(Aus dem physiologischen Institut der Universität Jena.)

Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung.

VI.

Zur Kenntniss der Cellulose und des celluloselösenden Fermentes im Hepatopankreassaft der Schnecke (*Helix pomatia*).

Von

Jerzy Stanisław Alexandrowicz.

Bei den Untersuchungen von Biedermann und Moritz¹⁾, die zur Entdeckung eines celluloseverdauenden Fermentes im Magensaft der Schnecke führten, hat sich herausgestellt, dass dieses Ferment, obwohl es die Zellmembranen verschiedener Pflanzen in kurzer Zeit gänzlich zu lösen imstande ist, Baumwollfaser und Filtrierpapier auch bei längerer Einwirkung vollständig intakt lässt. Auf Anregung des Herrn Geheimrat Biedermann habe ich mir vorgenommen, zu untersuchen, wie sich der Magensaft der Schnecke (*Helix pomatia*) gegen reine Cellulose, wie sie nach den Verfahren von E. Gilson²⁾ und O. Bütschli³⁾ dargestellt worden ist, verhalten wird.

Die kristallisierte Cellulose.

Bekanntlich ist diesen Autoren gelungen, die Cellulose zum kristallisieren zu bringen. Nach der Methode von Gilson werden die nicht zu dünnen Schnitte von einem am besten keine Stärke

1) Biedermann und Moritz, Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. II. Über ein celluloselösendes Enzym im Lebersekret der Schnecke (*Helix pomatia*). Pflüger's Arch. Bd. 73. 1898.

2) E. Gilson, La cristallisation de la cellulose et la composition chimique de la membrane cellulaire végétale. La cellule t. 9. 1893.

3) O. Bütschli, Untersuchungen über Strukturen. Engelmann, Leipzig 1898.

und Fett¹⁾ enthaltenden Pflanzenteil, z. B. der Wurzel der Zuckerrübe (*Beta vulgaris*), zuerst in Eau de Javelle oder schwacher Kalilauge vom Zellinhalt befreit, dann sorgfältig in Wasser ausgewaschen und in Kupferoxydammoniak (Schweitzer's Reagens) gebracht. Nach etwa zwölf Stunden giesst man dasselbe langsam ab und füllt das Gefäss mit 10–15 %igem Ammoniak; letzteres muss das erste mal nach zehn Minuten und dann jede halbe Stunde gewechselt werden, bis die Schnitte kaum gefärbt erscheinen. Nach dem gehörigen Auswaschen in Wasser kann man sie in schwache Salz- oder Essigsäure bringen und dann mit Chlorzinkjod färben. Wenn man aber mit Kongorot färben will, muss die Behandlung mit Säure unterbleiben. Die Zellen der so behandelten Schnitte sind mit kleinen Kriställchen erfüllt, die je nach der Konzentration des Ammoniaks ein verschiedenes Aussehen haben: wenn man 5 %iges Ammoniak genommen hat, sind sie sehr klein, mit 10–15 %igem auskristallisierte zeigen einen zierlichen radiärstrahligen Bau, mit ganz starkem vorbehandelte stellen grössere Arboreszenzen dar. (Alle diese Formen sind von Gilson l. c. abgebildet.) Aus der Lösung reiner Cellulose in Kupferoxydammoniak hat derselbe Forscher durch langsames Verdunsten des Lösungsmittels Cellulose in Form von Sphäriten erhalten, die aber keine Spur von radiärstrahligem Bau zeigen. Unabhängig von ihm und fast gleichzeitig hat Bütschli²⁾ durch Verdampfen einer Lösung von Baumwolle in Schweitzer's Reagens auf dem Wasserbad ebenfalls Cellulose-sphäriten erhalten, denen er wabigen Bau zuspricht.

Von den beiden letzteren Methoden hat sich mir die Gilson'sche bewährt, weil man mit ihr ganz isolierte gleichmässige Sphäriten erhält. Man nimmt eine konzentrierte Lösung von Baumwolle oder von der nach Schulze präparierten Cellulose in Kupferoxydammoniak, filtriert durch Glaswolle und lässt in einem nicht ganz hermetisch schliessenden Gefäss stehen. Die Flüssigkeit soll sich daselbst in einer nicht zu dünnen Schicht befinden: in letzterem Falle scheidet sich die Cellulose in Form von sehr kleinen Globuliten aus. Wenn man aber in ein gleich grosses Gefäss etwas mehr von der Lösung bringt ($\frac{1}{2}$ —1 cm hohe Schicht), so muss man zwar mehrere Tage

1) Anderenfalls müssen die Schnitte in Alkohol und Äther ausgewaschen werden.

2) l. c. S. 200.

warten, bis der Rückstand trocken wird, aber man bekommt dann nach Auslösen des Kupfers in verdünnter (2 %) HCl und Auswaschen in Wasser die ganze Masse in Sphäriten umgewandelt.

Die nach dem Verfahren von Gilson (in Pflanzenschnitten) dargestellten Cellulosekristalle zeigen, wie erwähnt, einen radiärstrahligen Bau. Es ist weder Gilson noch Bütschli gelungen, ähnliche Kristalle *in vitro* darzustellen. Geführt durch einen Gedanken von Gilson, dass vielleicht das langsame Diffundieren des Ammoniaks durch die Zellwände das schöne Auskristallisieren der Cellulose herbeiführe, habe ich versucht, dasselbe nachzuahmen, indem ich möglichst fein ausgezogene Glasröhrchen von 1—3 cm Länge mit einer Lösung von Cellulose in Schweitzer's Reagens gefüllt und wie Gilson seine Schnitte in Ammoniak gebracht habe. Man tut gut, die Lösung der Baumwolle (oder reiner Cellulose) nicht konzentriert, sondern letztere zwei- bis dreimal mit Kupferoxydammoniak verdünnt zu nehmen, die Röhrchen aber in konzentriertes Ammoniak zu legen. Nach mehreren Stunden sieht man in Kapillaren, die man ohne weiteres unter dem Mikroskop beobachten kann, Sphärokristalle, deren Kontur deutlich gezackt ist; auch gegen das Zentrum zu sieht man hie und da eine radiale Streifung, woraus ich schliesse, dass so erhaltene Sphärokristalle radiärstrahlig gebaut sind, nur dass hier die einzelnen Nadeln viel dichter wie bei den Gilson'schen aneinandergereiht sind. Dieser Schluss ist um so berechtigter, als man auch unter den letzteren Kristalle sieht, bei denen nur der Rand gezackt ist, und solche, bei denen alle Übergangsformen mit immer dichter stehenden Nadeln zu beobachten sind.

Ich habe auch versucht, Korkzellen mit einer Celluloselösung zu füllen, die dann hier bei dem Auskristallisieren ähnliche Bedingungen wie in den Pflanzenschnitten haben könnte. Feine Korkschnitte wurden zuerst einige Tage in Kupferoxydammoniak gebracht, dann auf zehn Tage in eine konzentrierte Lösung von Watte in demselben Reagens. Nach kurzem Verweilen (zehn Minuten) in reinem Kupferoxydammoniak, wodurch der Niederschlag auf der Oberfläche der Schnitte verhütet wurde, kamen sie in 12 % iges Ammoniak wie bei der Gilson'schen Methode. Nach dieser Behandlung sind die Korkzellen mit zahlreichen Sphärokristallen gefüllt, die sich stark mit Chlorzinkjod färben, während die Kontrollschnitte, die nicht in der Wattelösung gelegen hatten, keine Spur davon zeigten. Auch in diesem Falle lässt die feingezackte Peripherie und die mehr oder

weniger ausgesprochene radiale Streifung erkennen, dass es sich um Aggregate radialer Fasern handelt, trotzdem das nicht so deutlich wie bei den in den Pflanzenschnitten hergestellten ausgesprochen ist; es lassen sich wohl nicht alle Bedingungen durch diese Maassnahmen nachahmen.

Wesentlich anders sehen die „Sphärrokristalle“ aus, die durch Verdunsten (Gilson) oder Verdampfen (Bütschli) einer Celluloselösung erhalten worden sind. „Einerseits finden sich ganz homogen erscheinende Sphären, die von Struktur nichts Bestimmtes erkennen lassen (s. Fig. 10 Taf. 11); andererseits solche mit Andeutung strahliger Struktur, die im Zentrum nicht selten einem gekammerten, wabigen Bau Platz macht. Endlich schliessen hieran ganz deutlich strahlig-wabige Sphären und ganz typisch konzentrisch geschichtet-wabige“ (Bütschli l. c. S. 200).

Ich habe verschiedene von diesen Sphären beobachtet (nur die grossen, S. 202 ff. l. c. von Bütschli beschriebenen Scheiben habe ich nicht darstellen können) und habe solche Bilder, wie sie von Bütschli photographiert und gezeichnet worden sind, gesehen. Andererseits aber habe ich beobachtet, dass die Gilson'schen Kristalle, falls sie von den sie einschliessenden Membranen befreit¹⁾ auf dem Deckgläschen eintrocknen, sehr wesentlich die Gestalt verändern: viele werden abgerundet, oder es bleiben an der Peripherie Zacken, die radialstrahlige Struktur wird fast unsichtbar, kurz, sie werden stark verunstaltet, dabei aber nähert sich ihre so künstlich hervorgerufene Struktur auffallend der Struktur der von Bütschli geschilderten Kristalle. Bei Benetzung mit Glycerin kommt wieder

1) Dazu verfährt man entweder nach Gilson, der die Schnitte für mindestens 5—6 Stunden in 2—3 % igem HCl lässt und nach Auswaschen in Wasser in schwachem Ammoniak oder Kalilauge die Zellmembranen auflöst, oder nach v. Wisselingh (Pringsheim's Jahrb. Bd. 31), der die Schnitte im Glycerin in zugeschmolzenen Glasröhren auf 300° C. erwärmt. Dann werden die Kristalle mehrmals in Wasser ausgewaschen, wobei man sich zweckmässig einer Zentrifuge bedient. Ferner möchte ich zu dieser Methode bemerken, dass das Glycerin wasserfrei genommen werden muss, wozu man es sich am besten selbst destilliere oder wenigstens durch Erwärmen bis zum Siedepunkt des Glycerins (296°) das Wasser vertreibe. Prof. Fr. N. Schulz machte mich auf diesen Umstand aufmerksam, da mir zuerst alle Röhrrchen platzten. Um die unangenehmen Folgen der Explosionen zu verhüten, habe ich auch später nicht wie v. Wisselingh in einem Ölbad, sondern in einem Schiessofen die zugeschmolzenen Glasröhrrchen erhitzt.

die frühere Struktur zum Vorschein, meist aber nicht mehr in vollem Maasse. Das hat mich auf den Gedanken geführt, ob nicht der Prozess des Austrocknens die Unterschiede in dem beobachteten Bau der Cellulosekristalle herbeiführt. Um diese Möglichkeit zu prüfen, habe ich eine konzentrierte Wattelösung in Schweitzer's Reagens der langsamen Verdunstung ausgesetzt; bevor die Masse vollständig austrocknete und etwa breiartige Konsistenz hatte, wurde ein Teil davon entnommen, in 2% igem HCl vom Kupfer befreit, in Wasser ausgewaschen und in demselben oder in Glycerin untersucht. Alle Sphäriten zeigten einen radiärstrahligen Bau, der aber ebenfalls durch Austrocknen stark verändert werden konnte. Zwar hat auch Bütschli solche Sphären gesehen, „deren Oberfläche rauh stachlig ist und die überhaupt einen mehr strahligen Bau besitzen“ (l. c. S. 201); weiter aber heisst es: „Die Strahlen sind jedoch durch Querbrücken verbunden, welche, sobald sie regelmässig in kleinen Entfernungen vom Zentrum gestellt waren, eine konzentrische Schichtung hervortreten liessen.“ Es fehlt mir an der nötigen Übung zur Beurteilung aller dieser Bilder, die nur mit den stärksten Systemen zu sehen sind; die angeführten Tatsachen scheinen mehr dafür zu sprechen, dass es sich bei der verschiedenen Form der Cellulosekristalle um Aggregate radialer Fasern handelt, die bald sehr dicht, bald viel weniger dicht aneinandergereiht sind. In letzterem Falle (bei den Gilson'schen Kristallen) kann von einem strahlig-kammerigen Bau wohl nicht die Rede sein. Dagegen kann vieles von dem von Bütschli Beschriebenen davon herrühren, dass dieser Forscher seine Sphären in ausgetrocknetem Zustande beobachtet hat, wie er an einigen Stellen ausdrücklich bemerkt. Dass es in letzterem Falle leicht zu Abknickungen, Verklebungen der Fasern kommt, davon kann man sich leicht überzeugen: so sieht man oft, wie zwei benachbarte Sphärite nach dem Austrocknen wie durch eine schmale Brücke verbunden bleiben. Es ist verständlich, dass dann eine mehr glatte oder höckrige oder stachlige Oberfläche entsteht, und dass die ganze Struktur stark deformiert wird; dass dann bei der Beobachtung mit so starken Objektiven vieles vorgetäuscht werden kann, ist auch eine Tatsache, die mit erwogen werden muss.

Die Cellulose im polarisierten Licht.

Die in den Pflanzenschnitten erhaltenen Gilson'schen Cellulosekristalle erweisen sich im polarisierten Lichte untersucht als

isotrop, auch mit dem empfindlichen Violett I kann keine Farbenveränderung wahrgenommen werden; erst wenn sie auf dem Objektträger austrocknen, lässt sich bei gekreuzten Nicols eine sehr geringe Gesichtsfelderhellung beobachten, die jedoch viel schwächer auftritt als bei den aus einer Celluloselösung in vitro dargestellten Sphäriten. Bütschli hat sie als anisotrop, und zwar optisch negativ, Gilson¹⁾ als isotrop beschrieben. Ich vermute, dass der erste Forscher diese Gebilde in trockenem, der zweite in nassem Zustande untersucht hat. In der Tat kann man unter dem Mikroskop beobachten, wie bei dem Austrocknen allmählich das Doppelbrechungsvermögen der Sphäriten zunimmt, bis schliesslich ein schwarzes Kreuz mit sehr breiten Armen sichtbar wird. Mit dem Gipsplättchen konstatiert man, dass die Sphäriten schwach negativ doppelbrechend sind. Ein so geringer Grad der Anisotropie kann auf derselben Erscheinung beruhen, wie sie an kleinen Glaskugeln zu beobachten ist; in diesem Sinne äusserte sich darüber Herr Prof. H. Ambronn, dem ich diese Sphäriten gezeigt habe.

Es war nicht ohne Interesse, zu sehen, wie diese Beobachtungen mit den Anschauungen über die Ursache der Anisotropie der pflanzlichen Zellmembranen in Einklang zu bringen seien. Nach der Meinung von Naegeli wären die hypothetischen Micellen, aus denen er sich alle organisierten Körper zusammengesetzt denkt, an sich anisotrop. Das Micell stellt „nichts anderes als einen winzigen, weit jenseits der mikroskopischen Sichtbarkeit liegenden Kristall“ dar²⁾. „Jedes einzelne Micell wirkt wie ein kleiner Kristall, und wenn sich die Wirkungen addieren, so steigt die resultierende Interferenzfarbe um so höher, je grösser die Zahl, die der durchgehende Lichtstrahl zu passieren hat, und wird dabei um so intensiver, je grösser diejenige, die auf die Flächeneinheit des mikroskopischen Bildes kommt“³⁾. Weder Zug, noch Druck, noch Quellung vermag (nach Naegeli) die Doppelbrechung zu beeinflussen. Diese Ansicht darf als widerlegt gelten, denn es ist bekannt, dass bei vielen Pflanzenmembranen die optische Anisotropie durch Druck und Zug sogar in hohem Maasse beeinflusst werden kann⁴⁾; andererseits kennt man Phänomene, die

1) l. c. S. 440, in der Tafelerklärung bei Fig. 9.

2) Naegeli, Theorie der Gärung S. 123. 1879.

3) Naegeli und Schwendener, Das Mikroskop, 2. Aufl., S. 354. 1877.

4) J. Wiesner, Elemente der Anatomie und Physiologie der Pflanzen, 1. Aufl., S. 260. — V. v. Ebner, Untersuchungen über die Ursachen der Aniso-

nicht ohne weiteres durch die Spannungshypothese eine Erklärung finden können, und solche Beobachtungen, wie Ambronn¹⁾ an Kirschgummi gemacht hat, scheinen für die Micellarhypothese direkt einen Beweis zu liefern. Über alle diese Fragen ist ausführlich von Biedermann in Winterstein's Handbuch der vergleichenden Physiologie berichtet worden²⁾.

Im Hinblick auf die starke Doppelbrechung der meisten pflanzlichen Zellhäute erscheint es sehr auffallend, dass die kristallisierte Cellulose nicht oder nur sehr schwach doppelbrechend wirkt. Wenn man auch die tatsächlich sehr geringe Dicke der in den Pflanzenschnitten dargestellten Sphärokristalle dafür verantwortlich machen könnte, so sind die *in vitro* aus der Celluloselösung erhaltenen doch von solchen Dimensionen, dass ein Baumwollstückchen von derselben Grösse eine sehr deutliche Doppelbrechung aufweist. Es muss also Kräfte geben, welche die „intensivere vektoriale Verkettung der Moleküle“, um den Ausdruck von v. Weimarn³⁾ zu gebrauchen, in den pflanzlichen Zellmembranen zustande bringen. Dadurch kann jedoch die Naegeli'sche Auffassung nicht erschüttert werden. Dass die Cellulose tatsächlich in Form von solchen Micellen in den Zellhäuten angeordnet ist, scheint mir folgende Überlegung einen Beweis zu liefern. Wir wissen, dass die Cellulose in den Pflanzenmembranen keine homogene Masse darstellt, sondern sich mit mehreren anderen Substanzen in einer sehr feinen Mischung befindet. Diese Stoffe umhüllen die Cellulosepartikelchen⁴⁾, was sich in vielen Fällen durch das Ausbleiben der Cellulosereaktion offenbart (s. weiter unten). Man kann aber diese Substanzen entfernen, und die zurückbleibende

tropie organisierter Substanzen. Engelmann, Leipzig 1882. — E. Strasburger, Über den Bau und das Wachstum der Zellhäute. G. Fischer, Jena 1882.

1) H. Ambronn, Das optische Verhalten und die Struktur des Kirschgummis. Berichte d. deutschen botan. Gesellschaft Bd. 7. 1889; siehe auch S. Schwendener, Nochmals über die optisch anomale Reaktion des Traganth- und Kirschgummis. Sitzungsber. d. Kgl. Preuss. Akad. d. Wissensch. zu Berlin S. 1131. 1890 (2).

2) Dank der Güte des Herrn Geheimrat Biedermann war mir diese Arbeit im Manuskript zugänglich. Es sei ihm auch an dieser Stelle mein aufrichtiger Dank ausgesprochen.

3) s. W. Ostwald, Grundriss der Kolloidchemie S. 117. Steinkopff, Dresden 1909.

4) Nach Naegeli sind die Micellen noch durch Wasserschichten voneinander getrennt.

Cellulose behält in hohem Grade die optische Anisotropie. Das beweist erstens, dass in diesen kleinen voneinander getrennten Cellulose-Teilchen die Moleküle vektorial orientiert sind, das heisst, sie stellen kleine Kriställchen dar, was vollkommen dem Micellbegriff Nägeli's entspricht, und zweitens, dass die Micelle ebenfalls gleichartig gerichtet sind, so dass sich ihre vektorialen Eigenschaften nicht aufheben, sondern addieren können. Wie kommt aber diese Vektorialität zustande, und warum ist sie in den Sphärokristallen nicht so deutlich ausgesprochen?

Wollen wir uns den Kristallisationsprozess der letzteren näher ansehen, und gehen wir von dem allgemeinen Standpunkt aus, „dass jeder Kristallisationsprozess aus zwei zusammenfallenden Prozessen besteht, nämlich aus der erstens molekularen Kristallisation und zweitens Aggregations-Kristallisation“¹⁾. Bei der ersteren vereinigen sich die Moleküle der in einer Lösung vorhandenen Substanz vermöge ihrer Anziehungskraft zu kleinen Molekülkomplexen, winzigen ultra- oder überultramikroskopischen Kriställchen. Diese werden sodann durch einen Aggregations-Kristallisationsprozess zu grossen Kristallen langsam vereinigt.

In unserem Falle summieren sich mehrere zur Bildung grösserer Kristalle ungünstige Faktoren. Erstens ist die Geschwindigkeit des Kristallisationsprozesses im ersten Moment²⁾ sehr gross, was die Bildung nichtmolekular-disperser Teilchen auf einmal an vielen Stellen des Dispersionsmittels begünstigt; zweitens sind diese Kriställchen, wenn sie auch aus wenigen Molekülen bestehen sollten, schon wegen der Dimension des Cellulosemoleküls wenig beweglich, also diffusionsunfähig, was den Aggregations-Kristallisationsprozess äusserst ver-

1) Ich folge der Darstellung des Kristallisationsprozesses von v. Weimarn, Grundzüge der Dispersoidchemie. Steinkopff, Dresden 1912.

2) Diese Geschwindigkeit drückt sich durch die Formel:

$$W = K \frac{\text{Kondensationsdruck}}{\text{Kondensationswiderstand}}$$

aus; sie ist also bei ein und demselben Kondensationsdruck um so grösser, je kleiner der Kondensationswiderstand, d. h. je kleiner „die Molekularkohäsion der gelösten Moleküle zu denen des Dispersionsmittels ist“. Unter dem Kondensationsdruck ist „der Druck zu verstehen, bei welchem die Kondensation der Moleküle zu Kristallen beginnt“ (s. v. Weimarn, l. c. S. 37 ff.). In unserem Falle, da das Dispersionsmittel (Kupferoxydammoniak) durch geringe Verdunstung äusserst schwach die Cellulose löst, nimmt der Kondensationsdruck sehr rapid ab.

langsam¹⁾; drittens sind aus demselben Grunde die vektorialen Molekularkräfte nicht imstande, die sich berührenden Krällälchen ordentlich zu richten²⁾. So erklären sich die Bilder der kristallisierten Cellulose, wie wir sie beobachtet haben, und wie sie von den Kristallisationen anderer hochmolekularer Suspenside (Solutoide) bekannt sind: wir bekommen zahlreiche mikroskopisch kleine Sphärüten ohne bestimmte Flächenabgrenzung und ohne ausgesprochene Vektorialeigenschaften. Kurz, die Trägheit der Cellulosemoleküle ist zu gross, als dass sie sich in grössere Aggregate sammeln könnten und als dass die vektorialen Molekularkräfte diese Trägheit überwinden könnten. Welche Kräfte sind es dann aber, welche bei der Orientierung der Cellulosemoleküle in den Pflanzenmembranen mitwirken?

Vor allem wächst ein Micell anders als ein einfacher Kristall, wie das Naegeli³⁾ schon bemerkte. Bei dem Aufbau eines Micells kondensieren sich die Cellulosemoleküle nicht aus einer Lösung, wo sie alle fertig gebildet sind, sondern es stellt jedes zu dem Molekülkomplex hinzutretende neue Molekül etwas werdendes dar und wird dort angelagert, wo es eben entsteht. Es gibt keinen Grund, anzunehmen, dass solche sich in statu nascendi befindenden Moleküle nicht den vektorialen Molekularkräften folgen sollten, welche sie schon während ihrer Entstehung bestimmt orientieren.

Ausserdem können in den pflanzlichen Zellmembranen verschiedene Spannungen, die durch das Wachstum der Zellhaut, durch Turgor entstehen, und auch „solche der verschiedenen Zellen- und Gewebssysteme gegeneinander“⁴⁾ auf die Richtung der Moleküle Ein-

1) „Das zweite Stadium des Kondensationsprozesses besteht im Wachstum der Teilchen der dispersen Phase durch Diffusion. Die Geschwindigkeit eines derartigen Prozesses wird entsprechend der Theorie von Noyes-Nernst also ausgedrückt:

$$v = \frac{D}{\delta} \cdot 0 \cdot (C - l),$$

wobei D der Diffusionskoeffizient, δ die Länge des Diffusionsweges (die Dicke der adhärierenden Schicht), C die Konzentration der umgebenden Lösung, l die Teilchenlöslichkeit der dispersen Phase bei einem bestimmten Dispersitätsgrade ist; $C - l$ stellt die absolute Übersättigung dar“ (v. Weimarn, l. c. S. 40).

2) Die Erklärung, warum die molekulare Richtkraft mit der Grösse der Moleküle rasch abnimmt, findet man bei O. Lehmann, Die neue Welt der flüssigen Kristalle S. 366. Akadem. Verlagsgesellschaft, Leipzig 1911.

3) Theorie der Gärung S. 124.

4) v. Ebner, l. c. S. 24.

fluss ausüben. Wir hätten hier also eine „erzwungene Homöotropie“, d. h. eine „durch einen äusseren Zwang bedingte Parallelrichtung der Moleküle“¹⁾. Bei der Einwirkung dieser Kräfte kommen zwei Momente in Betracht: erstens die Orientierung der Moleküle zu Micellen und zweitens die Anordnung der Micelle zu regelmässigen Micellverbänden. In ersterem Falle würden die Moleküle nicht nur der molekularen Richtkraft gehorchen, durch welche, wie es oben auseinandergesetzt wurde, sie zu Micellen vereinigt werden, sondern sie würden in jedem sich bildenden Micell von vornherein in einer gegen die Zellwand je nach dem Pflanzenteil bestimmten Achse orientiert²⁾.

Wenn aber das nicht der Fall wäre, und die Micelle mit verschieden oder unvollkommen orientierten Achsen gebildet sein sollten, so kommen doch später Spannungen zur Geltung, welche die regelmässige Anordnung der fertigen Micelle bewirken. Die Annahme der Spannungen als orientierende Kräfte³⁾ scheint mir deswegen notwendig zu sein, weil man sich sonst nicht klar machen kann, wie solche voneinander getrennte, aus Tausenden von Molekülen bestehende Aggregate gleichartig gerichtet werden können. Naegeli⁴⁾

1) Lehmann, l. c. S. 186.

2) Ich knüpfe diesen Gedanken an die Ansicht von M. Heidenhain, welcher gelegentlich der Besprechung der Lagerung der Moleküle zu einer quer-gestreiften Muskelfaser sagt: „Möglicherweise ist es die Spannung selbst, welche richtend auf die Lagerung der Moleküle wirkt“. — M. Heidenhain, Weitere Beiträge zur Beleuchtung des genetischen Verhältnisses zwischen molekularer und histologischer Struktur. Anat. Anz. Bd. 21 S. 394. 1902.

3) Es mag noch bemerkt werden, dass es für Lehmann nicht ausgeschlossen scheint, dass bei der durch Druck und Zug entstehenden Anisotropie „eine Deformation der Moleküle eintritt, wodurch dieselben andere optische Eigenschaften annehmen“ (Die neue Welt usw. S. 194). Es fehlen zurzeit Anhaltspunkte, um solche Deformation der Cellulosemoleküle annehmen zu können; es lässt sich aber erblicken, dass die Hypothese von Lehmann dann zur Hilfe gezogen werden kann, wenn ein und derselbe chemische Körper verschiedene Reaktionen gibt; z. B. ist die Cellulose in Form von Watte in dem Verdauungssaft der Schnecke unlöslich (s. unten).

4) Bei dieser Gelegenheit möchte ich bemerken, dass viele Ansichten von Naegeli verdienen, dass ihm in der Geschichte der Kolloidchemie ein Platz eingeräumt wird. So schrieb er im Jahre 1879 (Theorie der Gärung S. 97): „Gewöhnlich unterscheidet man zwei Gruppen von Stoffen, welche in Lösung ungleiche Eigenschaften zeigen: Kristalloide und Kolloide . . . Die jetzigen fortgeschrittenen Kenntnisse haben die Unterscheidung von Kristalloiden und Kolloiden

nimmt zwar an, dass die Micelle „eine sehr grosse Neigung haben, sich zu Verbänden aneinanderzulegen, sei es, dass sie sich in unregelmässiger Weise vereinigen, sei es, dass sie Ketten bilden, welche

in der früheren Form mehr und mehr unhaltbar gemacht. Denn es gibt einzelne Kristalloide, welche diosmieren, aber nicht kristallisieren, wie der Fruchtzucker; ferner gibt es Kolloide, welche unter gewissen Umständen nicht, unter anderen leicht diosmieren, und endlich kennt man schon mehrere, welche in kristallähnlichen Formen sich ausscheiden, wie Albuminate, Amylodextrin und Inulin. Wir können also nicht zwei Gruppen von Stoffen, sondern nur verschiedene Eigenschaften unterscheiden, die bald so, bald anders zusammentreffen und bei der nämlichen Verbindung je nach den äusseren Einflüssen sich ungleich verhalten“ (von mir gesperrt). Das verschiedene Verhalten der Lösungen von Salzen, Zucker usw. einerseits und der organisierten Stoffe (Eiweiss, Stärke, Cellulose) andererseits deutet er in der Weise, dass in ersterem Falle zwischen den Wasserteilchen die vereinzelteten Moleküle, in dem zweiten Falle „die vereinzelteten Micellen (kristallinische Molekülgruppen)“ verteilt sind. — Es wird von Naegeli (l. c. S. 126) angenommen, dass „mit grosser Wahrscheinlichkeit“ Kieselsäure und andere unorganische Verbindungen, die ähnlichen gallertartigen Zustand haben, ebenfalls Micellarlösungen sind. — Naegeli nimmt weiter an, dass Zucker Micellarlösungen geben kann, und fragt sich, ob das nicht mit anderen leicht löslichen Stoffen der Fall werden könne; er hält das für eine „nahe liegende Wahrscheinlichkeit“ (S. 146). Das ist eine Vorahnung des heute zur Geltung kommenden Satzes: „Der kolloide Zustand ist eine allgemeine Eigenschaft der Materie“. In der Konsequenz spricht er den Gedanken aus, dass es auch Eis in Micellarlösung geben kann, welche Idee auch heute manchem phantastisch erscheinen könnte, wenn nicht bereits von Wo. Ostwald und P. P. v. Weimarn Eis in suspensoidem Zustande erhalten wäre. Wie diese Anschauungen an die ganz modernen Errungenschaften der Kolloidchemie grenzen, wird man sich leicht aus dem „Grundriss der Kolloidchemie“ von Wo. Ostwald und den „Grundzügen der Dispersoidchemie“ von P. P. v. Weimarn orientieren können. — Man findet bei Naegeli auch manche andere Gedanken, die heute wohl wenig bekannt sind, trotzdem sie verdienen, beachtet zu werden, wie z. B. die Theorie über den Bau der Atome, welche der heutigen Elektronenlehre nahe stehen. Er schrieb z. B.: „Der Atomkörper besteht aus Ameren und Amergruppen, die sich in schwingenden, teilweise auch in fortschreitenden und drehenden Bewegungen befinden.“ „Die Atmosphäre um den Atomkörper besteht aus ponderablen Ameren und Amergruppen, die zwar alle ihren Platz verlassen können, von denen aber die der innersten Schichten, durch stärkere Anziehung gebunden, mehr schwingende Bewegungen ausführen, während die der äusseren Schichten mehr und mehr bloss fortschreitende Bewegungen zeigen.“ C. v. Naegeli, Mechanisch-physiologische Theorie der Abstammungslehre. Anhang: Kräfte und Gestaltungen im molekularen Gebiet S. 813 u. 814. Oldenbourg, München u. Leipzig 1884.

sich baumartig verzweigen oder zu einem Netz verbinden können“ (Theorie der Gärung S. 153). Warum einmal das eine, einmal das andere zustande kommt, erklärt er dadurch, dass sie gleiche oder verschiedene Grösse und Gestalt haben. Welche Kräfte aber ihre Vereinigung bewirken sollen, ist nicht klar genug dargestellt, was einen Punkt seiner Theorie bildet, auf dessen Schwäche auch Bütschli (l. c. S. 227) hingewiesen hat.

Es ist wohl nicht zu zweifeln, dass es die Cellulose ist, die zur optischen Anisotropie der Pflanzenmembranen beiträgt: Rübenschnitte, die längere Zeit in Schweitzer'schem Reagens gehalten wurden, erweisen sich als einfachbrechend, und wenn noch an irgendwelcher Stelle die Anisotropie wahrnehmbar ist, so färbt sich auch die betreffende Stelle mit Chlorzinkjod violett, ein Beweis, dass noch nicht die gesamte Cellulose entfernt worden war; die Schnitte dagegen, die nach van Wisselingh¹⁾ in Glycerin auf 300° erwärmt wurden und demzufolge aus reiner Cellulose bestanden, sind stark doppelbrechend. Ob aber die echte Cellulose (Dextroso-Cellulose) allein für die optische Anisotropie verantwortlich gemacht werden soll, ist eine Frage, die noch unentschieden ist. Um sie zu prüfen, habe ich einige Schnitte aus dem Endosperm von *Phytelephas macrocarpa*, *Phoenix dactylifera* und *Coffea arabica* ausgewählt, die in der ganzen Länge möglichst gleiche Dicke und demgemäss gleiche Interferenzfarben zwischen gekreuzten Nicols und eingeschobenem Gipsplättchen Rot erster Ordnung zeigten. Da es sehr schwer ist, bei der Schwierigkeit des Schneidens verschiedene Schnitte als gleich dick anzusprechen, so habe ich jeden Schnitt in zwei Teile halbiert, die einen Hälften zur Kontrolle aufbewahrt und die anderen in Glycerin auf 300° erhitzt oder eine Stunde in 5% igem H_2SO_4 ausgekocht, wie es Schulze²⁾ zur Entfernung der paragalactanartigen Substanzen angegeben hat. In beiden Fällen stellte sich heraus, dass bei Dattelnkern- und Steinnussschnitten die Interferenzfarben stark gesunken sind, bei manchen von Weiss höherer Ordnung bis Indigo in Additions- und bis Orange in Subtraktionsstellung. Nur bei Kaffeebohnschnitten konnte das nicht mit genügender Sicherheit

1) van Wisselingh, Mikrochemische Untersuchungen über die Zellwände der Fungi. Pringsheim's Jahrb. f. wissensch. Botanik Bd. 31. 1898.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 14 S. 234. 1890.

festgestellt werden. Es wären also bei diesem Verfahren eine oder mehrere Substanzen entfernt, die sich an dem Zustandekommen der optischen Anisotropie beteiligen. Man kann aber auch einwenden, dass die Dextrosocellulosemicellen selbst durch dieses Verfahren angegriffen werden, was nicht von der Hand zu weisen ist; man muss jedoch daran denken, dass z. B. bei *Phytelephas macrocarpa*, das zu den wenigen¹⁾ pflanzlichen Objekten gehört, wo an Durchschnitten Farben höherer Ordnung auftreten, die Dextrosocellulose sich nur in einem kleinen Prozentsatz (etwa 5 %) an der Bildung der Endospermverdickungsschichten beteiligt.

Die Wirkung des Hepatopankreassaftes von *Helix pomatia* auf die Cellulose.

Meine Experimente habe ich während des Winters angefangen. Die Schnecken, die sich im Winterschlaf befanden, wachten bei der Zimmertemperatur auf und wurden mit Semmelbrei gefüttert. Ich habe zuerst die Versuche von Biedermann und Moritz wiederholt, um mich von der Wirksamkeit des celluloseverdauenden Fermentes zu überzeugen. Die Schnitte vom Dattelkern und von der Rübe wurden auf einem Objekträger mit einigen Tropfen des aus dem Magen nach den Vorschriften der genannten Autoren entnommenen Saftes zusammengebracht, mit Deckgläschen bedeckt und in einen Thermostat bei 33° gelegt. Um das Austrocknen zu vermeiden, habe ich die Deckgläschen mit Asphaltlack umrandet. Gegen Bakterienwachstum wurde ein Tropfen Chloroform oder besser Toluol angewendet.

Die Wirksamkeit des Fermentes trat bei meinen Schnecken viel schwächer auf, als das in den Versuchen von Biedermann und Moritz der Fall war; auch individuell war sie verschieden. Manche Tiere wollten gar nichts fressen und schliefen wieder ein. Erst im Frühjahr gingen die Experimente besser vonstatten.

Die Cellulose in der Form der oben geschilderten Sphärö-kristalle wird in Hepatopankreassaft von *Helix pomatia* vollständig gelöst, wenn auch dieser Prozess langsam vor sich geht und sogar bei den geringen Quantitäten des Substrates, die sich unter dem Deckglas befinden, manchmal 36 Stunden und mehr in Anspruch nimmt. Es ergibt sich somit ein werkwürdiger Unterschied gegen-

1) W. Hofmeister, Die Lehre von der Pflanzenzelle S. 339. Engelmann, Leipzig 1867.

über dem Verhalten der Cellulose in Form der Watte, die bekanntlich von dem Ferment nicht angegriffen wird. Man könnte das darauf zurückzuführen suchen, dass die Watte dort nicht ganz rein ist und dass eine andere Substanz die Cellulose von der Wirkung des Fermentes schütze; ist es doch auch bekannt, dass Kongorot die Watte langsam und ziemlich schwach färbt, während es im allgemeinen die Cellulose stark rötet. Auch einige Farbstoffreaktionen zeigen die Anwesenheit eines anderen oder anderer Stoffe in der Watte. So habe ich mit Methylviolett eine stärkere, mit angesäuertem Methylenblau, Methylgrün und Malachitgrün eine schwache Färbung der Wattefaser gesehen, wie es auch v. Wisselingh¹⁾ angibt. Durch Erwärmen in Glycerin auf 300° lässt sich Watte erhalten, die nur mit Kongorot eine Färbung gibt. Eine in dieser Weise gereinigte Watte wird von dem Verdauungssaft der Schnecke angegriffen, aber nur in sehr geringem Maasse. Erst nach tagelanger Einwirkung nimmt man an den Wattefasern eigentümliche Veränderungen wahr: sie sehen wie aus kleinen Bröckeln zusammengesetzt aus, die hie und da noch von einer zarten äusseren Hülle umgeben sind. Allmählich zerfällt die ganze Wattefaser in kleinere Fragmente, die sehr langsam gelöst werden. Der ganze Prozess kann, wie gesagt, tage- bis wochenlang vor sich gehen. Viel rascher lässt sich derselbe beobachten, wenn man die Wattefaser in Kupferoxydammoniak quellen lässt und dann sorgfältig auswäscht, wie das schon Seillière²⁾ beobachtet hatte. Was im vorigen Falle Tage in Anspruch nimmt, kann hier in Stunden geschehen. Dass an dem refraktären Verhalten der gewöhnlichen Watte die Stoffe, die die oben erwähnten Farbstoffreaktionen geben, nicht schuld sind, geht daraus hervor, dass solche mit Schweitzer's Reagens vorbehandelte Watte, mit Methylviolett und angesäuertem Methylenblau, wenn auch schwach, noch gefärbt erscheint und doch bedeutend leichter von dem Ferment angegriffen wird als die auf 300° erwärmte, die dieselben Reaktionen nicht zeigt. Da man in der letzten so gut wie reine Cellulose hat, so wird man angesichts der Tatsache, dass sich die Cellulose in einer Form fast gar nicht, in der anderen leicht

1) l. c. S. 633.

2) G. Seillière, Remarques sur l'hydrolyse diastatique de la cellulose du coton et de quelques autres polysaccharides. Compt. rend. Soc. Biol. t. 2 p. 515. Paris 1907.

löst, zu dem Gedanken geführt, dass es verschiedene Strukturverhältnisse sind, die diesen Unterschied bedingen. So stellte sich schon Naegeli vor, dass eine verschiedene Micellarkonstitution die Lösungsunterschiede der Pflanzenmembranen bedingt, „und zwar im allgemeinen in dem Sinn, dass wasserreichere Membranen, welche kleine Micellen besitzen, sich leichter lösen als die festen. Die letzteren können zwar durch geeignete Mittel in einen löslicheren Zustand übergeführt werden . . . usw.“¹⁾. Er nimmt an, dass durch stärkere Säuren und Alkalien sowie Kupferoxydammoniak die Micellarkonstitution Veränderungen erfahren kann, „die wahrscheinlich darauf beruhen, dass die Micellen sich in kleinere teilen“²⁾. Seillière meint, dass die Unterschiede in der Einwirkung des *Helixfermentes* auf die Verschiedenheit des Kondensationszustandes der Cellulose in den beiden Formen beruht, welcher Faktor nach Duclaux³⁾ bei der Hydrolyse der Polysacchariden eine Rolle spielen soll.

Die Veränderungen der Pflanzenschnitte, die der Einwirkung des Hepatopankreassaftes der Schnecke ausgesetzt wurden, sind von Biedermann und Moritz (l. c.) eingehend beschrieben. Vor kurzem ist ein Aufsatz von Bierry und Giaja⁴⁾ erschienen, in welchem sich S. 376 folgende Bemerkung findet: „Die Arbeit von Biedermann und Moritz in histologischer Hinsicht gestattet nicht die Schlüsse, die diese Verfasser daraus gezogen haben“. Ich will durchaus nicht das Verdienst von Bierry und Giaja leugnen, die Produkte der fermentativen Prozesse, denen die Cellulose und die Hemicellulosen im Magensaft von verschiedenen Wirbellosen unterliegen, exakt chemisch festgestellt zu haben; wenn ich sie aber recht verstanden habe, bezieht sich diese Kritik darauf, dass Biedermann und Moritz nicht berechtigt waren, auf Grund lediglich histologischer Beobachtung die Anwesenheit eines celluloseverdauenden Fermentes im Schnecken- und Krebsmagensaft als festgestellt zu betrachten. Da ich selbst aus den histologischen Untersuchungen einige Schlüsse ziehen möchte, so mag bemerkt sein, dass, wenn man ein unzweifelhaft deutliches und rasches

1) Naegeli und Schwendener, Das Mikroskop, 2. Aufl., S. 519.

2) Ebenda S. 427.

3) *Traité de Microbiologie* t. 4 p. 498, zitiert nach Seillière.

4) H. Bierry und J. Giaja, Untersuchungen über die Mannane, Galaktane und Cellulosen angreifende Enzyme. *Biochem. Zeitschr.* Bd. 40. 1912.

Schwinden eines Substrates wie Cellulose, für welche die Wirkung eines anderen Faktors, wie etwa der schwachen Säure, als ausgeschlossen gelten muss, vor sich hat, nur die eine Annahme übrig bleibt, dass man es mit einem Katalysator, der diese Reaktion beschleunigt, also einem Ferment, zu tun hat.

Ich habe die Lösungsvorgänge an Schnitten von Kaffeebohnen, Dattel- und Steinnussendosperm beobachtet, und zwar ausser an frischen auch an mit Eau de Javelle vorbehandelten Schnitten und drittens an den letzteren nach der Erwärmung in Glycerin auf 300 °. An denselben Objekten wurde auch die Einwirkung von Kupferoxydammoniak beobachtet. Um mit der letzteren zu beginnen, muss ich bemerken, dass ich nicht die Angabe von Schulze¹⁾ bestätigen kann, der in der ersten Mitteilung (S. 266) schrieb: „Durch Kupferoxydammoniak werden die verdickten Zellwandungen dem Anschein nach gar nicht angegriffen“. Er führte damals diesen Umstand darauf zurück, dass die paragalactanartigen Kohlehydrate als Inkrustationen die Cellulose schützen; später aber hat er selbst feststellen können, dass „die Hemicellulosen in Wirklichkeit im Verhalten gegen Kupferoxydammoniak wohl nicht von der Cellulose abweichen“²⁾. Mir scheint es, da ich auch manchmal ähnliche Resultate wie Schulze bekommen habe, dass das Schweizer'sche Reagens in diesen Fällen nicht stark genug war. Sonst habe ich eine rasche Wirkung des Kupferoxydammoniaks konstatieren können. Auch Reiss³⁾ fand die Reservecellulosen von verschiedenen von ihm untersuchten Pflanzen (unter anderem *Phoenix dactylifera*) in Schweizer's Reagens löslich mit Ausnahme von *Foeniculum officinale* und *Paris quadrifolia*.

An den Schnitten von Dattelnkernen, Kaffeebohnen und Steinnüssen, und zwar an solchen, die mit keinem anderen Reagens vorher in Berührung gebracht wurden, geht die Lösung folgendermaassen vor sich. Die Verdickungsschichten quellen beträchtlich auf; bald sieht man in ihnen stärker lichtbrechende Partien auftreten, etwa wie Biedermann und Moritz Taf. VI, Fig. 3 (Pflüger's Arch., Bd. 73)

1) E. Schulze, E. Steiger und W. Maxwell, Zur Chemie der Pflanzenmembranen. I. Abhandlung. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 14. 1890.

2) E. Schulze, Zur Chemie der pflanzlichen Zellmembranen. II. Abhandlung. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 16 S. 410. 1892.

3) R. Reiss, Über die Natur der Reservecellulose und über ihre Auflösungsweise bei der Keimung der Samen. Landw. Jahrb. Bd. 18 S. 740. 1889.

bei der Einwirkung des Schneckensaftes beobachteten. Diese Partien, die — weiter abschmelzend — wie Inseln sich abheben, sind doppelbrechend, und nachdem sie sich in wenig Minuten gelöst haben, wird das Gesichtsfeld zwischen gekreuzten Nicols ganz dunkel; im gewöhnlichen Lichte aber sehen die Zellmembranen, abgesehen von der Quellung, wenig verändert aus, sogar die vom Schneiden mit dem Rasirmesser herrührenden feinen Streifen bleiben bestehen. Bei weiterer Einwirkung des Reagens verschwinden aber dieselben, und die Schnitte nehmen ein gelatinöses Aussehen an. Dass es sich hier nicht bloss um eine Quellung handelt und dass die Cellulose wenigstens zum grössten Teile aus den Verdickungsschichten entfernt ist, davon kann man sich leicht überzeugen, wenn man nach dem Verfahren von Gilson die Schnitte in Ammoniak bringt, um die Cellulose zum Kristallisieren zu bringen, und dann mit Chlorzinkjod färbt. Die stark verengten Zellumina sind vollständig mit grossen, stark violett gefärbten Cellulosearborescenzen ausgefüllt. Dabei sieht man noch in den stark verunstalteten Zellwänden ein zierliches, ebenfalls violett gefärbtes Netz, das sozusagen ein Wabengerüst in der ganzen Zellwand darstellt. Natürlich können solche Bilder, die in den schweren Eingriffen unterworfenen Präparaten zu sehen sind, kaum einen Beweis für irgendwelche Strukturtheorie der Zellwand liefern, um so weniger, da an solchen Zellen, die noch Reste ihrer Normalstruktur (Lamellen) zeigen, nichts von solchen Waben zu sehen ist. Diese Erscheinung kann so gedeutet werden, dass die Reste der Cellulose noch nicht aus der ganzen Dicke der Zellwand entfernt wurden und mit Ammoniak als ein so feines Netz ausgefällt werden.

Die mit Eau de Javelle vorbehandelten Schnitte zeigen ein etwas abweichendes Verhalten gegen Kupferoxydammoniak, insofern als sie viel rascher gelöst werden und viel deutlichere und stärker lichtbrechende Partien der sich rasch lösenden Substanz zeigen, welche, wie Grüss¹⁾ bei der Beschreibung ähnlicher unter der Einwirkung der Schwefelsäure sich abspielender Vorgänge treffend sagt, das Aussehen von Eisstückchen haben, die auf der Wasseroberfläche schwimmen; weiterhin weisen solche Schnitte eine sehr

1) J. Grüss, Über die Einwirkung der Diastase-Fermente auf Reservecellulose. Berichte der deutschen botan. Gesellsch. Bd. 12. 1894. (Bericht über die Verhändl. der 11. Generalvers. der deutschen botan. Gesellsch. in Wien S. 66.)

geringe Quellung auf und hinterlassen ein nur bei stark abgeblendetem Licht sichtbares Häutchen. Wenn der Lösungsprozess sehr rasch vor sich geht, kann dieses zarte Häutchen leicht zerreißen, löst sich aber bei längerem Verbleiben in Kupferoxydammoniak nicht. Wenn man ein etwas schwächeres Reagens nimmt oder den Lösungsprozess weiter von der Peripherie nach der Mitte der Schnitte hin beobachtet, so sieht man, dass, trotzdem sich ebenfalls stark lichtbrechende Partien abheben und abschmelzen, eine feine Schichtung der Zellwände noch bestehen bleibt und dieselben ihr Doppelbrechungsvermögen, wenn auch sehr schwach, noch beibehalten haben. Diese Erscheinung kann man in zweifacher Weise deuten: entweder wird eine und dieselbe Substanz nicht gleich von dem Reagens angegriffen, ein Teil wird schwerer zugänglich und bleibt ungelöst in der Zellwand zurück, oder aber es bestehen Löslichkeitsunterschiede zwischen den verschiedenen Substanzen, so dass eine von ihnen langsamer angegriffen wird. Wenn das letztere der Fall ist, so wird man auch daraus schliessen können, dass es verschiedene Substanzen in der Zellmembran gibt, die die Doppelbrechung bedingen.

Was das früher erwähnte übrigbleibende Häutchen anbetrifft, so ist das offenbar die Innenhaut Wiesner's¹⁾ [Grenzhäutchen Strasburger's²⁾, Lamelle interne Gilson's]. Nach Wiesner soll es reich an Eiweissstoffen sein. Gilson³⁾ meint, dass es hauptsächlich aus Cellulose besteht. Dass man es aber hier auch mit einer anderen Substanz zu tun hat, beweist das Verhalten dem Kupferoxydammoniak und den Farbstoffen gegenüber. Um das letztere zu prüfen, habe ich Dattel- und Phytelphasendospermschnitte so lange in Schweitzer's Reagens gehalten, bis sie nur ganz wenige Reste von doppelbrechender Substanz enthielten (sie vollständig zu entfernen gelingt an etwas dickeren Stellen nicht); so dann wurden die sehr zarten Reste mit einer Pipette auf den Objektträger gebracht, der Überschuss an Kupferoxydammoniak entfernt und der Schnitt mit einem Tropfen Salzsäure (2 %) bedeckt, die nach wenigen Minuten durch Wasser ersetzt wurde. Man kann

1) J. Wiesner, Untersuchungen über die Organisation der vegetabilischen Zellhaut. Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch., math.-naturw. Klasse Abt. I Bd. 93 S. 53, 54. 1886.

2) Über den Bau und das Wachstum der Zellhäute. 1882.

3) l. c. S. 421.

dann die Objekte färben, was am deutlichsten mit Methylviolett und Methylenblau geschieht; mit Chlorzinkjod dagegen erhält man keine Cellulosereaktion. An den in dieser Weise gewonnenen Präparaten kann man sehen, wie das Innenhäutchen in die Tüpfelkanäle handschuhfingerförmige Fortsätze hineinsendet, welche an der Spitze keine Öffnung haben, sich also an der Schliessung der Tüpfel beteiligen, wie das schon Dippel¹⁾ beobachtet hat. Dass aber diese Innenhaut nicht allein an der Bildung der Schliesshaut der Tüpfel teilnimmt, hat schon Strasburger²⁾ nachgewiesen. Auch habe ich an den oben erwähnten Präparaten deutlich gesehen, dass ein an der Aussenseite der Zellen sich ebenfalls mit Methylviolett und Methylenblau färbendes Häutchen (Reste der Mittellamelle) an den Tüpfeln keine Unterbrechung erleidet. Bemerkt sei noch, dass für Strasburger die anderen Schichten der Wand mehr oder weniger scharf an den Tüpfeln endigen. Er hatte wahrscheinlich die Verhältnisse an denselben im Auge, als er das Grenzhäutchen, das heute allgemein als identisch mit der Bezeichnung Innenhaut gebraucht wird, folgendermaassen definierte: „Gleichzeitig benutze ich die Bezeichnung ‚Grenzhäutchen‘, welches den dichteren Innenrand einer Schicht bedeuten soll. Das Grenzhäutchen wird oft, als scheinbar einheitliches Gebilde, mehreren Schichten gleichzeitig zugehören können“³⁾. Derselbe Forscher gibt noch an, dass das Grenzhäutchen mit Chlorzinkjod sich nicht violett, sondern schwach gelbbraun färbt, wovon man sich an den Dattelkernschnitten leicht überzeugen kann. Interessant ist noch, dass die letzteren, in Chlorzinkjod gebracht und unter dem Mikroskop beobachtet, die gleichen Veränderungen wie unter der Einwirkung von Schweitzer's Reagens zeigen (Hervortreten von scharf begrenzten, stark lichtbrechenden Partien, Abschmelzen derselben, Zwickelbildung an den Ecken usw.). In diesem Falle wird aber nicht die Cellulose herausgelöst, da sich die übrig bleibenden Zellmembranen, die bekanntlich nach dieser Behandlung sehr schöne Schichtung zeigen, violett färben, und zwar die normalen Schnitte langsam und ziemlich schwach, die mit Eau

1) L. Dippel, Die neuere Theorie über die feinere Struktur der Zellhäute, betrachtet an der Hand der Tatsachen. III. Abhandl. d. Senckenbergischen naturf. Gesellsch. Bd. 11 S. 125. 1879.

2) Strasburger, l. c. S. 13, 20, 23. — Strasburger, Die pflanzlichen Zellhäute. Pringsheim's Jahrb. f. wissensch. Botanik Bd. 31 S. 571. 1898.

3) Über den Bau und das Wachstum der Zellhäute S. 6.

de Javelle vorbehandelten rascher und stärker. Am stärksten, fast momentan und in ganzer Ausdehnung gleichmässig färben sich die Zellmembranen an solchen Schnitten, die in Glycerin auf 300° erwärmt worden waren. Auch sieht man an ihnen ausser der Färbung keine von den beschriebenen Veränderungen. Gegenüber dem Kupferoxydammoniak verhalten sie sich ebenfalls anders: es werden keine stärker lichtbrechenden Partien deutlich. Die Zellwände quellen etwas auf, wobei die Schichtung deutlich wird, und lösen sich dann rasch und vollständig auf.

Wenn wir zum sicheren Vergleich die möglichst gleich dicken Schnitte unter dasselbe Deckglas bringen, und zwar einen, der mit keinem Reagens in Berührung kam, einen mit Lauge behandelten und einen, der auf 300° erwärmt wurde, so sehen wir, dass im Kupferoxydammoniak der erste am langsamsten, der dritte am raschesten gelöst wird.

Gerade umgekehrt ist die Lösungsgeschwindigkeit bei diesen drei Arten von Schnitten im Hepatopankreassaft von *Helix pomatia*. Um die Bedingungen möglichst gleich zu machen, habe ich die Schnitte unter dasselbe Deckglas gebracht; schwieriger ist der Fehler, der von der verschiedenen Dicke der Schnitte herrühren kann, zu eliminieren. Der Unterschied im Aussehen ist aber so markant, dass es mir nicht möglich scheint, an dieser Tatsache zu zweifeln; während nämlich die normalen und mit Eau de Javelle vorbehandelten Schnitte fast vollständig gelöst sind und nur an den dickeren Stellen Reste der doppelbrechenden Substanz erhalten bleiben, sind die in Glycerin auf 300° erwärmten Schnitte, die somit aus reiner Cellulose bestehen sollen, noch in ganzer Ausdehnung erhalten, und nur die allmählich abnehmende Doppelbrechung offenbart das langsame Dünnerwerden der Zellmembranen. Es ist also der Lösungsvorgang anders als bei den anderen Schnitten, indem keine stärker lichtbrechende und doppelbrechende Partien der Zellwand sich abheben, wie das für normale Schnitte von Biedermann und Moritz beschrieben wurde und auch an den in der Lauge ausgewaschenen zu sehen ist.

Diesen Unterschied habe ich hauptsächlich bei der Einwirkung des den Winterschnecken entnommenen Magensaftes beobachtet; er wirkt schwächer als der der Sommertiere und ist mit ihm nicht ganz identisch, ja, nach den Angaben von Biedermann und Moritz soll er sogar an Stärke im Sommer gegen den Herbst hin

zunehmen. Durch diesen Umstand lässt sich auch erklären, dass in manchen Fällen das sich zuletzt lösende Innenhäutchen (s. auch Biedermann und Moritz l. c. S. 255) überhaupt nicht verschwand. Es ist sehr leicht zerreisslich; mit Vorsicht lässt es sich aber färben, und zwar am deutlichsten mit Methylviolett, mit Chlorzinkjod dagegen nicht.

Die gleichen Unterschiede in der Lösungsgeschwindigkeit kann man an Kaffeebohnschnitten beobachten, obwohl hier die Differenzen nicht so scharf hervortreten. Auf jeden Fall ist es unzweifelhaft, dass die in Glycerin erwärmten die widerstandsfähigsten sind. Es lag der Gedanke nahe, dass es die Erwärmung sei, die der Cellulose solche Resistenz verleiht, doch wird diese Vermutung durch folgendes Experiment widerlegt. Ein Stück Watte wurde in Schweitzer's Reagens für einige Minuten gelegt, in welchem schon ziemlich viel Watte gelöst war, dann sorgfältig in Wasser, verdünnter Salzsäure und nochmals Wasser ausgewaschen. Ein Teil davon wurde in Glycerin auf 300° erwärmt und in Wasser gebracht und davon einige Fasern zum Vergleich mit der nicht ausgekochten Watte unter dem gleichen Deckglas mit Schneckenmagensaft in Berührung gebracht. Beide wurden ohne merklichen Zeitunterschied gelöst. Auch die in den Rübenschnitten hergestellten Kristalle, die zur vollständigen Lösung der Zellwände auf 300° erwärmt wurden, lösten sich gleichzeitig mit den anderen. Es kann also nicht die Erwärmung sein, die der Cellulose eine grössere Resistenz gegen das Ferment verleiht. Merkwürdig ist auch das Verhalten von *Phytelephas macrocarpa*. Hier sind die gewöhnlichen Schnitte bedeutend widerstandsfähiger als die aus den Dattelnkernen oder Kaffeebohnen hergestellten. Nach der Erwärmung in Glycerin auf 300° dagegen lösen sie sich sehr schnell, so schnell, dass sie vollständig nach etwa zwei Stunden verschwinden, während an den unter demselben Deckglas sich befindenden Dattelnkern- und Kaffeebohnschnitten nur der Beginn des Auflösungsprozesses bemerkbar wird. Schon aus diesem Grunde wird man vermuten, dass wir es hier mit einem anderen Stoff zu tun haben, und tatsächlich hat Gatin¹⁾ nachgewiesen, dass das Endosperm von *Phytelephas macrocarpa* hauptsächlich aus Mannanen besteht. Da aber diese,

1) C. L. Gatin, Recherches anatomiques et chimiques sur la germination des palmiers. Dissertation. Paris 1906.

wenn auch in geringer Quantität, von Dextrosocellulose begleitet sind, so muss man, da sie in dem Falle besonders schnell in Schneckenmagensaft schwindet, daran denken, ob nicht in der Verteilung der Cellulose in der Zellmembran bedeutende Unterschiede zwischen Phoenix und Phytelphas vorliegen. Es müssen einige Worte über die chemische Zusammensetzung der pflanzlichen Zellshäute vorausgeschickt werden.

Bekanntlich setzt sich die pflanzliche Zellmembran aus Cellulose und Hemicellulosen zusammen. Der von Schulze¹⁾ aufgestellte Begriff „Hemicellulosen“ umfasst alle diejenigen Kohlehydrate, welche bei der Hydrolyse Mannose, Galaktose, Xylose, Arabinose usw. liefern; der Name Cellulose (Dextrosocellulose) ist dagegen für dasjenige Polysaccharid reserviert, das bei der Hydrolyse Dextrose liefert. Die Cellulose und Hemicellulosen sind somit als Zuckeranhydride aufzufassen und werden demnach auch Dextrane, Galaktane, Mannane usw. genannt. Die Pektinstoffe, die hauptsächlich in der Mittellamelle lokalisiert sind, sind auch zu Hemicellulosen zu rechnen²⁾.

Als sicheres Unterscheidungsmerkmal der echten Zellulose gegenüber den Hemicellulosen hat man früher ihre Widerstandsfähigkeit gegen das Erhitzen mit verdünnten Mineralsäuren angenommen, die alle Hemicellulosen hydrolysieren sollen. Dass das letztere nicht der Fall ist, hat Schulze³⁾ nachgewiesen, indem er in Kaffeebohnen sowie in Kokos- und Sesamkuchen ein Polysaccharid gefunden hat, das von den verdünnten Säuren ebenso wie die Dextrosocellulose nicht angegriffen wurde. Schulze hat diesen Stoff als Mannosocellulose bezeichnet; Gilson⁴⁾, der ihn rein darstellte, hat ihn Paramannan genannt. Nach Schulze wird das Gilson'sche Paramannan als Anhydrid der Mannosocellulose anzusehen sein, da die qualitative Analyse des Paramannans andere Zahlen, nämlich der Formel $C_{12}H_{22}O_{11}$ entsprechend, liefert, während die von Schulze angegebenen Werte für Mannosocellulose mehr der Formel $C_6H_{10}O_5$ sich nähern.

Auch ein zweites Kohlehydrat, das bei Hydrolyse in Xylose übergeführt wird und in Lupinen- und Erbsensamen gefunden

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 16 S. 406.

2) Biochem. Handlexikon Bd. 2 S. 83. 1911.

3) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 16 S. 428.

4) l. c.

worden ist, wird von verdünnten Mineralsäuren ebenso wie die Dextrosocellulose nicht oder, vorsichtiger ausgedrückt, sehr wenig angegriffen¹⁾).

Über alle diese Fragen findet man anderswo ausführlicher berichtet²⁾. Ich führe nur einige Beispiele an, um zu zeigen, auf welche Schwierigkeiten die Untersuchung der pflanzlichen Membranen stösst: Man hat Substanzen vor sich, deren Klassifikation sehr erschwert ist, da verschiedenartige Übergänge zwischen den einzelnen Gruppen existieren; zweitens kennt man diese Stoffe mit wenigen Ausnahmen nur aus ihren Umwandlungsprodukten. „Diese Schwierigkeiten beruhen unter anderem darin, dass die Hemicellulosen Veränderungen erleiden, wenn man sie zur Trennung von den Cellulosen mittelst Säuren oder Alkalien aus den Zellfasern extrahiert; um über ihre ursprüngliche Beschaffenheit Aufschluss zu erhalten, muss man daher direkt mit den Zellfasern experimentieren; die Deutung der dabei gemachten Beobachtungen ist aber dadurch erschwert, dass die Hemicellulosen in den Zellfasern mit anderen Substanzen gemengt sind“ [Schulze³⁾]. Welcher Art diese Mischung ist, darüber ist man noch nicht im klaren. Als Ausgangspunkt aller diesbezüglichen Hypothesen hat man das Verhalten der anderen Kohlehydrate zur Cellulose genommen. Der auffallende Unterschied im Verhalten der Zellmembranen gegenüber denselben Reagentien, so z. B. gegen Kupferoxydammoniak und Chlorzinkjod, hat solche Erklärungen gefunden: „Einerseits können chemische Umsetzungen, etwa Substitutionen gewisser Gruppen der Cellulosemolekel, innerhalb der Zellmembran eintreten, andererseits könnte auch eine einfache Polymerisation oder eine Änderung im micellaren Aufbau der betreffenden Substanzen erfolgen; schliesslich ist auch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass Inkrustationen fremdartiger Substanzen, die nicht mit den Cellulosemolekeln atomistisch verknüpft sind, die Eigenschaften der Zellmembran verändern könnten“⁴⁾.

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 19 S. 66.

2) Biochem. Handlexikon, Kohlehydrate: — F. Czapek, Biochemie der Pflanzen. Gustav Fischer, Jena 1905. — Biedermann, Physiologie der Stütz- und Skelettsubstanzen in Winterstein's Handbuch der vergl. Physiologie. Gustav Fischer, Jena, im Erscheinen.

3) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 19 S. 46.

4) Zimmermann, Die Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle. Schenk's Handb. d. Botanik Bd. 3 2. Hälfte S. 609. 1887.

Schulze meint, verneinen zu können, dass die Cellulose mit anderen Substanzen zu einem Riesenmolekel verbunden sei. Es sind nach ihm tatsächlich in den Zellwänden viele Substanzen in wechselnder Quantität vorhanden, die sich chemisch trennen lassen. Es fragt sich nun, wie sie in der Zellmembran verteilt sind. Schulze sagt, dass das eher auf dem histologischen Wege entschieden werden kann. Hier aber stösst man auf viele Schwierigkeiten. So hat man keine Möglichkeit, die Substanzen isoliert nach Belieben zu entfernen, z. B. im Kupferoxydammoniak sind die Hemicellulosen auch löslich. Schlimmer ist es noch mit den Färbungsreaktionen. Es gibt keinen Farbstoff, der für irgendwelche von diesen Substanzen einwandfrei elektiv wäre [mit Chlorzinkjod werden auch einige Hemicellulosen gefärbt¹⁾]; dazu kommt, dass ein negativer Ausfall der Färbung keineswegs für die Abwesenheit einer Substanz, die sonst mit demselben Farbstoff stark gefärbt wird, spricht; so ist es vom Chlorzinkjod bekannt, dass es viele Zellmembranen nicht färbt, obwohl sie Cellulose enthalten; man spricht dann von Inkrustationen, die das Eindringen des Farbstoffes zur Cellulose verhindern. Nach Naegeli, der seine Micellarhypothese bis in die Einzelheiten konsequent durchgeführt hat, gibt es zwei Möglichkeiten, nach denen diese Substanzen zusammentreten können: „Entweder bilden die beiden Substanzen Micellen von nicht sehr verschiedener Grösse und Anordnung; dann ist selbverständlich jedes beliebige Verhältnis zwischen den beiden Substanzen denkbar. Oder die regelmässige Form und Anordnung beschränkt sich auf die Micellen der einen Substanz, indem die der anderen unregelmässig in die Interstitien eingelagert sind, etwa wie der Mörtel zwischen die Steine eines Mauerwerkes. Eine dritte Annahme, dass nämlich die Micellen selbst aus Molekülen beider Substanzen zusammengesetzt seien“, schien Naegeli „mit der Kristallnatur der Micellen nicht wohl vereinbar“²⁾. Es muss aber bemerkt werden, dass heutzutage dieser Annahme keine theoretischen Einwände entgegenstehen, nachdem es bekannt geworden ist, dass das Gesetz der getrennten Kristallisation keine ausnahmslose Gültigkeit besitzt, indem man sogar aus nicht isomorphen Stoffen, wie z. B. Salmiak und Eisenchlorid und anderen,

1) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 19 S. 61 und Biochem. Handlexikon Bd. 2 S. 43. 1911.

2) Das Mikroskop S. 425. 1877.

homogene Mischkristalle erhalten kann¹⁾. Dass in den Zellmembranen, die aus sehr nahe chemisch stehenden Körpern zusammengesetzt sind, ähnliche nach van't Hoff's Ausdruck „feste Lösungen“ zustande kommen können, ist gar nicht unmöglich und sogar sehr plausibel. Wenn man aber bei den beiden Möglichkeiten, die Naegeli zugibt, bleiben will, so kann man aus dem Heruntersinken der Interferenzfarben nach dem Erwärmen auf 300° schliessen, dass zum mindesten noch eine andere Substanz ausser der Cellulose in Form von regelmässig angeordneten Micellen vertreten ist. Da wir aber nicht nur mit zwei, sondern mit mehreren Stoffen zu tun haben, so ist wohl denkbar, dass es auch solche gibt, die unregelmässig die Interstitien ausfüllen. Naegeli glaubte für das Verhalten der Reagentien gegenüber die Micellarkonstitution und nicht die Inkrusten verantwortlich machen zu müssen²⁾; für viele Fälle, z. B. die schwache Färbbarkeit der Watte mit Kongorot und die Unlöslichkeit derselben in Schneckenmagensaft, ist das wohl wahrscheinlich. Manches aber lässt sich viel einfacher durch die Annahme inkrustierender Substanzen erklären. Wenn wir nämlich annehmen, dass diese schwer in Kupferoxydammoniak löslichen Stoffe aus den untersuchten Kaffeebohnen-, Dattel- und Phytelephasendospermschnitten sukzessive durch Eau de Javelle und durch Erwärmung auf 300° entfernt werden, so ist es leicht verständlich, warum die letzteren am schnellsten gelöst werden. Auch den Lösungsvorgang kann man sich bis zu einem gewissen Grade klar machen; es kann nämlich die unregelmässige Lösung (Inselbildung usw.) der Zellmembranen, die noch aus vielen Stoffen bestehen, von verschiedenen Diffusionsströmen, die man auch unter dem Mikroskop beobachtet, herrühren; so sieht man z. B. sich stossweise von den Zellwänden abtrennende Partien, während die aus reiner Cellulose bestehenden Membranen gleichmässig abgeschmolzen werden. Dass man sich diese die Cellulose schützenden Substanzen nicht als eine Hülle um grössere Massen von derselben vorzustellen hat, geht daraus hervor, dass sie im letzteren Falle auf Schnitten nicht den Zugang für Reagentien absperren können; man muss also eine sehr feine Mischung annehmen. Dass man sogar experimentell durch Ein-

1) O. Lehmann, Die neue Welt der flüssigen Kristalle S. 127. Akadem. Verlagsgesellschaft, Leipzig 1911.

2) Das Mikroskop S. 519.

lagerung fremder Substanzen in die Interstitien der Zellmembranen die Reaktion derselben bedeutend beeinflussen kann, hat Ambronn¹⁾ in demonstrativer Weise nachgewiesen.

Nicht so einfach liegen die Sachen bei der Einwirkung des Hepatopankreassaftes der Schnecke. Hier sind mehrere Deutungen möglich. Man kann sich vorstellen, dass die angenommenen Inkrusten, die die Einwirkung des Kupferoxydammoniaks verlangsamten, keinen hemmenden Einfluss auf die Verdauung der Schnitte ausüben; ausserdem werden die Hemicellulosen rascher als die Cellulose gelöst, wie ich auf Grund der mikroskopischen Bilder vermutet und wie ich in dem vor kurzem erschienenen Aufsatz von Bierry und Giaja²⁾ durch exakt quantitativ verfolgte Hydrolisierbarkeit dieser Substanzen festgestellt gefunden habe. Es werden also die zwischen den Cellulosemicellen gelegenen Substanzen rasch gelöst und der Wirkung des celluloselösenden Fermentes sofort die Angriffspunkte auf die Cellulose geboten. Warum jedoch nach dem Erwärmen in Glycerin auf 300° die Interstitien nicht ebenso leicht wie früher freien Weg lassen, kann so erklärt werden, dass die Cellulosemicellen nach Entfernung anderer Stoffe näher aneinanderrücken, was dadurch eine Bestätigung finden könnte, dass die Zellwände nach dem Erwärmen etwas dünner werden³⁾.

Für *Phytelephas macrocarpa* würde man annehmen müssen, dass seine Inkrusten im Magensaft der Schnecke sehr schwer löslich sind, dass aber die nach der Erwärmung zurückgebliebenen Cellulose-skelette in solch einer Anordnung vorhanden sind, dass die Interstitien zwischen den Micellen sogar für die vermutlich sehr grossen Moleküle des Fermentes durchgängig sind⁴⁾. Das Gegenteil wäre

1) H. Ambronn, Über die Veränderungen des chemischen und physikalischen Verhaltens der Cellulose durch die Einlagerung von Schwefelzink. Wiesner's Festschr. Wien 1908.

2) l. c.

3) Welche geringe Veränderungen in der Struktur die Einwirkung dieses Schneckenfermentes beeinflussen, geht aus der Beobachtung von Seillière hervor, dass die durch Lauge verdaulich gemachte Watte allein nach dem Austrocknen bedeutend langsamer angegriffen wird. (Sur la digestion de la cellulose. Compt. rend. Soc. Biol. 1910.)

4) Das ist deswegen denkbar, weil das *Phytelephasendosperm* im Vergleich mit dem der Dattel etwa zweimal ärmer an Dextrosocellulose ist (Gatin, l. c.). Die von den Hemicellulosen befreiten Zellmembranen schrumpfen nicht merklicher als bei der Dattel.

bei den Cellulosekristallen, die tatsächlich langsam angegriffen werden, der Fall.

Andererseits aber muss man berücksichtigen, dass man bei der Verdauung von Pflanzenschnitten in Hepatopankreassaft der Schnecke nicht bloss die zu verdauende Substanz im Auge zu behalten hat, da man es doch mit der sonst so dunklen Einwirkung der Fermente zu tun hat. Man kann nämlich nicht sicher sein, ob man in unserem Falle ein oder mehrere Fermente vor sich hat. Für die letztere Meinung sind Bierry und Giaja¹⁾ aufgetreten und meinen, im Verdauungssaft der *Helix pomatia* (und einiger anderen Wirbellosen) eine Galaktanase, verschiedene Mannanasen, eine Dextrosocellulase¹⁾ usw. vor sich zu haben. Dafür würde unter anderem sprechen, dass, wenn ein Katalysator gleichzeitig auf mehrere sich abspielende Reaktionen wirkt, sich die Reaktionsgeschwindigkeiten gar nicht beeinflussen, oder abnehmen²⁾. Hier ist aber das Entgegengesetzte der Fall, da die reine Cellulose viel langsamer gelöst wird als das Gemisch derselben mit anderen Stoffen.

Ob wir aber nicht in ersterem Falle eine Paralisierung des Fermentes vor uns haben, ist auch nicht ausgeschlossen; so werden z. B. die Dattelnkern- und Kaffeebohnsenschnitte, die eine Stunde in 5%iger Schwefelsäure ausgekocht wurden, von Schneckenverdauungssaft nur äusserst langsam angegriffen, obwohl sie tagelang in Wasser ausgewaschen wurden. Hier macht ebenfalls das *Phytelephasendosperm* eine Ausnahme, da es, gleich behandelt, prompt gelöst wird³⁾.

Da die Cellulose in den Zellwänden, die mit keinen Reagentien behandelt wurden, und wo sie daher von vielen Stoffen begleitet

1) Bierry und Giaja haben die Bezeichnung „Dextrocellulase“ gebraucht; es scheint mir richtiger zu sein, „Dextrosocellulase“ zu sagen; am besten vielleicht wird man schlechthin von „Dextranase“ reden, da die Cellulose ein Dextran ist. Andere Polysaccharide, die bei der Hydrolyse auch Dextrose liefern, könnte man, falls sie nicht zur echten Cellulose gehören, Paradextrane und das sie lösende Ferment Paradextranase nennen.

2) C. Oppenheimer, Die Fermente, 3. Aufl., allgem. Teil S. 168. Vogel, Leipzig 1909.

3) Dieses auch hier abweichende Verhalten wird, trotzdem ich es oben in einer anderen Weise zu erklären versucht habe, doch den Verdacht erwecken, ob wir es bei *Phytelephas macrocarpa* nicht mit einer Abart der Cellulose zu tun haben.

wird, so rasch wie in keiner anderen Form gelöst wird, so ist noch diese Deutung zulässig, dass man es hier mit einer gekoppelten Reaktion zu tun hat.

Aus diesen kurzen Bemerkungen sieht man, wie viele Fragen sich bei der Beobachtung der Lösung der Zellmembranen durch den Verdauungssaft der Schnecke aufdrängen, die für die Erforschung der Fermente nicht ohne Interesse sein sollten.

Aber auch für Botaniker können sie eine gewisse Bedeutung haben, indem man durch Verdauungsvorgänge einen gewissen Aufschluss über die Verteilung der verschiedenen Stoffe in den pflanzlichen Zellhäuten gewinnen kann. Schon haben Biedermann und Moritz erwähnt, „dass man sich der Verdauungsmethode geradezu zum Nachweis der Verholzung bedienen kann“ (l. c. S. 226). Es wären mikroskopische Untersuchungen mit den Verdauungssäften von einigen Seekrustaceen (*Maja*, *Homarus*) von Interesse, da dieselben eine sichere Auswahl zwischen den Mannanen von *Phytelephas macrocarpa* und den Mannogalaktanen des griechischen Heus (*Trigonella foenum graecum*) und der Luzerne treffen, indem sie bloss die ersteren angreifen, während der Magensaft des Flusskrebsses ausser den Mannanen von *Phytelephas* auch die beiden Mannogalaktane hydrolisiert, die letzteren aber bloss zum Teil, da hier nur oder hauptsächlich Galaktose gebildet wird¹⁾.

Ich habe die Einwirkung des Verdauungssaftes von *Arion empiricorum* und *Limax cinereo-niger*, die leider dieses Jahr nach dem vorhergegangenen trockenen Sommer sehr spärlich waren, untersucht. Der Saft von *Arion empiricorum* scheint sich ziemlich gleich wie derjenige von *Helix pomatia* der Pflanzenmembranen gegenüber zu verhalten. Nicht aber derjenige von *Limax*. Hier schreitet die Lösung an den Dattelendospermschnitten so vor sich, wie es Biedermann und Moritz bei der Einwirkung des Magensaftes des Flusskrebsses auf dieselben Objekte geschildert haben, d. h. am spätesten verlieren die Mittellamellen ihre starke Lichtbrechung. Allerdings ist bei den in Eau de Javelle vorbehandelten Schnitten der Prozess mehr dem bei der Verdauung im Magensaft von *Helix pomatia* stattfindenden ähnlich. Diesem Unterschiede ist wohl kaum eine grössere Bedeutung zu-

1) H. Bierry et J. Giaja, Digestion des mannanes et des galactanes. Compt. rend. hebdomadaires des séances de l'Acad. des Scienc. t. 148. 1909. — H. Bierry und J. Giaja, Biochemische Zeitschr. Bd. 40 S. 385.

zumessen¹⁾. Was aber interessanter ist: es bleibt in beiden Fällen den Resten der in ihrem Umriss wenig veränderten Zellwände eine schwache Doppelbrechung beibehalten, und nach der Färbung mit Chlorzinkjod stellt sich heraus, dass das, was zurückbleibt, eine starke Cellulosereaktion gibt. Obwohl diese Reste der Zellmembranen doch nicht ganz gegen den Verdauungssaft widerstandsfähig zu sein scheinen, so werden sie bedeutend langsamer gelöst. Wir haben also eine „fraktionierte“ Lösung der Zellmembranen, die wohl auf bedeutenden Differenzen der Lösungsgeschwindigkeit der verschiedenen Substanzen beruht. *Limax cinereo-niger* ist im Gegensatz zu der omnivoren *Helix pomatia* und zu *Arion empiricorum* ein „Spezialist“²⁾ und ernährt sich fast nur von Pilzen, und demzufolge wird die Celluloseverdauung keine Rolle bei ihm spielen. Man könnte vielleicht durch Auffinden solcher „Spezialisten“ in den Verdauungssäften derselben die sehr mangelnden Reagentien für einzelne Bestandteile der Zellmembranen in die Hand bekommen, mit Hilfe welcher einiges Licht in die Fragen über den Bau der Zellhäute hineingebracht werden könnte, wo heute nur die spekulativen Hypothesen in Dunkelheit tasten.

Zum Schluss möchte ich die besprochenen Fragen kurz zusammenfassen:

1. Die beiden Kristallisationsformen der Cellulose, nämlich erstens die in den Pflanzenschnitten (nach Gilson) und zweitens die *in vitro* (nach Gilson und Bütschli) dargestellten Sphärokristalle sind als Aggregate radialer Fasern aufzufassen. Das verschiedene Aussehen (wabige Struktur Bütschli's) der *in vitro* erhaltenen Sphärokristalle kann von der dichteren Stellung der Fasern und von Deformationen beim Austrocknen herrühren. Übergangsformen

1) So hat z. B. Strasburger (Über den Bau und das Wachstum der Zellhäute S. 21) bemerkt, „dass die Quellung und Auflösung der Verdickungsschichten in Schwefelsäure verschieden vor sich geht, je nachdem die Präparate in Glycerin oder in Wasser liegen. Während nämlich in Glycerin die Verdickungsschichten von innen nach aussen angegriffen werden, sieht man umgekehrt in Wasser die äussersten, an die Mittellamellen der primären Wand anstossenden Lamellen zuerst sich lösen, so dass die Verdickungsschichten sich von den Mittellamellen der primären Wand gleichsam abheben“.

2) E. Stahl, Pflanzen und Schnecken. Jenaische Zeitschr. f. Naturwissensch. Bd. 22 S. 575. 1888.

zu den beiden Arten von Sphärokristallen sind in den in kapillaren Glasröhrchen und in Korkzellen dargestellten Aggregaten wahrzunehmen.

2. Die Cellulose in der Form von Sphärokristallen beider Arten ist nicht oder nur äusserst schwach anisotrop, in den Pflanzenmembranen dagegen hat sie stark doppelbrechende Eigenschaften; man muss deshalb annehmen, dass in den pflanzlichen Zellhäuten bei der Anordnung der Cellulosemoleküle zu Micellen und dieser zu Micellverbänden Kräfte mitwirken, welche die vektoriale Orientierung herbeiführen. Es kommen in Betracht:

- a) die molekularen Richtkräfte, welche, indem sie auf ein in statu nascendi sich befindendes Cellulosemolekül einwirken, dasselbe leichter orientieren können;
- b) Spannungen, die vielleicht schon bei der Orientierung einzelner Cellulosemoleküle wirksam sind, deren Einfluss aber hauptsächlich bei der Vereinigung der Micelle zu regelmässigen Micellverbänden anzunehmen ist.

3. Es gibt in den Pflanzenmembranen zu den Hemicellulosen zu rechnende Stoffe, welche die optische Anisotropie der Zellhäute erhöhen.

4. Die kristallisierte Cellulose wird in Hepatopankreassaft von *Helix pomatia* gelöst.

5. Bei der Einwirkung dieses Saftes auf Dattelnuss-, Steinnuss- und Kaffeebohnsenschnitte, welche zur Lösung der Hemicellulosen verschieden vorbehandelt wurden, stellen sich merkwürdige Unterschiede in der Art und Geschwindigkeit des Lösungsvorganges heraus, die teils durch die Veränderung der Struktur der Zellmembranen, teils durch andere Beeinflussung der Fermentreaktion erklärt werden können.

6. Auf Grund der Beobachtungen des Lösungsvorganges in Verdauungssaft von *Helix pomatia* und *Limax cinereo-niger* lässt sich hoffen, dass die cellulose- und hemicelluloselösenden Fermente einiger wirbelloser Tiere auch für die mikrochemischen Untersuchungen der pflanzlichen Zellhäute Verwendung finden können.