

Einige inhaltschemische und ernährungs-physiologische Daten über Kryptogamen.

Von Th. B o k o r n y,

(Mit 2 Abbildungen im Text.)

Aktives Reserveprotein bei Kryptogamen.

Wiederum ist es *Spirogyra*, auf die ich hier zunächst hinweisen möchte. Denn an ihr wurde der Inhaltsstoff „aktives Reserveprotein“ oder kurz „aktives Eiweiß“ zuerst aufgefunden.

Als ich 1887 die von O. L o e w und Verfasser entdeckte Silberabscheidung durch lebende Spirogyren genauer als bisher verfolgte (B. neue Untersuchungen über die Silberabscheidung durch aktives Albumin, Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XVIII Heft 2), bemerkte ich, daß die erste Wirkung jener hochverdünnten alkalischen Silberlösung in einer Ausscheidung kleiner K ü g e l c h e n aus dem Zellsaft wie aus dem Plasma durch das Eindringen der hochverdünnten Basen (Kali und Ammoniak) in das Zellinnere bestand. Diese schieden dann das Silber ab. Damit war die Entdeckung der „P r o t e o s o m e n“ gemacht, die bald als Eiweißballungen, richtiger als Ballen von aktivem Reserveeiweiß erkannt wurden, welches durch Wasserausstoßung infolge des Basenreizes aus dem homogenen in den nichthomogenen Zustand übergeführt wurde. Das Zellsaft- und Plasmaeiweiß wurde dadurch erst sichtbar.

Im folgenden Jahr 1888 fand ich, daß Basen überhaupt diese Wirkung haben, wenn sie in hochverdünntem Zustand angewendet werden (über die Wirkung bas. Stoffe auf das lebende Protoplasma, Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XIX Heft 2). Auch wurde die Wirkung des K o f f e i n s als besonders gut und deutlich erkannt. Von da ab wurde dann das Koffein als Reagens auf aktives Reserveeiweiß bei zahlreichen Objekten angewandt. Es ist allerdings kein eigentliches Eiweißreagens, sondern das durch Reizwirkung Proteosomenausscheidung verursachende basische Mittel. Die eigentliche

Eiweißnatur der Proteosomen wurde durch die gewöhnlichen mikrochemischen Eiweißreagentien nachgewiesen.

Im darauffolgenden Jahr 1889 entdeckte ich an *Spirogyra* eine weitere Art von „Aggregation“, die in der Kontraktion und oft auch Teilung der Vakuolenwand — ohne Absterben — besteht und verhältnismäßig leicht durch 0,1 %ige Koffeinelösung erhalten werden kann. Durch Wasserzusatz kehrt der ursprüngliche Zustand wieder.

Bisweilen kontrahiert sich die äußere Hautschicht des Protoplasmas ebenfalls noch lebend. Dann haben wir durch 0,1 %ige Koffeinelösung eine regelrechte Plasmolyse hervorgebracht, wie sonst durch konzentrierte Salpeter- oder Zuckerlösung infolge Wasserentziehung aus dem Innern erreicht wird. Die Koffein-Plasmolyse beruht aber auf Wasserausscheidung aus der Substanz der Plasmahäute, wobei die Häute sich kontrahieren und Turgor beibehalten.

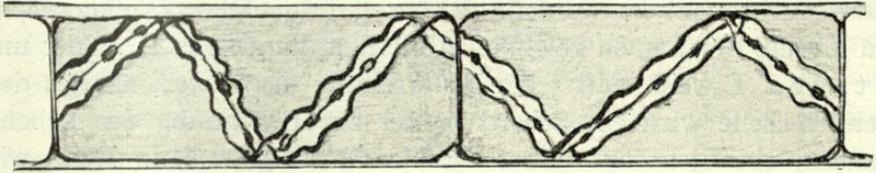
Die weiteren Studien haben ergeben, daß man den Gehalt an aktivem Reserveprotein künstlich durch geeignete Ernährung auf ein relativ hohes Maß steigern kann, wie man es an Spirogyren in der Natur selten antrifft. Mit solchen Spirogyren kann man dann bei Einwirkung von 0,1 %iger bis 0,5 %iger Koffeinelösung leicht Bilder von nebenstehender Art erhalten.

Der erfahrenste Algologe wird sagen, daß solche Spirogyren sonst nicht gesehen wurden, wie sie in Figur 1 b, c und d dargestellt sind. Dabei sind die Zustände b und c reparabel, sie kehren durch Wasserzusatz in den Zustand a zurück, wenn man mit dem Wasserzusatz nicht zu lange wartet. Es wird also das ausgestoßene Wasser wieder aufgenommen.

Das aktive Reserveprotein, das hier an *Spirogyra* so schön zur Anschauung gebracht werden kann, ist nun auch in anderen Kryptogamen gefunden worden und wird noch weiter gefunden werden. Sehr viele Vorkommnisse sind auch schon bei Phanerogamen aufgedeckt worden. Es handelt sich um einen weitverbreiteten Inhaltsstoff, das aktive Reserveprotein, das bisher von der offiziellen Botanik und Physiologie wenig beachtet wird. Und doch ist es der vornehmste Reservestoff, aus dem die Organe unmittelbar aufgebaut werden können. Daß es Reservestoff (hierin der Stärke ähnlich) ist, geht aus dem Wechsel, seinem Verschwinden und Wiederauftreten in den Geweben hervor.

Daß es Protein ist, macht diesen neuen Inhaltsstoff noch wichtiger. Es ist eine hochbedeutende Ergänzung zunächst unseres

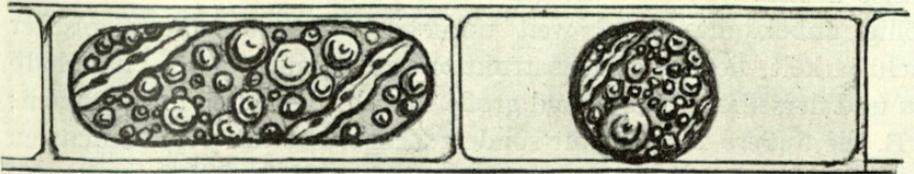
Fig. 1. *Spirogyra*.
Vergr. 1:500.



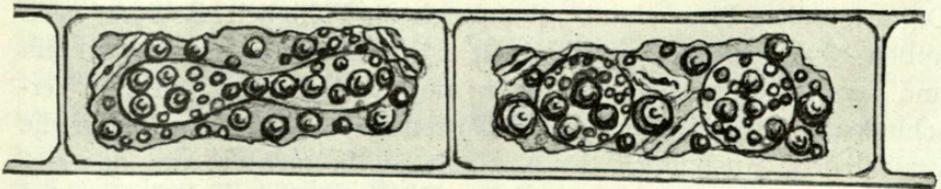
a) Zwei Spirogyrenzellen in Wasser liegend. Aktives Albumin gelöst, unsichtbar. Keine Spur von Proteosomen bemerkbar.



b) Sp. mit 0,1%iger Koffeinlösung in Aggregation versetzt. Zahlreiche Zellsaftproteosomen verschiedener Größe.



c) Zellen von b durch 5%ige Salpeterlösung zur Plasmolyse gebracht. Die Proteosomen sämtlich von dem kontrahierten Zellenleib umschlossen. Zellen noch lebend.



d) Zwei Spirogyrenzellen mit 10%iger Salpeterlösung und dann 1%iger Koffeinlösung behandelt. Das äußere Plasma (äußere Plasmahaut) ist mit Chlorophyllband durch die starke Salpeterlösung abgetötet worden. Die Vakuolenwand noch lebend, kontrahiert, eingeschnürt (linke Zelle) oder geteilt (rechte Zelle). Proteosomen außerhalb der Vakuolenwand (Plasma-proteosomen) und innerhalb (Zellsaftproteosomen).

Wissens von den Reservestoffen. Neben Stärke wird auch Eiweiß sehr häufig in den Rhizomen, Stengeln, Blättern usw. abgelagert, um bei nächster Gelegenheit wieder verbraucht zu werden. Bisher hat man hauptsächlich von dem Eiweiß der Samen gewußt. Außerdem handelt es sich hier um aktives Eiweiß. Mit jeder Erforschung des Eiweißinhaltes der lebenden Zelle wird ein Schritt weiter zur Erkennung des Lebens gemacht, ein Licht auf dieses dunkle Gebiet geworfen. Denn wir dürfen uns nicht täuschen. An den Eiweißstoffen hängt das Leben, das Protoplasma besteht im wesentlichen aus Proteinstoffen, die mit Wasser aufgequollen sind. Alle andern Stoffe, die ja häufig beigemischt sind, wie Fett, Kohlehydrate usw. können fehlen, nur das Protein selbst nicht.¹⁾ Eiweiß ist der integrierende Bestandteil, und es ist darum von hohem biologischen und physiologischen Interesse, die besonderen Eigenschaften dieser kolloidalen Inhaltmassen herauszufinden.

Nochmals sei gesagt, daß wir unterscheiden müssen zwischen organisiertem aktiven Protein und nicht organisiertem. Das erstere setzt die lebenden Zellorgane in eine spezifischen, bei jeder Pflanzenform wieder etwas anderen Art und Weise zusammen; die Zellorgane sind daraus in spezifischer, bisher völlig unbekannter und weit unter der Grenze mikroskopischer Sichtbarkeit liegender Konstruktion aufgebaut. Auch innerhalb ein und derselben Pflanze sind große Verschiedenheiten anzunehmen; z. B. die äußere Plasmahaut sondert Zellgerüste der verschiedensten Art ab. Im jungen noch meristematischen Holz Gefäßwandungen und Holzfaserwände mit Lignineinlagerung, in der Epidermis nach außen hin verdickte und zu äußerst kutikularisierte Wandungen, nach innen gewöhnliche Zellwände; die Zelle des Blattparenchyms umgibt sich allseits mit dünner gewöhnlicher Zellulosehaut. Das Organ „äußere Plasmahaut“, das durch die Fähigkeit, Zellhaut nach außen abzusondern, ausgezeichnet ist, arbeitet also schon in ein und derselben Pflanze verschieden; noch weiter zeigt sich eine Verschiedenheit bei verschiedenen Pflanzenarten. Man braucht nur die verschiedene Ausbildung der Kutikula zu betrachten, um das einzusehen. Ferner, welche manigfaltige Wandbildung treffen wir bei den Zellen der Rinde und des Holzes an. Das schon oben genannte Zellorgan, die äußere Plasmahaut, ist an jeder Pflanzenzelle ausgebildet; es hat die meist aus Zellulose bestehende Zellhaut

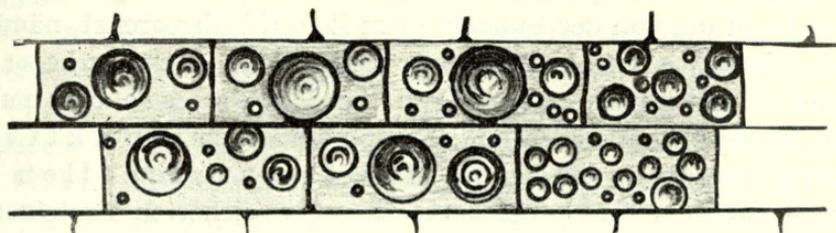
¹⁾ Die Mineralstoffe sind vielfach in chemischer Verbindung mit dem Protein, dann natürlich integrierende Bestandteile des lebenden Stoffes.

abzuscheiden und schreitet manchmal sofort zu einer neuen Zellhautbildung, wenn sie etwa durch Plasmolyse von der ursprünglichen entfernt (entblößt) wird. Außerdem ist die äußere Plasmahaut maßgebend für die Stoffaufnahme, von ihr hängt das Einpassieren der Stoffe in die lebende Zelle, sowie das Herausdiffundieren in erster Linie ab; auch dadurch erhält sie große Bedeutung. Sie ist, nach Pfeffer semipermeabel. Die Permeabilität scheint übrigens gewechselt werden zu können. Durch eine weitere Hautschicht ist das Cytoplasma von der Vakuole (dem Zellsaft) abgegrenzt, nämlich durch die Vakuolenwand oder den Tonoplasten (letztere Bezeichnung stammt von de Vries); sie erzeugt keine Zellulose, häufig aber nichtorganisierten aktiven Proteinstoff, der im Zellsaft aufgequollen ist und — mit dem im Cytoplasma oft aufgespeicherten Proteinstoff zusammen — als etwas Neues in der Pflanzenphysiologie und -chemie bisher Vernachlässigtes hier besprochen werden soll. O. L o e w und Verfasser haben sich bis jetzt vergeblich bemüht, diesen vornehmsten Reservestoff der Pflanze, womit die Plasmaorgane unmittelbar aufgebaut werden können, zur gebührenden Anerkennung zu bringen. Ob der im Cytoplasma vorkommende aktive Reserve-Proteinstoff ebenfalls von der Vakuolenwand erzeugt wird, oder von der äußeren Plasmahaut, ist fraglich. Möglicherweise kann er von beiden stammen. Beide Arten von aktivem Reserve-Proteinstoff werden, wie alle Reservestoffe bei der Neubildung von Zellen und Zellorganen verbraucht und bei stillstehender oder langsamer Crescenz wieder angesammelt. Die vorhin genannten zweierlei Häute, äußere und innere Plasmahaut, sind aus aktivem Proteinstoff aufgebaut und reagieren gegen sehr verdünnte Koffeinelösung (0,1—0,01 %) in prinzipiell gleicher Weise wie das aktive Reserveprotein, nämlich durch Wasser- ausstoßung und Kontraktion. Das hochverdünnte Koffein ist ein Lebens-Reagens es erfolgt kein Absterben, durch Wasserzusatz kann der ursprüngliche Zustand wieder hergestellt werden. Das aktive Reserveprotein (vorerst unsichtbar, höchstens durch stärkere Lichtbrechung auffallend) scheidet sich in zahlreichen kleinen Kügelchen aus, die durch Verschmelzen zu großen Ballen (Proteosomen) werden.

Zum Vergleich möchte ich nur ganz kurz ein Beispiel aus der höchsten Abteilung des Pflanzenreiches heranziehen. Man findet bei *Phanerogamen*, wie der Eiche, nach Koffeineinwirkung auf geeignete Schnitte dieselben Proteosomen wie in *Spirogyra*. Auch hier ist der Gehalt an aktivem Reserveprotein schwankend je nach Jahreszeit und Ernährungsverhältnissen. Behandelt man radiale Längs-

schnitte von jungen 1—2 mm dicken Eichenzweigen mit 1%iger Koffeinlösung, so tritt ziemlich rasch Proteosomenbildung in Rindenparenchym und Weichbast ein. Einige Zellenzüge im Rindenparenchym weisen folgende merkwürdige Beschaffenheit auf:

Fig. 2. *Quercus pedunculata*.
Vergr. 1:400.



Zellzüge aus der Rinde eines jungen Zweiges nach Koffeinbehandlung.
Proteosomen verschiedener Größe in jeder Zelle (Radialschnitt).

Die Zellen, deren Zellsaft zuerst homogen war, zeigen nun reichlich Proteosomen; oft zu vielen Dutzenden in einer Zelle, wenn es kleine Kügelchen sind, weniger bei mittlerer Größe, ein bis zwei oder drei, wenn von bedeutender Größe. Die Sache ist folgendermaßen zu verstehen: zuerst scheiden sich überall, wie man sehen kann, wenn man den Vorgang von Anfang an verfolgt, winzigkleine Kügelchen aus, die rasch zu kleinen Proteosomen zusammenschmelzen; diese vereinigen sich in vielen Fällen zu mittelgroßen Proteosomen, letztere manchmal noch zu ganz großen. Warum nicht überall das Verschmelzen bis zu ganz großen Proteosomen eintritt, wiewohl doch die Verschmelzungstendenz da ist, kann verschiedene Gründe haben, auf die jetzt nicht eingegangen zu werden braucht.

Jedenfalls geht aus der Verschmelzung hervor, daß die Proteosomen flüssige Beschaffenheit haben, wofür auch ihre Kugelgestalt spricht.

Wie die Eiche so ist auch die Buche reich an aktivem Reserve-Albumin, sowohl in der Rinde als auch in den Blättern; und noch viele andere ließen sich anführen, so die meisten Nadelholzbäume. Es handelt sich hier um einen Stoff von weitester Verbreitung, von den Algen herauf bis zu den Dikotyledonen ist er zu finden; auch den Pilzen fehlt er nicht.

Schon früher wurde mitgeteilt, daß ein (nicht genauer bestimmter) Myxomycet mit Koffein auffallende Aggregationserscheinungen zeigte (B. Archiv f. Zellforschung VII).

Erwähnt sei noch, daß in allerletzter Zeit auch im Rhizom von *Equisetum hiemale* sowie im sterilen Stengel vom Verfasser Proteosomenbildung mittels Koffein aufgefunden wurde.

Es gibt sicherlich noch viele andere Kryptogamen, in denen aktives Reserveprotein gespeichert wird, ist doch die erste positive Beobachtung hierüber an einer Alge gemacht worden. Weitere Untersuchungen werden das an den Tag bringen.

Zur organischen Ernährung der Algen und anderer Pflanzen.

Über allen Versuchen zur künstlichen organischen Ernährung grüner Pflanzen schwebt als Leitstern die unumstößliche Tatsache, daß bei allen grünen Pflanzen eine innere organische Ernährung aus Glukose wie auch aus Asparagin stattfindet. Die erstere ist die Wanderungsform der unlöslichen Kohlehydrate (Stärke...), die, am Ziele angelangt, zum Aufbau dient; das letztere die transportable Zwischenform der Eiweißkörper, die, am Bestimmungsort eingetroffen, ebenfalls wieder zum Aufbau verwendet wird. Wer möchte demgegenüber behaupten, daß Glukose kein Nährstoff sei?

Man könnte einwenden, daß es sich nur um Vorgänge innerhalb des Pflanzenkörpers handelt. Aber macht es denn einen Unterschied aus, wenn die Glukose von außen eindringt und wenn sie schon innen ist? Die Kohlensäure ernährt, ob sie im Innern der Pflanze selbst durch Atmung und andere Vorgänge entsteht oder ob sie aus dem Boden oder aus der Luft zugeführt wird, die grüne Pflanze.

Die Zuckerarten, welche normal in der Pflanze vorkommen, schienen schon A. Meyer einem der eifrigsten und erfolgreichsten Forscher auf diesem Gebiete, besonders geeignet zu sein, um Stärkebildung hervorzurufen.

Um so mehr befremdet es, daß in neuester Zeit sogar die Ernährungskraft der Glukose und anderer Kohlehydrate (gegenüber Spirogyren) in Abrede gestellt wird.

Es gibt keine *Spirogyra*, keinen Faden und keine lebende Zelle daran, die nicht täglich Glukose zum Aufbau verwendet. Denn die im Chlorophyllband durch Kohlensäureassimilation aufgespeicherten Stärkekörnchen müssen, um Verwendung bei Wachstum und Neubildung zu finden, in Glukose übergehen, diese wandert nach den Orten des Verbrauches hin und wird zur Zellulose und Eiweißbildung verwendet, der Überschuß als Stärke abgelagert.

Ebenso ist es bei allen stärkeführenden Pflanzen; die Stärke liefert bei der Spaltung keinen andern Zucker als Glukose, die ja auch bei zahllosen Pflanzen nachgewiesen wurde.

Wenn also Viktor Czurda in seiner Arbeit „Wachstum und Stärkebildung einiger Conjugaten auf Kosten organisch gebundenen Kohlenstoffes“ in Planta, Arch. f. wiss. Bot. 2. Bd. 1. Heft, Versuche angeführt, wonach Spirogyren nicht imstande sind, Glukose-Lösungen zu ihrer Ernährung zu verwenden, so muß der Gedanke an Hemmungen im Eindringen oder sonst Platz greifen. Tatsächlich haben ja auch alle andern Forscher mit Glukose positives Resultat erhalten.

Czurda hat Reinkulturen von *Spirogyra* etc. verwendet, um die organische Ernährung zu erproben. Diese Algen wurden in Agar auf ähnliche Weise gezüchtet, wie es für Bakterien schon lange bekannt ist.

Die zu Nährversuchen herausgenommenen *Spirogyra*-Zellen und -Fäden waren natürlich von einer mehr oder weniger dicken Agarhülle umgeben, durch die sich die Nährstoffe allmählich durchdrängen mußten. Schon darin kann ein Hinderungsgrund gelegen sein.

Ferner ist zur Zuckerassimilation auch freier Sauerstoff nötig, wie M. Cremer und Verfasser gezeigt haben. Ob die Agaralgen genügend Sauerstoff empfangen haben, kann man nicht wissen.

Die äußere Plasmahaut vermag sich gegen Eindringen von Zucker und andern Stoffen, wenn nötig, mehr oder weniger zu verschließen.

Weiterhin kann ein nicht sehr gut gereinigtes Präparat Schuld an dem Mißerfolg tragen.

Weitere Angaben erfolgen nachher.

Czurda scheint zu glauben, daß die positiven Resultate auf die von beigemengten Bakterien aus der organischen Nährsubstanz gebildete Kohlensäure zurückzuführen seien (Arch. f. Protistenkunde, 53. Bd., Heft 2).

Meine Versuche über Formaldehydernährung sind aber nicht in dieser Weise zu deuten, wie aus der Art ihrer Anstellung hervorgeht.

In meinen ersten Arbeiten hierüber (S. Schr. Erlangen 1888) wurde freilich der Sauerstoff, der ja zur Bildung von Kohlensäure aus Formaldehyd durch Bakterien nötig ist, nicht ganz ausgeschlossen. Es wurden aber zu den Experimenten nur sehr reine, sehr gesunde Spirogyren aus einer Kultur in reinem Wasser oder auch direkt aus dem Freien, die nur wenige Bakterien enthielten, genommen. Die Entstärkung im Dunkeln führte ebenfalls zu keiner Bakterienvermehrung in nennenswertem Maße, wie ich aus der Klarheit der Lösung (Calciumnitratlösung von 0,1 %) erkannte. Daß die winzige Masse von Bakterien, die auch nach dem gründlichen Waschen noch an den *Spirogyra*-Fäden anhängen (das Versuchswasser würde durch Auskochen von

Gasen und Bakterien befreit), Anlaß zu einer Täuschung geben könnten, halte ich für ausgeschlossen. Die binnen kurzer Zeit auftretenden Stärkemengen waren zu groß, um auf die Bakterienkohlenäure zurückgeführt zu werden. Auch ist es durchaus nicht bekannt, daß irgendwelche Bakterien aus Formaldehyd Kohlenäure bilden. Sollten die Bakterien aus ihrer eigenen Leibes substanz durch Atmungsprozesse Kohlenäure gebildet haben, so dürfte wiederum die Menge zu gering gewesen sein, um die reichliche Stärkebildung in den Spirogyren zu erklären. Auch müßte dann in den Kontrollversuchen (ohne Formaldehyd) ebenfalls Stärke aufgetreten sein.

In meinen späteren Versuchen, die nicht wie die ersten mit Formaldehyd abspaltenden Substanzen (oxymethylsulfonsaurem Natrium, Methylal), sondern mit freiem Formaldehyd ausgeführt wurden, gelang es mir, den Sauerstoff ganz auszuschließen (B. in Pflügers Archiv f. d. ges. Physiologie Bd. 125 p. 480 und folgende). Trotzdem ergab sich Stärkebildung. Zirka 1 g Spirogyren wurde in 25 g ausgekochten Wassers verbracht; das Gläschen wurde mit doppelt durchbohrtem, gutem Kork verschlossen; der Formaldehyd wurde als Dampf zugleich mit Wasserstoffgas zugeführt; Kohlenäurezufuhr war natürlich ebenfalls ausgeschlossen.

Da nämlich die Versuche mit Formaldehyd l ö s u n g e n zuerst stets zu negativem Ergebnis führten (wegen der Giftigkeit des freien Formaldehyds), entschloß ich mich dazu, mehrere Tage ganz kleine Mengen von Formaldehyd in D a m p f f o r m zuzuführen, so daß die Spirogyren allen dargebotenen Formaldehyd sofort verarbeiten konnten und nicht der Giftwirkung des Formaldehyds ausgesetzt waren.

Es wurde aus reinem (arsenfreiem) Zink und 1 Liter reiner verdünnter Schwefelsäure, die durch Auskochen luftfrei gemacht worden war, unter Zusatz einiger Kubikzentimeter 40 %igen Formaldehyds, Wasserstoffgas entwickelt, das natürlich immer kleine Quantitäten gasförmigen Formaldehyds mit sich führte. In der vorgelegten Waschflasche, die ebenfalls ausgekochtes Wasser enthielt, wurde selbstverständlich ein beträchtlicher Teil des Formaldehyddampfes absorbiert, so daß nur minimale Quantitäten Formaldehyd mit jeder Gasblase in das die S p i r o g y r e n enthaltende Glasfläschchen gelangten. Auf diese Weise gelang es, binnen 3 Tagen bei abwechselnd guter und schlechter Beleuchtung eine beträchtliche Anhäufung von Stärke in den zuerst entzärtet gewesenen Spirogyren zu erzielen. Die Zellen machten den Eindruck völliger Gesundheit,

der Zellkern zeigte keine Störung, das Chlorophyllband war reich gezackt und von reingrüner Farbe. Mit Jodlösung ergab sich an den Stärkeherden eine beträchtliche Blauschwarzfärbung; die Stärkekörnchen in denselben hatten schon eine ziemliche Größe erreicht. Also können Spirogyren aus freiem Formaldehyd Stärke bilden.

Nun entschloß ich mich nochmals zu Versuchen mit Formaldehydlösungen, diesmal unter Anwendung sehr hoher Verdünnungen¹⁾ (wie 0,001 %), bei denen sonst Ernährungswirkungen nur schwer oder gar nicht eintreten. Ich konnte mich davon überzeugen, daß selbst ruhiges Liegen in einer sehr verdünnten Formaldehydlösung, wenn es nur lange genug dauert, zu einem reichlichen Stärkeansatz in Spirogyren führt. Lichtzutritt ist hierbei nicht erforderlich. Spirogyren, die im Herbst gesammelt worden waren und den Winter über in einem Raume mit 3—10° C am Fenster in einer sehr verdünnten Mineralsalzlösung verweilt hatten, wurden durch Zusatz von 0,1 % Calciumnitrat und Dunkelstellen entstätkt, dann zunächst zu Formaldehyd-Dunkelversuchen verwendet. In einer Lösung von 0,001 % Formaldehyd + 0,02 % Monokaliphosphat + 0,01 % Calciumnitrat + 0,005 % Magnesiumsulfat setzten die entstätkten Spirogyren binnen 9 Tagen sehr reichlich Stärke an. Mit Jodlösung färbte sich das Plasma so intensiv blauschwarz, daß eine Unterscheidung nicht blauer Stellen häufig nicht mehr möglich war; diffuse Stärke war gebildet worden. Bei einem gleichzeitig und unter gleichen Bedingungen aufgestellten Kontrollversuch ohne Formaldehyd zeigten sich Hungererscheinungen; die Spirogyren hatten sich zu parallelen Bündeln vereinigt; unter dem Mikroskop erwiesen sich die Zellen als vollkommen stärkefrei; auch die Jodprobe ließ nirgends Stärke erkennen. Der Gegensatz war so stark wie nur möglich.

Als nun derselbe Versuch bei Lichtzutritt gemacht wurde, ergab sich, trotzdem nun Kohlensäureassimilation möglich war, doch ein deutlicher Unterschied zugunsten der Formaldehydalgen. Letztere erwiesen sich nach 9 Tagen als überreich an Stärke, die des Kontrollversuches als mäßig stärkeführend.

Der Formaldehyd eignet sich also zur organischen Ernährung grüner Pflanzen, sowohl wenn er als formaldehydschwefligsaures Natron, wie auch wenn er als freier Formaldehyd (dieser nur in sehr großer Ver-

¹⁾ Die Lösungsmenge mußte entsprechend gesteigert, die Quantität der eingesetzten Versuchsalgen zugleich vermindert werden, um ein positives Resultat erzielen zu können.

dünnung) dargeboten wird. Auch langfristige Versuche sind beweisend.

Die Ernährung mit freiem Formaldehyd kann schon aus folgenden zwei Gründen allein nicht als Kohlensäureernährung gedeutet werden. Fürs erste gelingt dieselbe auch im Dunkeln recht gut. Fürs zweite gedeihen Bakterien nicht in den zur Formaldehyd-ernährung der Algen angewendeten Lösungen. In einer Lösung, welche freien Formaldehyd (daneben Amonsulfat, Kaliphosphat, Magnesiumsulfat) in Brunnenwasser gelöst enthält, kommen keine Bakterien auf.

Auch die Glyzerinernährung von Spirogyren kann, wenn richtig ausgeführt, nicht als Kohlensäure-ernährung gedeutet werden. Folgender Versuch gibt einwandfreies positives Resultat. Entstärkte Spirogyren werden in ein mit doppelt durchbohrtem, gutem Kork verschlossenes Gläschen gebracht, welches ausgekochtes Wasser mit 0,25 g Glyzerin auf 25 g Wasser enthält, so daß die Algen gut bedeckt sind. Durch das Gläschen wird Wasserstoff geleitet, der im Kippchen Apparat aus luftfreier verdünnter Schwefelsäure und aus reinem Zink entwickelt und mit luftfreiem Wasser zweimal gewaschen wurde. Hierdurch ist sowohl Kohlensäure als Sauerstoff ausgeschlossen. Die Spirogyren können also keine Kohlensäureassimilation vollziehen; etwa anhängende Bakterien können wegen Sauerstoffmangels keine Kohlensäure aus Glyzerin produzieren. Bei dreitägiger Glyzerin-ernährung tritt nun trotz Kohlensäure- und Sauerstoffmangels reichlicher Stärkeansatz in den Spirogyren auf.

Quantitative Versuche mit Glyzerin und Spirogyren (B. in Pettenkofers Archiv f. Hygiene Bd. 22) ergaben, daß 10 g sehr reine *Spirogyra nitida* (feucht gewogen) binnen 5 Tagen 66,4 mg Glyzerin verbrauchen, binnen 10 Tagen 168 mg. Die Flüssigkeit blieb dabei völlig klar, es war keine Bakterientrübung sichtbar. Der Kontrollversuch mit 0,1 % Glyzerin + 0,05 % Monokaliphosphat (ohne Spirogyren) ergab keine Veränderung des Reduktionsvermögens gegen Chamäleonlösung binnen 5 Tagen.

Czorda spricht trotz alledem die organische Ernährung von *Spirogyra* mit Glyzerin als Kohlensäureernährung an. Warum? Weil er bei seinen Versuchen mit Agar-Reinzuchten von *Spirogyra* negatives Resultat erhalten hat. Als ob nicht auch negative Resultate aus anderen Gründen erhalten werden könnten. Verfasser hat ja auch oft genug mit negativen

Resultaten zu kämpfen gehabt. Mit weniger Vorsicht ausgewähltes Material, aus irgendeinem Grunde geschwächte Spirogyren können leicht Versager geben. Die Jahreszeit ist auch von Einfluß. Im Frühjahr und Sommer gelingen die Versuche leichter als im Winter. Geringe Zerrungen beim Zurichten und Transport der Algen können schädlich wirken; ferner kann sich bei Anwendung von kupferhaltigen Pinzetten und sonstigen Instrumenten eine Schädigung ergeben usw. Die negativen Resultate beweisen nicht das Gegenteil, wenn genügend gesicherte positive Resultate gegenüberstehen (siehe auch oben).

Die lange Beschäftigung mit dem Thema der organischen Pflanzenernährung brachte mir manche unerwartete Resultate, neben vielen erwarteten.

Schon oben wurde kurz auf die Wichtigkeit des Sauerstoffes bei der Zuckerernährung hingewiesen.

Hier seien diese wenig bekannten Dinge nochmals kurz besprochen.

Versuche, die ich gemeinsam mit M. Cremer anstellte (Chem. Ztg. Bd. 20 Nr. 101) ergaben zu unserer Überraschung, daß die angewendeten Spirogyren bei Sauerstoffausschluß keine Stärke aus Rohrzucker zu bilden vermögen. Die Pflanzen wurden in eine Rohrzuckerlösung gesetzt, dann in eine Wasserstoffatmosphäre gebracht und darin 6 Stunden lang sehr gutem Tageslichte ausgesetzt; es zeigte sich nach Beendigung der Versuchs keine Stärke. Ein zweiter ganz ebenso angestellter Versuch führte zu ganz demselben Resultat. Das negative Resultat konnte nicht etwa auf Kosten einer kränklichen Beschaffenheit der Algen gesetzt werden; denn letztere waren nach Beendigung des Versuchs noch durchaus tadellos; sie setzten Stärke an, als sie nachher in eine sauerstoffhaltige Atmosphäre gebracht wurden. Versuche mit Xylose lieferten dasselbe negative Resultat wie die mit Rohrzucker, desgleichen mit Lävulose. Beide Zuckerarten wurden in 1%igen Lösungen angewendet. Spirogyren und andere Algen (auch Conferven ergaben dasselbe Resultat) können also scheinbar nur bei Sauerstoffzufuhr Stärke aus Zucker bilden. Das damals erhaltene negative Resultat erwies sich nur bei einem später gemachten Versuch als zum Teil bedingt durch die relativ kurze Versuchszeit. Als der Versuch nach 6 Stunden unterbrochen wurde,

war noch kein Stärkeansatz da, wohl aber war nach dreitägiger Ernährung mit Rohrzucker bei Lichtzutritt und Sauerstoffausschluß ziemlich reichlich Stärke in den Spirogyren nachzuweisen, doch nicht soviel wie beim Glycerinversuch. Jedenfalls bewirkt der Sauerstoffmangel eine Hemmung der Zuckerassimilation.

Wenn auch die längere Zeitdauer bei den ebengenannten Versuchen zunächst gefährlich erscheinen mag wegen der Möglichkeit einer nennenswerten Kohlensäureernährung infolge Bakterien- und Hefeentwicklung, so erscheint doch bei gebührender Berücksichtigung des andauernden Wasserstoffstromes und der augenscheinlichen Reinheit (Nichttrübung) der Lösung die Beweiskraft der Versuche nicht anfechtbar. Wegen Sauerstoffmangels können die Bakterien den Zucker nicht zu Kohlensäure verbrennen; Sproßhefe wurde nicht gefunden. Auch wurde etwa gebildete Kohlensäure durch den Wasserstoffstrom immer wieder entfernt.

Wenn gesagt werden sollte, daß die Stärkebildung noch kein Beweis für Ernährung sei, so widerspricht dies allen Erfahrungen. Spirogyren und andere als Stärkebildner bekannte Pflanzen reagieren auf Kohlenstoffernährung immer mit Stärkeansatz und auf das Ausbleiben der Kohlenstoffernährung mit Verschwinden der Stärke. Eine Stärkebildung ohne C-Ernährung der betreffenden Zelle ist wohl nicht bekannt geworden. Wenn man sieht, wie die Stärkebildung zunimmt mit der Zeitdauer des Zutrittes der als Nährsubstanz zu prüfenden organischen Materie, ferner auch bis zu einem gewissen Grade mit der Konzentration der Lösung, dann kann man nicht an der Nährwirkung zweifeln.

Es gibt natürlich auch andere Methoden, um die Nährwirkung zu erproben, so die Konstatierung von Wachstum, Gewichtszunahme, Verbrauch der organischen Substanz in der Lösung. Sie wurden alle vom Verfasser in verschiedenen Fällen zur Anwendung gebracht.

Was das Wachstum anlangt, so erinnere ich beispielsweise an einen meiner Versuche über Ernährung von *Spirogyra* mit Essigsäure (Biochem. Zeitschr., 71. Bd., 4 u. 5. Heft, S. 360). „Stellt man sich aus Eisessig eine 0,1%ige Essigsäure her und neutralisiert die saure Lösung mit Kalkwasser, so erhält man eine Nährflüssigkeit, in der Spirogyren binnen 2 Tagen bei Lichtzutritt und unter Kohlensäureausschluß Stärke bilden. Setzt man gleichzeitig einen Kontrollversuch mit reinem Wasser an, so bilden die Spirogyren in diesem keine Stärke. Ferner zeigt schon das makroskopische Aussehen der beiderlei Algen, daß in einem Fall Ernährung

stattfand, im andern nicht. Die mit essigsäurem Kalk ernährten Algen wachsen, breiten sich in der Flüssigkeit aus, die andern knäueln sich zusammen, als ob der eine Faden von dem andern bzw. den in ihm angehäuften und beim Absterben austretenden Nährstoffen leben wollten.“

Mit Milchsäure erhielt ich ein ähnliches positives Resultat.

Die Gewichtszunahme ist natürlich der bündigste aller Beweise; sie bedarf aber größerer Materialmengen.

Bei Versuchen mit einer kleinen Spirogyra-Art erhielt ich im kohlenstofffreien Raum eine Steigerung der Trockensubstanz durch Zufuhr von formaldehydschwefligsaurem Natron:

- a) ein Versuch mit 0,2 % formaldehydschwefligsaurem Natron + 0,1 % Dinatriumphosphat + 0,1 % Calciumnitrat + 0,02 % Magnesiumsulfat + Spur Eisenchlorid;
- b) dito;
- c) mit 0,3 % formaldehydschwefligsaurem Natron + 0,2 % Dinatriumphosphat + 0,1 % Calciumnitrat + 0,02 % Magnesiumsulfat + Spur Eisenchlorid;
- d) wie c);
- e) ein Kontrollversuch mit voller Minerallösung, aber ohne organische Substanz;
- f) wie e).

Nach 5 Tagen ergab sich bei a) eine Vermehrung der Trockensubstanz von 0,07 auf 0,10 g; b) von 0,07 auf 0,11 g, c) von 0,07 auf 0,12 g; bei d) von 0,07 auf 0,11 g. Bei den folgenden Kontrollversuchen zeigte sich nicht bloß keine Trockensubstanzvermehrung, sondern eine Trockensubstanzverminderung und zwar bei e) eine Abnahme von 0,07 auf 0,05 g; bei f) von 0,07 auf 0,06 g. Drei anfängliche Trockensubstanzbestimmungen hatten übereinstimmend je 0,07 g Trockensubstanz ergeben. In den Spirogyren der Versuche a) bis d) war ungeheuer viel Stärke angesetzt worden; die von e) und f) erwiesen sich als stärkefrei. Nirgends waren Bakterien aufgetreten.

Man sieht, daß der Zusatz von formaldehydschwefligsaurem Natron zum Kulturwasser eine erhebliche Vermehrung der Trockensubstanz bewirkt.

Der Zusatz von 0,2 %—0,1 % Dinatriumphosphat wurde (außer zur P-Ernährung) gemacht, um das freiwerdende saure schwefligsaure Natrium zu neutralisieren.

Nun noch einige Bemerkungen über die organische Stickstoffernährung von Algen! Man kann dieselbe im allgemeinen an dem Gedeihen bei Darbietung der betreffenden Stickstoffsubstanz — unter Ausschluß anderer Stickstoffquellen und Zufuhr der nötigen Mineralstoffe — erkennen; ferner an dem Auftreten oder der Vermehrung des bei Spirogyren bekanntlich durch Koffein leicht nachweisbaren aktiven Albumins. Die quantitative Probe, bestehend in Bestimmung der Stickstoffvermehrung, habe ich bis jetzt nicht angestellt.

Einer meiner Versuche ist beispielsweise folgender (Chem. Ztg. 20 Nr. 2): In einer Nährlösung, welche keine weitere Stickstoffquelle als 0,1 % Glykokoll enthielt, blieb *Spirogyra nitida* 3 Wochen lang kräftig und wuchs sichtlich, während dieselbe Spirogyra-Art mit 0,1 % schwefelsaurem Ammon keine Massenzunahme zeigte. Bei einem zweiten Versuch ergab sich ein ähnliches Resultat. Ein weiteres Experiment ergab, daß in der glykokollhaltigen stickstofffreien Nährlösung binnen 18 Tagen eine beträchtliche Zunahme an aktivem Albumin erfolgte. Mit Koffeinlösung zeigte sich starke Proteosomenausscheidung in Plasma und Zellsaft. Ein vierter Versuch, bei Ausschluß des elementaren Stickstoffs, zu welchem Zwecke das Lösungswasser ausgekocht und dann von Luft abgeschlossen wurde, hatte ein ganz ähnliches Ergebnis.

Die Lösungen des Glykokoll müssen mit Kalkwasser neutralisiert werden, damit keine Schädigung der Zellen eintritt.

Daß auch Harnstoff, der bekanntlich für Pilze wie *Sacharomyces* eine vortreffliche Stickstoffnahrung bildet, eine Stickstoffnahrung für *Spirogyra* ist, wurde von mir durch folgenden Versuch wahrscheinlich gemacht: In einer Nährlösung, welche 0,02 % Harnstoff, außerdem etwas Monokaliphosphat, Kalziumsulfat, Chlorkalzium und Magnesiumsulfat enthielt, blieben Spirogyren 4 Wochen lang durchaus gesund und zeigten kräftiges Wachstum sowie reichen Stärkevorrat (Harnstoff, auch Kohlenstoffnahrung). Da eine andere Stickstoffnahrung nicht vorhanden war, muß die NH_2 -Gruppe des Harnstoffs verwendet worden sein.

Da in 0,1 %iger mit Kalkwasser neutralisierter Lösung von Glykokoll, der etwas Monokaliphosphat zugesetzt ist, Spirogyren binnen 3 Tagen bei Lichtzutritt und Kohlensäureausschluß Stärke in allen Fäden bilden, muß auch das Glykokoll zugleich C- und N-Nahrung für *Spirogyra* sein. Bezüglich weiterer Versuche, die ich über Stickstoffernährung niederer Pflanzen gemacht habe, sei auf meine einschlägigen Arbeiten verwiesen.

Die Stickstoffernährung der Pflanzen führt bekanntlich meist zur Bildung von Eiweiß, einer Synthese höchsten Ranges; vermutlich wird dabei zuerst aktives Eiweiß gebildet. Bei einigen meiner Versuche konnte tatsächlich in den Zellen der Spirogyren mit zunehmender Stickstoffernährung auch Zunahme des aktiven Albumins beobachtet werden. Es wäre gewiß von Interesse, dieser Sache weiter nachzugehen. Im aktiven Eiweiß ist der Stickstoff nach O. L o e w als Aminogruppe vorhanden; im inaktiven Eiweiß (der chemischen Präparate) wurde ca. $\frac{1}{4}$ des Stickstoffes als NH_2 nachgewiesen (C. P a a l, Th. B o k o r n y). Demgemäß ist leicht zu verstehen, warum Glykokoll und Harnstoff eine Stickstoffnahrung für Algen sind. Dagegen erscheint die Ernährung mit Nitraten zunächst unvereinbar mit jener Konstitution des aktiven Albumins; und doch findet eine solche zweifellos statt. Die Landwirtschaft hat als Stickstoffdünger lange Zeit mit Vorliebe Nitrate gebraucht jetzt wird dem Ammoniak mehr Raum gegeben, das ja auch bei niederen Algen nicht versagt, wenn für eine entsprechend große Verdünnung gesorgt wird. Ammoniak wirkt z. B. noch bei 0,1 erheblich schädlich, indem gewisse innere Veränderungen in den Algenzellen eintreten.

Nitrate müssen, um verwendet zu werden, offenbar eine weitgehende Reduktion in der eiweißbildenden Algenzelle erfahren. Daß die Nitrate Algen faktisch ernähren, davon habe ich mich bei meinen Entstärkungsversuchen und sonst viele hundert Male überzeugt. Während viele Pilze, insbesondere Hefe, die Nitrate nicht verwenden können, verstehen Algen und viele andere grüne Pflanzen dieselben als N-Nahrung zu gebrauchen.

Zweifellos muß das Nitrat zuerst reduziert werden, die NO_3 -Gruppe muß wohl in NH_2 umgewandelt werden; damit allein schon vollbringt die Pflanzenzelle eine bedeutende chemische Leistung. Merkwürdigerweise wurde nun bei landwirtschaftlichen Versuchen im großen fast kein Unterschied in dem ernährungsphysiologischen Wert der verschiedenen geprüften Stickstoffquellen gefunden. Nitrate wirken ebensogut wie z. B. Ammonsulfat. Man sieht hieraus, wie die grüne Pflanze chemische Schwierigkeiten sozusagen spielend überwindet.

Erst die neuere Chemie gibt uns Anhaltspunkte, um das zu verstehen, es ist die Chemie der Katalysatoren, die das bisher dunkle Gebiet erleuchtet. Die Pflanzen besitzen offenbar äußerst wirksame Katalysatoren; wahrscheinlich hat das Protoplasmaeiweiß wie auch das nichtorganisierte aktive Albumin selbst kräftige katalytische Fähigkeiten, und zwar recht mannigfacher Art. Es vermag auch

„Fermente“ aus sich heraus zu bilden und, wenn nötig, abzusondern, welche die zweckmäßigsten chemischen Umwandlungen für Ernährungs- und sonstige Zwecke vollziehen helfen.

Von diesem Standpunkt aus ist auch die Kohlensäure-Assimilation in den Chlorophyllapparaten zu verstehen, die schon von den niedersten Algen mit Virtuosität vollbracht wird; das Licht kommt als weiterer wichtiger Helfer hinzu.

Die Kohlensäureernährung der Algen und anderer grüner Pflanzen darf aber nicht so aufgefaßt werden, als ob dieselben einer organischen Ernährung nicht fähig wären. Die organische Ernährung ist ja die chemisch leichtere und kommt bei der Verwendung aufgespeicherter Kohlehydrate und anderer Nährstoffe zur Ernährung der wachsenden Organe und Zellen immer vor; aber auch von außen können organische Stoffe eindringen und ernährend wirken, und dies auch bei den „autotrophen“ Pflanzen, wie z. B. aus der Glyceriner-nährung von abgeschnittenen Kartoffeltrieben hervorgeht. Die Kohlensäureernährung ist sozusagen der Gipfelpunkt der Kohlenstoffernährung, der nur von den grünen Pflanzen erreicht wird.

Sehr wahrscheinlich war die organische Ernährung der Pflanzen geologisch die primäre.

Denn im Anfang waren die Lichtverhältnisse nicht günstig für eine Kohlensäureassimilation.

Auch mußten die Chlorophyllapparate erst allmählich ausgebildet werden.

Daß es damals organische Stoffe ohne Mitwirkung von Tier und Pflanzenwelt gegeben hat, hat jüngst Prof. Dr. Oscar Loew in der Zeitschrift für angewandte Chemie 1927 („organische Stoffe der Urzeit“) wahrscheinlich gemacht.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Hedwigia](#)

Jahr/Year: 1929

Band/Volume: [69_1929](#)

Autor(en)/Author(s): Bokorny Thomas

Artikel/Article: [Einige inhaltschemische und ernährungsphysiologische Daten über Kryptogamen 39-55](#)