alkohol ihre Löslichkeit in Wasser verlieren und starker Alkohol sie selbst beim Kochen nicht auflöst. Daß die Coffeinproteosomen in Spirogyrazellen nicht gerbsaures Coffein sind, hätte Wisselingh auch aus seiner richtigen Beobachtung schließen können, daß diese Ausscheidungen nach einer gewissen Zeit unlöslich in warmem Wasser werden. Warum hat Wisselingh es versäumt zu prüfen, ob auch das aus Gerbstoff und Coffein in vitro erzeugte Präzipitat allmählich unlöslich wird?

---

1) Beihefte zum Botan. Zentralbl. 1915, Bd. XXXII, pag. 155.

2) Proceedings of the Kgl. Akademie van Wetensch. Amsterdam 1911.

3) Vgl. auch: Über eine labile Eiweißform usw. Biochem. Zeitschr. LXXI, pag. 306; ferner die Schrift: Die chem. Energie der lebenden Zellen, Kap. 6 u. 7, bes. pag. 72.

4) S. Berzelius, Lehrbuch der Chemie, 1837, Bd. VI, pag. 266.

Er konnte kein Eiweiß in den Ausscheidungen nachweisen. Was es damit für eine Bewandtnis hat, geht wohl schon daraus hervor, daß es ihm ebensowenig gelang, in den aggregierten Massen der Droseratentakeln Eiweiß nachzuweisen[1]). Es müßte also nach seinem Befund der Gerbstoff der Aggregation fähig sein! — Obwohl wir wiederholt erwähnt haben, daß die Proteosomen Millon's Reaktion geben, so sei hier doch nochmals betont, daß diese Reaktion sehr schön und klar auf folgende Weise gelingt: Man läßt die Spirogyrafäden in kaltgesättigter Coffeinlösung 5—6 Tage, so daß die meisten Zellen abgestorben und die Proteosomen koaguliert sind. Die Fäden werden dann in Millon's Lösung in einer Proberöhre im Wasserbade 1 Stunde lang erhitzt. Die charakteristische Reaktion ist sowohl makroskopisch wie mikroskopisch ganz klar und überzeugend eingetreten. Was die Biuretreaktion betrifft, so wird sie in gerbstoffreichen Zellen dadurch etwas beeinträchtigt, daß der Gerbstoffgehalt der Proteosomen mit dem angewandten Ätzkali eine gelbe Färbung gibt. — Jedoch gelingt die Gelbfärbung mit Jod und mit rauchender Salpetersäure. Jeder Zweifel muß aber schwinden, durch den Nachweis der Koagulation bei 56°, durch Behandeln mit 20 %igem Alkohol und durch verdünnte Säuren.

Da Gerbstofflösungen mit verdünntem Ammoniak keine Ausscheidungen liefern, während Ammoniak bei Spirogyren sogar in einer Verdünnung von 0,001 % noch Ausscheidungen hervorbringt, so hilft sich Wisselingh mit der Annahme, daß Kalksalze in den Spirogyrazellen gespeichert seien, und daß das sich bildende gerbsaure Ammoniak den Kalk dieser Salze als gerbsauren Kalk niederschlage. Aber warum hat denn Wisselingh nicht den gespeicherten Kalk mit Oxalsäure nachzuweisen versucht? Wenn man eiweißreiche Spirogyra mit einer 1 %igen Lösung von Kaliumoxalat behandelt, so ist in einigen Minuten der Zellkern abgetötet, ein Beweis, daß das Oxalat eingedrungen ist. Aber es zeigt sich weder jetzt noch nach dem später erfolgenden Tod des Zytoplasmas eine Ausfällung im Zellsaft von Kalziumoxalat. Nur in speziellen Fällen kommen Minimalmengen von Kalksalzen in Zellsaft der Spirogyren vor. Auch um gerbsaure Magnesia kann es sich nicht bei jenem Niederschlag handeln, denn Magnesiasalze können in gesunden Zellen niemals gespeichert werden, wenn nicht zugleich Kalksalze vorhanden sind, welche die Giftwirkung der Magnesia paralysieren.

1) Er schreibt pag. 180: „Im Gegensatz zu de Vries gelang es mir auch nicht, die Eiweißnatur der Niederschläge in den Tentakeln von Drosera rotundifolia auf mikrochemischem Wege festzustellen, während ich in denselben leicht Gerbstoff nachweisen konnte.“

Es kann nach zahlreichen Beobachtungen verschiedener Autoren kein Zweifel darüber bestehen, daß Gerbstoffe ein häufiges Nebenprodukt sind, einerseits bei der Assimilationstätigkeit in den grünen Blättern andererseits bei der Eiweißbildung. Da zur Eiweißerzeugung in grünen Pflanzen aber wohl stets Glukose als kohlenstoffhaltiges Material dient, so läßt sich also die Gerbstoffbildung allgemein als ein häufig eintretender Nebenvorgang beim Umsatz von Glukose auffassen. Dieser Vorgang dürfte durch alkalische Reaktion[1]) im Zellkern und Chloroplasten begünstigt werden. Wo Speicherung von Eiweiß stattfindet, da ist deshalb auch häufig etwas Gerbstoff vorhanden. In Spirogyrenzellen wechselt dieser Gehalt jedoch ganz bedeutend und während man öfters beim Auskochen von Spirogyra mit Wasser in diesem eine stark blaue Färbung mit Eisenvitriol erhält, wird manchmal gar keine deutliche Spur von Färbung erhalten.

Wisselingh meint, daß, wenn Gerbstoff und Eiweiß gleichzeitig im Zellsaft vorhanden wären, ein Niederschlag von gerbsaurem Eiweiß im Zellsaft vorhanden sein müßte. Diesen Einwand haben wir uns selbst schon vor langer Zeit gemacht und denselben folgendermaßen erledigt: In den lebenden Spirogyrazellen handelt es sich ja nicht um Speicherung gewöhnlichen Eiweißes, sondern es ist eine äußerst labile Form vorhanden, wie sie zum Aufbau der lebenden Materie dienen kann. Diese labile Form verhält sich in vieler Hinsicht radikal verschieden von dem gewöhnlichen passiven Eiweiß und die Folgerung, daß dieses labile Eiweiß nur eine sehr lockere lösliche Verbindung mit Gerbstoff liefern kann, aber nicht eine innige unlösliche, wird dadurch gestützt, daß das lebende Protoplasma sich überhaupt nicht mit Gerbstoff verbindet, obwohl es doch aus Eiweißstoffen aufgebaut ist. Nur totes Protoplasma nimmt etwas Gerbstoff auf, was besonders am Nucleus mit Eisenvitriol sehr schön sichtbar gemacht werden kann. — Beim Absterben der Zellen nun erfolgt bald nach dem Tode auch die Umlagerung des gespeicherten labilen Reserve-Eiweißes zur passiven Form. Diese oft sehr kurze Spanne Zeit zwischen Absterben des Zytoplasmas und Umlagerung des labilen Reserve-Eiweißes reicht hin, dem Gerbstoff das Herausfiltrieren durch das nun sehr porös gewordene tote Zytoplasma zu ermöglichen. Wenn dann die Umlagerung der labilen Eiweißform zur stabilen Form erfolgt ist, ist häufig auch kein oder nur sehr wenig Gerbstoff mehr vorhanden. Immerhin findet man häufig in ab-

1) Es ist den Chemikern seit langer Zeit bekannt, daß Glukose beim Behandeln mit Kalilösung u. a. auch etwas Brenzkatechin liefert, das gewissen Gerbstoffe nahe steht.

gestorbenen Zellen eine Trübung oder feinen Niederschlag vor, der mit Eisenvitriol den Gerbstoffgehalt leicht erkennen läßt und kaum etwas anderes sein kann als gerbsaures Eiweiß.

Um jedoch alles gelöste aktive Eiweiß in der Form des gewöhnlichen gerbsauren Eiweißes zu fällen, muß Sorge getragen werden, daß beim Abtöten der Zellen die Umlagerung der labilen Eiweißform rascher erfolgt als der Austritt des Gerbstoffes. Dieses ist uns auch auf folgende Weise gelungen: Man legt eiweißreiche Spirogyrafäden 5 Minuten in 5 ccm einer Mischung einer 10%igen Salpeterlösung mit 1 ccm einer Jodjodkaliumlösung, welche 10% Jodkalium und 2% freies Jod enthält. Das Zytoplasma wird momentan abgetötet und nur in wenigen Zellen entgeht der Tonoplast noch kurze Zeit der Abtötung, denn hier und da ist anomale Plasmolyse zu erkennen. Das eindringende Jod bringt die Umlagerung des gespeicherten labilen Albumins zu passiven rascher zustande, als der Austritt des Gerbstoffes aus den Zellen erfolgen kann, und es entsteht ein überaus kopiöser Niederschlag in den Zellen, der nichts anderes sein kann als gerbsaures Eiweiß; denn er gibt Reaktion auf Gerbstoff mit Eisenvitriol, Reaktion auf Eiweiß mit Millon's Lösung, er ist unlöslich in Wasser und in Alkohol, unlöslich oder schwer löslich in verdünnten Säuren, aber leicht löslich in Ammoniak — genau wie gewöhnliches gerbsaures Eiweiß.

Die von Wisselingh erwähnte Tatsache, daß bei kopulierenden Zellen der Gerbstoffgehalt abnimmt, ist schon vor langer Zeit sowohl von uns, als auch von Büttner und von Pennington beobachtet worden. Gerbstoff nimmt nach unseren Beobachtungen immer dann ab, wenn der Eiweißverbrauch gesteigert wird und Eiweiß sich nicht mehr ansammeln, oder nicht bilden kann, worauf wir längst hingewiesen haben[1]).

Wisselingh schließt aus der mangelhaften Querwandbildung oder Ausbleiben derselben, wenn die Zellteilung in mit Antipyrin behandelten Spirogyrazellen einsetzt, daß Gerbstoff zur Querwandbildung diene. In solchen Zellen, wo der Gerbstoff ausgefällt sei, könne deshalb keine Querwand entstehen. Diesen Schluß halten wir für gänzlich unphysiologisch. Es müßte sehr sonderbar hergehen, wenn statt des Stärkemehls resp. Glukose der Gerbstoff das Material zur Zellulosebildung sein sollte. Das wäre die Kirche ums Dorf getragen. So

1) Daß Gerbstoff unter Umständen — natürlich unter totaler Aufspaltung und teilweiser Oxydation — zur Eiweißbildung dienen kann, haben uns schon vor vielen Jahren Versuche mit Schimmelpilzen klar bewiesen.

arbeiten die Zellen sicherlich nicht, zumal dann in gerbstofffreien Zellen die Zellwandbildung nach anderen Prinzipien stattfinden müßte, als in gerbstoffhaltigen. — Es liegt die Folgerung wohl näher, daß eine, durch Antipyrin halbvergiftete Zelle überhaupt nicht mehr alle Funktionen in normaler Weise ausüben kann. Daß hier die Empfänglichkeit gegenüber solchen Giften bei verschiedenen Organismen etwas verschieden sein kann, ist nicht ausgeschlossen.

Aus den Zeichnungen, welche den Artikel Wisselingh's beigegeben sind, kann man sofort ersehen, daß die von ihm benützte Spirogyra maxima recht arm an aktivem Eiweiß war. Immerhin würden die in diesen Zellen mit Coffein erhaltenen Ausscheidungen manche Reaktion ermöglicht haben, besonders den Nachweis der dreifachen Koagulation (s. oben).

Da so lange Irrtümer in puncto Proteosomen vorkommen können, als Objekte benützt werden, die zu arm an aktiven Albumin sind, so sei hier speziell betont, daß das beste Objekt unter den Algen für diese Versuche Spirogyra majuscula ist, und zwar im Herbst, wenn sie aus Bassins gesammelt wird, welche im Frühjahr gedüngte Erde erhalten hatten. Auch durch Züchtung in Nährlösungen von genügender Verdünnung, besonders wenn durch Weglassung der Phosphate die Zellvermehrung hintangehalten wird, kann in 4—6 Wochen eine sehr bedeutende Anhäufung von aktivem Albumin erzielt werden. Auch ist niedere Temperatur (12—16°) günstiger wie eine höhere, weil sonst verschiedene Parasiten (Chytridien und Pseudospora) in ihrer Entwicklung zu stark gefördert werden. Es verdient besondere Beachtung, daß manche andere Spirogyra-Arten unter denselben Bedingungen und in den gleichen Gefäßen, wie Spirogyra majuscula nur sehr wenig aktives Albumin aufspeichern, wie z. B. Spirogyra nitida. Die Stärke häuft sich hier in Massen an, aber die Eiweißbildung findet viel schwieriger statt, als bei jener, welche geradezu enorme Mengen Eiweiß zu speichern fähig ist, während ihre Stärkekörner wohl infolge davon nur klein bleiben.

Wisselingh hätte sich auch sehr leicht dadurch überzeugen können, daß die mit Coffein in den Zellen erzeugten Proteosomen kein gerbsaures Coffein sind, indem er den mit Alkohol extrahierten und mit Coffein gefällten Gerbstoff ebenso weitergeprüft hätte, wie die Proteosomen selbst. Er hätte dann im Verhalten zu 20%igem Alkohol, sowie bei Behandlung mit verdünntem Ammoniak einen enormen Gegensatz konstatieren können. Er hätte daraus die Überzeugung gewinnen können, daß gerbsaures Coffein in den Proteosomen nur als Beimengung

enthalten sein kann. Selbst nach 4 Monaten in feuchtem Zustande der Luft ausgesetzt, bleibt das gerbsaure Coffein im warmen Wasser leicht löslich, während die Proteosomen schon einige Tage nach ihrer Bildung unter Vakuolisierung fest und unlöslich werden, d. h. koagulieren wie das Protoplasma beim Absterben.

Wenn man Proteosomen mit gewissen Farbstoffen behandelt, so verhalten sie sich im koagulierten Zustand verschieden vom labilen ursprünglichen Zustand. Nach Wisselingh's Auffassung müßte der Gerbstoff aber in beiden Fällen in gleicher Weise die Farbstoffe an sich ziehen, mit denen er Niederschläge zu geben fähig ist. Siehe hierüber auch die Versuche des einen von uns mit Methylgrün, Neutralrot und Methylenblau[1]). Bismarckbraun in 0,1 promille-Lösung wird in 1 Stunde intensiv von frischen Proteosomen gespeichert, während Gerbstoff selbst in konzentrierter Lösung mit diesem Farbstoff gar keine unlösliche Verbindung gibt. Umgelagerte Proteosomen färben sich, ceteris paribus, in gleicher Zeit nicht oder nur äußerst schwach mit Bismarckbraun. Schließlich dürfte wohl die Bitte nicht unberechtigt sein, daß Wisselingh die Proteosomen ebenso gründlich chemisch prüfen möchte, als wie wir es getan haben.

---

1) O. Loew, Flora, Bd. CIX, pag. 61. — Biochem. Zeitschr. Bd. LXXI, pag. 315.

2) Wie energisch Bismarckbraun durch Verbindung mit dem lebenden Protoplasma dasselbe abtötet, geht daraus hervor, daß der Zellkern von Spirogyra majuscula schon nach 2 Min. in einer 0,1 promille-Lösung von Bismarckbraun sich von der Linse zur Kugel kontrahiert.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1917

Band/Volume: 109

Autor(en)/Author(s): Loew Oscar, Bokorny Thomas

Artikel/Article: Nochmals: Aktives Eiweiß und Tannin in Pflanzenzellen 357-362