Liefern die Malpighischen Gefässe Verdauungssekrete?
(Fermentstudien an Insekten.)

Von

Elisabeth Dirks.

Inhalt.

		Seite
I.	Theorien über die Funktion der Malpighischen Gefäße	161
II.	Versuchstiere	167
III.	Versuchstechnik	168
IV.	Vorversuche	171
V.	Kohlehydratspaltende Fermente	173
	1. Amylase	173
	2. Maltase	192
	3. Saccharase	194
	4. Laktase	198
	5. Glykosidase (Arbutinase)	200
	6. Zellulase	202
VI.	Eiweißspaltende Fermente	202
VII.	Fettspaltende Fermente	207
VIII.	Einfluß des Extraktes der Malpighischen Gefäße auf die Darmfermente	211
IX.	Zusammenfassung	212
	Literaturverzeichnis	217

I. Die Theorien über die Funktion der Malpighischen Gefäße.

Über die Funktion der Malpighischen Gefäße ist seit ihrer Entdeckung durch Malpighi 1669 (60) viel hin und her gestritten worden. Der Entdecker selbst und etwa 100 Jahre später Swammerdam 1752 (90) äußerten nur Vermutungen über die Funktion ohne jede tatsächliche Grundlage. Spätere Forscher gründeten ihre Ansichten auf Untersuchungen, die auf wissenschaftliche Berechtigung Anspruch haben. Im wesentlichen handelt es sich um sechs Theorien, die über die Funktion der Malpighischen Gefäße aufgestellt worden sind.

1. Resorptionstheorie.

Die Resorptionstheorie sieht in den Malpighischen Gefäßen Organe, deren Aufgabe es ist, die im Darmkanal abgebaute Nahrung zu resorbieren. Zu dieser Ansicht bekennen sich z. B. Swammerdam (90), Lyonet 1762 (59) und Gaede 1819 (38).

2. Resorptions- und Exkretionstheorie.

Die zweite Theorie, die Malpighi (60) selbst vertrat, schreibt den Gefäßen neben der Fähigkeit zu resorbieren auch exkretorische Eigenschaften zu.

Daß den Malpighischen Gefäßen eine exkretorische Funktion zukommt, ist verschiedentlich nachgewiesen worden und wird heute wohl von keiner Seite mehr bezweifelt. Heckel 1875 (43) fütterte Insekten (*Blatta orientalis, Cerambyx heros, Mantis religiosa*) vierzig Tage mit Arsen und fand dann bei der chemischen Untersuchung das im Organismus angehäufte Gift ausschließlich in den Malpighischen Gefäßen. Die Fähigkeit, Farbstoffe zur Ausscheidung zu bringen, spricht ebenfalls für eine exkretorische Bedeutung der Malpighischen Gefäße. Schindler 1877 (82) stellte nach Injektion von indigoschwefelsaurem Natron in die Leibeshöhle einer *Gryllotalpa* Blaufärbung fest, und zwar zuerst des äußeren Drüsenepithels der Malpighischen Gefäße, dann der Zellkerne und schließlich des nahe dem Zentralkanal gelegenen Protoplasmas. Kowalewski 1889—90 (52), der gleiche Versuche an zahlreichen Insekten (*Culex-* und *Ephemera-*Larven, *Chironomus, Corethra,* Schmetterlingsraupen, verschiedenen Orthopteren, wie *Blatta, Acridium, Gryllotalpa* u. a.) machte, konnte den Vorgang noch einen Schritt weiter beobachten. Er sah, wie das indigoschwefelsaure Natron in Form von Kristallen in das Lumen der Schläuche übertrat. Eine Färbung der Zellkerne konnte er dagegen niemals nachweisen. Ähnliche Versuche unternahmen Kowalewski (52) und Cuénot 1896 (27) mit Indigokarmin. Untersuchungen von Balbiani 1886 (7), Grandis 1891 (40) und Metalnikoff 1909 (66) verliefen in derselben Weise.

Auch der chemische Nachweis von Exkreten ist von vielen Forschern erbracht worden, z. B. von Rengger 1817 (78), Wurzer 1818 (99), Chévreul 1828 (25), v. Siebold 1848 (85), E. Grube 1849 (41), van der Hoeven 1850 (47), Leuckart 1843 (54), Vogt 1851 (96), Leop. Fischer 1853 (36), Carus 1853 (23), Schloßberger 1857 (83), Sirodot 1858 (87), Kölliker 1857 (51), Plateau 1875 (72), Schindler 1877 (82), Mac Munn 1886 (69), Rywosch 1893 (81), Mayet 1886 (62), Bordas 1907 (16), 1895 (18), 1897 (17), 1911 (19), 1912 (20) und Veneziani 1903 (94), 1904 (95). Eine gute Zusammenstellung der in den Malpighischen Gefäßen mit Sicherheit nachgewiesenen und vielleicht vorhandenen Exkretstoffe findet sich bei Plateau 1874 (71). Die letzten Jahrzehnte haben die Forschungen Plateaus im wesentlichen nur bestätigt, ohne neues zu bringen. Unter den nachgewiesenen Exkreten befindet sich die Harnsäure, das charakteristische Stoffwechselendprodukt des Insektenorganismus. Sie kommt frei und in Gestalt von Uraten (harnsaurem Natrium, Kalium, Ammonium und Calcium) vor und wurde in den meisten Fällen durch die Murexidprobe und durch die Lösungsverhältnisse identifiziert. Schindler (82) führt auch die Reduktion von salpetersaurem Silberoxyd (1,5 %ig) durch den Extrakt der Malpighischen Gefäße als Nachweis der harnsauren Salze an.

Bekanntlich enthalten die Exkremente der Insekten große Mengen Harnsäure. (Chaussier 1783 (24), Robiquet 1810 (79), Brugnatelli 1846 (21), J. F. Heller 1844 (44), Davy 1846 (29), Bernard 1853 (10), Hornung und Bley 1855 (48), Cornalia 1856 (26), Basch 1858 (8), Séguin 1859 (84), Krukenberg 1880 (53).) Es ist anzunehmen, daß es sich bei dieser Harnsäure größtenteils um ein Exkret der Malpighischen Gefäße handelt, wenn man Schindler auch nicht ganz zustimmen kann, nach dessen Meinung die Harnsäure, die sich in den Exkrementen der Insekten findet, in toto aus den Malpighischen Gefäßen stammt, denn neben mehr oder weniger berechtigten Vermutungen hat Marchal 1890 (61) den sicheren Beweis erbracht, daß auch dem Arthropodendarme an sich, und zwar dem Mitteldarme, zum mindesten unter gewissen Verhältnissen eine exkretorische Funktion zukommt. So schreibt z. B. Ehrenberg 1921 (35), der weitere Literatur über diese Frage bringt, dem Mitteldarme während der Metamorphose in vielen Fällen Exkretionsfähigkeit zu.

3. Exkretions- und Sekretionstheorie.

Eine dritte Gruppe von Forschern scheidet eine resorptive Bedeutung der Malpighischen Gefäße aus, vertritt dagegen die Meinung, daß den Malpighischen Gefäßen neben der exkretorischen auch eine sekretorische Funktion zukomme. Diese Ansicht vertreten Straus-Dürkheim 1828 (88), Burmeister 1832 (22), Audouin 1835 (6), J. F. Meckel 1826 (64), 1829 (65), Doyère 1843 (31), Duvernoy 1837—40 (34) und Leydig 1857 (55).

Aus neuerer Zeit sind zu nennen: B. Th. Lowne 1890—92 (57), Möbuß 1897 (68), Karawalew 1899 (49), Abonyin 1904 (5) und Biedermann 1919 (14).

B. Th. Lowne (57) fand in Hunderten von Schnitten durch die Malpighischen Gefäße niemals irgendwelche Kristalle außer künstlich erzeugten, die er durch unvollkommene Präparation auch im Blut, im Fettkörper und im Darmkanal hervorrufen konnte. Nach Ansicht dieses Forschers würde aber auch die Anwesenheit von Harnsäure in den Malpighischen Gefäßen kein Beweis für die Nierenfunktion dieser Organe sein, da die Leberorgane von Säugetieren große Mengen Harnstoff und die der Vögel Harnsäure enthalten. Einen einwandfreien Nachweis der Gallensäure in den Malpighischen Gefäßen konnte Lowne nicht erbringen. Doch spricht nach seiner Meinung der positive Ausfall der Pettenkoferschen Reaktion für die Anwesenheit von Gallensäure. Er muß freilich zugeben, daß die Reaktion auch in Gegenwart anderer organischer Substanzen, wie Blut und Fettkörper, eintritt, wenn auch niemals so schön wie mit den Malpighischen Gefäßen, in denen B. Thompson Lowne ein ausgezeichnetes Emulgierungsmittel erkennt.

Es soll hier noch auf eine Bemerkung Biedermanns (14) hingewiesen werden: Aus der Anwesenheit dunkelbrauner Pigmentkörnchen in den Zellen der Malpighischen Gefäße und des Kropfes

von Heuschrecken schließt er auf die sekretorische Funktion der Kropfzellen, die nach seiner Ansicht für die Malpighischen Gefäße nicht zu bezweifeln ist.

4. Exkretionstheorie.

Die vierte Ansicht über die Funktion der Malpighischen Gefäße schließt Resorption wie Sekretion aus und hält die Schläuche ausschließlich für Exkretionsorgane. Diese Theorie wird vertreten von Herold 1815 (45), Rengger 1817 (78), Wurzer 1818 (99), Chévreul 1828 (25), Leuckart 1843 (54), H. Meckel 1846 (63), Van der Hoeven 1850 (47), C. Vogt 1851 (96), Leop. Fischer 1853 (36), J. Carus 1853 (23), v. Siebold 1848 (85), Kölliker 1857 (51), Schloßberger 1857 (83), Sirodot 1858 (87), Basch 1858 (8), Plateau 1876 (73), 1876 (74), Schindler 1877 (82), Jousset de Bellesme 1876 (9), Cuénot 1896 (27), v. Fürth 1903 (37) und Ehrenberg 1921 (35). Uns interessiert hier vor allem eine der neueren Arbeiten, die von Jousset de Bellesme (9), der den Extrakt der einzelnen Darmteile und der Darmanhänge auf verschiedene Substrate, Kohlehydrate, Fette und Eiweißkörper, einwirken ließ. In keinem Falle trat bei seinen Untersuchungen unter dem Einfluß des Extrakts der Malpighischen Gefäße eine Spaltung der genannten Stoffe ein. So kam J. d. Bellesme auf Grund dieser negativen Versuchsergebnisse zu demselben Schlusse wie Plateau (73, 74) und Schindler (82) durch die positiven bei dem Versuche, Exkretstoffe nachzuweisen:

„Die Malpighischen Gefäße sind ausschließlich Harnorgane.“ (82) Die Exkretionstheorie hat seit diesen drei Forschern, Plateau, Schindler, Jousset de Bellesme, die meisten Anhänger.

5. Sekretionstheorie.

Die Sekretionstheorie erklärt die Malpighischen Gefäße für ausschließlich der Sekretion von Verdauungssäften dienende Organe. Ihre Vertreter sind z. B. Cuvier 1802 (28), Posselt 1804 (75), Ramdohr 1811 (77), Treviranus 1814 (91/92), Dutrochelt 1818 (33), L. Dufour 1843 (32), Suckow 1829 (89), Karsten 1848 (50), Simroth 1878 (86). In der modernen Wissenschaft gilt diese Theorie als überwunden.

6. v. Gorka'sche Theorie.

Es gibt eine Reihe von Autoren, denen die bisher genannten Theorien zu einseitig erscheinen, und die den Malpighischen Gefäßen eine viel mannigfaltigere Funktion zuschreiben. Unter ihnen ist vor allem Alexander v. Gorka zu nennen. Da seine Arbeit 1914 (39) den Ausgangspunkt für unsere Untersuchungen bildet, soll hier näher darauf eingegangen werden.

Gorka untersucht zuerst die Anatomie des Darmes und der Malpighischen Gefäße von Gnaptor und Necrophorus, mit denen er seine Versuche angestellt hat, und versucht dann experimentell die Beweise

für die verschiedenen Funktionen, die er den Malpighischen Schläuchen zuschreibt, zu erbringen. Nach seinen Untersuchungsresultaten spielen die genannten Organe im Stoffwechsel der Käfer eine außerordentlich vielseitige Rolle: Sie sind: a) Resorptionsorgane, b) Speicherungsorgane, c) Exkretionsorgane und d) Sekretionsorgane.

ad a) An der Resorption der Nahrung sind die Malpighischen Gefäße von Gnaptor nach Gorkas Ansicht in der Weise beteiligt, daß die im vorderen Teile des Enddarmes resorbierte, zwischen Epithel und Muskelschicht nach hinten wandernde und sich in der Wand des Rektums ansammelnde Nahrung durch Vermittelung des rektalen Netzwerks der Malpighischen Gefäße in die Leibeshöhle gelangt.

ad b) Von Kalkablagerungen in den Malpighischen Gefäßen schließt Gorka darauf, daß die Schläuche der Speicherung von Stoffen dienen (vgl. Heckels Fütterungsversuche mit Arsen (43) und Mayets Feststellung von Kalciumkarbonat in den Malpighischen Gefäßen (62).)

ad c) Die am stärksten in den Vordergrund tretende Aufgabe ist auch nach Gorka die der Exkretion. Eine Nachprüfung der in den Malpighischen Gefäßen vorkommenden Exkretstoffe hatte im wesentlichen dasselbe Resultat wie die diesbezüglichen Forschungen aus älterer Zeit. Die Exkrete werden nach Gorkas Überzeugung unmittelbar in den Enddarm ausgeschieden, wofür er die Unabhängigkeit der Peristaltik dieses Darmabschnittes von der des Mitteldarmes als Grund anführt.

ad d) Nun sind aber die Malpighischen Gefäße nicht das einzige Exkretionsorgan der Insekten, sondern Fettkörper, Önocyten und Mitteldarm nehmen auch an der Ausscheidung von Harnsäure teil. Dafür kann aber, so schließt Gorka, die Exkretion nicht allein die Aufgabe der Malpighischen Gefäße sein. Zu der exkretorischen und den oben erwähnten verhältnismäßig unbedeutenden Funktionen muß noch eine wichtige hinzukommen. Darauf deuten auch schon die zwei Teile der Malpighischen Gefäße, die man auf Grund der histologischen und anatomischen Struktur, ferner durch ihr Verhalten injizierten Farbstoffen gegenüber unterscheiden kann. Der eine Teil umfaßt den frei in der Leibeshöhle suspendierten Abschnitt und dient der Exkretion. Der andere Teil besteht aus dem Netzwerk an der Wand des Rektums und ist nach Gorkas Untersuchungen nicht an der Exkretion beteiligt. Wenn es sich bei der Funktion dieses zweiten Abschnittes um Sekretion von Verdauungsstoffen handelt, so muß die Möglichkeit gegeben sein, daß der Inhalt der Gefäße in den Mitteldarm eintreten kann, um bei dem Abbau der Nahrung mitzuwirken. Dafür führt Gorka an:

1. Die anatomischen und morphologischen Verhältnisse von Mitteldarm und Malpighischen Gefäßen,
2. die Reaktionsverhältnisse von Darm und Malpighischen Gefäßen und
3. die Peristaltik des Mitteldarmes und die Funktion der peritrophischen Membran.

ad 1. Die Einmündung der Malpighischen Gefäße erfolgte bei allen untersuchten Käfern in den Mittel- und nicht in den Enddarm. Bei Gnaptor stellte Gorka hinter der Insertionsstelle noch typische Mitteldarmepithelzellen fest. Der große Sphinkter (Valvula pylorica und Pylorus), der den Mitteldarm anatomisch und physiologisch vom Enddarm trennt, liegt hinter der Einmündung der Gefäße

ad 2. Beim normalen Käfer reagiert der Mitteldarm in seinem vorderen Teile sauer, im hinteren dagegen entsprechend dem Sekret der Malpighischen Gefäße alkalisch. Durchschneidet man die Malpighischen Gefäße, sodaß ihr Sekret nicht in den Darm gelangen kann, so ist die Reaktion auch im hinteren Teile des Mitteldarmes sauer.

ad 3. Die peritrophische Membran schließt die Nahrungsmassen ein und leitet sie mit Hilfe der Mitteldarmperistaltik langsam dem Enddarm zu. Zugleich ermöglicht sie ebenfalls mittels der peristaltischen Bewegung des Darmes ein Hin- und Herströmen der Flüssigkeit zwischen peritrophischer Membran und Mitteldarmepithel, also eine Vermischung des Mitteldarmsaftes mit dem Sekret der Malpighischen Gefäße, das dadurch zugleich in den vorderen Teil des Mitteldarmes gelangt. Durch die Vermischung entstehende Differenzen des osmotischen Druckes zwischen dem Inhalt der peritrophischen Membran und der Flüssigkeit, die sich zwischen dieser und der Darmwand befindet, erlauben sowohl den Austritt der resorptionsfähigen Stoffe aus dem Innern der Membran wie auch den Eintritt der Verdauungsflüssigkeit in den Innenraum.

Dafür, daß ein Einfluß des Sekretes der Malpighischen Gefäße auf den Verdauungsvorgang im Mitteldarm nicht nur möglich ist, sondern tatsächlich besteht, bringt Gorka zwei Beweise: 1. einen morphologischen und 2. einen physiologischen Beweis.

ad 1. Durch Vergleich von Schnitten aus dem Mitteldarm normaler Gnaptoren und solcher mit durchschnittenen Malpighischen Gefäßen kommt Gorka auf den Gedanken, daß das Sekret der Schläuche anreizend und regulierend auf die sekretorische Funktion der Mitteldarmepithelzellen wirken muß.

ad 2. Eine Bestätigung seiner Annahme glaubt Gorka auch in den Ergebnissen seiner physiologischen Untersuchungen zu erkennen, die besagen, daß ein wässeriger Auszug der Malpighischen Gefäße auf die im wässerigen Extrakt des Mitteldarmes anwesenden Verdauungsenzyme nicht hemmend, sondern fördernd einwirkt.

Nach diesen Feststellungen untersuchte Gorka den Gehalt der Malpighischen Gefäße selbst an Fermenten und fand, daß ein wässeriger Auszug der Malpighischen Gefäße auf Eiweißstoffe, namentlich Eiweißstoffe des Blutserums und Kasein, ohne Einfluß ist, daß er dagegen Fette, Stärke, Glykogen, Rohrzucker, Glukoside (Arbutin, Amygdalin, Phloridzin) spaltet, während er unter den Kohlehydraten Inulin und Laktose gegenüber wirkungslos ist.

Die Malpighischen Gefäße von Gnaptor enthalten also nach Gorka 1. Lipase, 2. Diastase (Amylase), Invertin, ein Glukoside spaltendes

Enzym, dazu fand er 3. Peroxydase, Tyrosinase, Katalase und Aldehydase, die Salizylaldehyd zu Salizylsäure oxydiert.

Es fehlen die proteolytischen Enzyme, sowie Inulase und Laktase. Ein Enzym, das aus dem aus Polysacchariden entstandenen Traubenzucker Aethylalkohol bildet, konnte auch nicht nachgewiesen werden.

Die kräftigste Wirkung sollen nach Gorkas Versuchen die kohlehydratspaltenden Fermente der Malpighischen Gefäße haben.

Der Vollständigkeit wegen berichten wir an dieser Stelle noch kurz über einige Spezialfunktionen der Malpighischen Gefäße, die nachgewiesen wurden.

Nach M. V. Mayets 1896 (62) Angabe stellte Fabre durch Analyse fest, daß der Deckel, der die Puppenwiege der Cerambyciden von innen schließt, aus Kalciumkarbonat besteht. Mayet selbst fand bei mehreren Cerambyciden am Ende des Larvenstadiums große Mengen desselben Salzes in vier von den sechs Malpighischen Gefäßen dieser Insekten. Wenn die Puppenzeit beginnt, sollen die Larven durch den Mund die seiner Meinung nach aus den Malpighischen Gefäßen stammende kalkhaltige Flüssigkeit von sich geben, um ihre Puppenwiege damit zu verschließen.

Nach Ansicht von Lozinski 1911 (58) werden die Malpighischen Gefäße der Myrmeleoniden-Larven, wenn die Zeit des Einspinnens kommt, sogar zu Spinndrüsen umgewandelt.

Es erübrigt sich, auf alle oben erwähnten Forschungsergebnisse weiter einzugehen, da über die älteren Untersuchungen Schindler (82) einen guten geschichtlichen Überblick gibt, und da die neueren Resultate sich größtenteils bei Gorka (39) referiert finden.

Ebenso unangebracht wäre die Angabe der gesamten umfangreichen Literatur, die sich mit der Resorptionsfähigkeit, der Histologie, Morphologie, Insertion usw. der Malpighischen Gefäße beschäftigt. Es sei statt dessen verwiesen auf die beiden genannten Forscher und die Lehr- und Handbücher der Physiologie, von denen wir hier nur O. v. Fürth 1903 (37) und Winterstein 1921 (35) und 1911 (12) nennen.

II. Versuchstiere.

Die vorliegende Arbeit bietet eine physiologische Untersuchung, wie sie Gorka anregt, und zwar haben wir uns darauf beschränkt, den Teil der Gorka'schen Ergebnisse an Vertretern anderer Insektenordnungen nachzuprüfen, der von der Verdauung handelt, d. h. die Frage zu klären, ob die Malpighischen Gefäße Fermente enthalten.

Als Versuchstiere dienten uns: 1. ein Vertreter der Orthopteren, *Blatta* L. (= *Periplaneta* Burm.) *orientalis* L., 2. verschiedene Lepidopterenraupen, *Phalera bucephala* L., *Lymantria dispar* L., *Macrothylacia* (*Bombyx*) *rubi* L. und *Cerura* (*Harpyia*, *Dicranura*) *vinula* L.

Diese Insekten waren leicht zu beschaffen, in Gefangenschaft zu halten und zu züchten. Schaben und Raupen eigneten sich ferner deshalb für unsere Zwecke, weil es verhältnismäßig große Insekten sind, die eine entsprechende Menge Extrakt liefern. Unsere Versuchs-

tiere waren außerdem fähig, ein mehrtägiges Hungern ungeschädigt auszuhalten, eine Eigenschaft, deren Wert unsere Vorversuche erkennen lassen. Dazu kommt, daß Bau und Lage ihrer Verdauungsorgane die Herstellung solcher Versuchsflüssigkeiten ermöglichten, die wir zur Lösung unserer Frage nötig hatten.

Die Schaben bezogen wir aus Bäckereien und hielten sie in Gefäßen, wie sie Joh. Wille (97) für *Phyllodromia germanica* als geeignet gefunden hat. Auf den Boden eines Aquariums kam eine ungefähr 5 cm dicke Schicht Sägemehl, die zur Hälfte feucht gehalten wurde, darüber eine 10—15 cm hohe Lage Holzwolle, die den Schaben als Schlupfwinkel diente. Das durch ein Drahträhmchen verschlossene Gefäß wurde den Lebensgewohnheiten der Tiere entsprechend an einem dunkeln und warmen Orte aufgestellt. Die Nahrung bestand in gekochten Kartoffeln, eingeweichtem Brot, Zucker, Mehl und Stärke.

Von den Raupen eigneten sich die *Macrothylaciae* am besten. Sie wurden von August bis September in großer Zahl eingesammelt und in einer verschlossenen, mit einem Drahtfenster versehenen Kiste aufbewahrt, Heidekraut, das mit Sand und Wurzeln aus der Erde genommen und öfter erneuert wurde, diente ihnen zugleich als Unterschlupf und Nahrung. *Macrothylacia rubi* überwintert als Raupe und verpuppt sich im März. Wir konnten also den ganzen Herbst und Winter hindurch die Raupen zu unseren Versuchen benutzen, ohne Veränderungen im Organismus infolge einer bevorstehenden Verpuppung befürchten zu müssen.

III. Versuchstechnik.

Die Anatomie und Histologie des Insektendarmes mit seinen Anhängen, besonders des Schabendarmes, ist von vielen Forschern studiert worden, auf deren Werke verwiesen wird. Die Literaturangaben finden sich in Wintersteins (12) und Schröders (30) Handbüchern. Wir wenden uns daher gleich der Beschreibung der Versuchstechnik zu.

Gorkas Angaben über seine Technik sind nur sehr spärlich, obwohl unserer Meinung nach gerade zur Lösung der Frage nach der Funktion der Malpighischen Gefäße nicht genug Gewicht gelegt werden kann auf die Präparationstechnik und die Methoden zur Herstellung der Versuchsflüssigkeiten.

Zunächst wurden Scheren, Pinzetten, Nadeln usw. vor der Präparation eines jeden Tieres ausgeglüht. Glasgefäße, Reagenzgläser, Glasstäbe, Pipetten usw. wurden vor dem Gebrauche gründlich gebürstet, dann mit heißer, konzentrierter Schwefelsäure und Kaliumbichromat übergossen, nach $^1/_4$ Stunde auf mindestens $^1/_2$ Stunde in fließendes Wasser gebracht, dann mindestens 24 Stunden in Leitungswasser stehen gelassen und darauf mit Leitungs- und destilliertem Wasser gespült und geschüttelt. Die Präparierbecken wurden vor der Benutzung gebürstet und gespült.

Es handelte sich sodann darum, erstens möglichst frische und zweitens möglichst reine, d. h. von andern Organen und Geweben gesonderte Versuchsflüssigkeiten herzustellen.

Das erste erreichten wir, indem wir die Tiere einzeln töteten und sofort nach dem Tode präparierten. Wie sich in einem Versuche zeigte, werden die Versuchsergebnisse unsicher, wenn man die Insekten erst längere Zeit nach dem Töten ($1^1/_2$ Sd.) verarbeitet. Gorka erwähnt nichts hierüber, obwohl er zu seinen Versuchen oft Tiere gebraucht hat, zu deren Präparation nach unseren Erfahrungen ungefähr eine Stunde nötig ist.

Da die Zentralkanälchen der Malpighischen Gefäße nach dem Darm zu geöffnet sind, besteht die Möglichkeit, daß Nahrungsteilchen oder Darmsaft vom Darme her in das Innere der Gefäße gelangen. Ein Einwandern von Nahrungspartikeln ist bei dem geringen Volumen der Schläuche wohl kaum anzunehmen. Es könnte sich höchstens um gelöste Nahrung handeln, wenn man in den Malpighischen Gefäßen Resorptionsorgane sehen will. Denkbar wäre auch ein Eintreten von Darmsekreten in die Gefäße, was bei Hungertieren der Fall sein könnte. Darüber fehlen uns eigene Beobachtungen.

Eine größere Fehlerquelle können bei den Versuchen Verunreinigungen bilden, die von außen an die Malpighischen Gefäße kommen. Leicht kann bei der Präparation Darmsaft an die Malpighischen Gefäße gelangen, ebenso das Sekret von Speichel- und Spinndrüsen, die sich lang durch den Körper hinziehen und beim Präparieren verletzt werden können. Auch Teilchen vom Fettkörper, in den die Gefäße eingebettet sind, können unschwer dem Extrakt der Malpighischen Gefäße beigemengt werden. Dazu kommt noch der Einfluß der Lymphe, die die Organe umspült.

Gorka scheint durch derartige Beimischungen auch eine Störung der Resultate gefürchtet zu haben. Er schreibt selbst nichts darüber. Aber wozu hätte er die Malpighischen Gefäße sonst mit destilliertem Wasser abgespült, ehe er sie zum Versuche gebrauchte? Unserer Meinung nach erreicht man aber durch solche Maßnahmen die Beseitigung von Fremdstoffen nicht. Die Beeinflussung von innen her ist überhaupt nicht auszuschalten, jedenfalls nicht durch ein zwei- bis dreimaliges Spülen mit sterilisiertem Wasser. Wir haben deshalb auf ein Spülen der Malpighischen Gefäße mit destilliertem Wasser verzichtet, zumal da wir beobachteten, daß der Inhalt der Gefäße augenblicklich ausfließt, sobald sie geöffnet sind, was beim Abpräparieren doch nicht zu vermeiden ist. Man sieht das sowohl unter dem Mikroskop wie auch rein makroskopisch, da das Wasser, in das man die Malpighischen Gefäße legt, auf der Stelle dem Inhalte der Schläuche entsprechend eine grünlich gelbe Farbe annimmt. Statt dessen legten wir zunächst Wert auf eine möglichst sorgfältige Präparation. Dabei kam es einmal darauf an, keinen Darmsaft von außen her in den Extrakt der Malpighischen Gefäße gelangen zu lassen. Wir benutzten niemals Tiere, die beim Tode durch Mund oder After Darmsaft von sich gegeben hatten, dessen intensiv wirkende Fermente

durch ein einfaches Abspülen der ganzen Tiere nicht beseitigt worden wären. Es erwies sich in dieser Beziehung als praktisch, die Schaben in Chloroformdämpfen, die Raupen in mit Äther getränkten Lappen zu töten. Eine Verunreinigung der Malpighischen Gefäße durch Darmsaft von außen her konnte auch durch Verletzung des Darmes bei der Präparation hervorgerufen werden. Die Trockenpräparation hätte diese Fehlerquelle vielleicht umgangen, da dabei die Organflüssigkeiten nicht so leicht gemischt und transportiert werden wie unter der Mitwirkung von Wasser. Wir bedienten uns indessen der Präparation unter Wasser, weil schwimmende Organe nicht so leicht verletzt werden wie fest aufeinander gelagerte, und weil, wenn trotzdem eine Verletzung eintritt, diese der Beobachtung unter Wasser viel schwerer entgeht, da austretende Luftblasen und Sekrettröpfchen die angeschnittene Stelle verraten. Tiere, deren Darm bei der Präparation beschädigt wurde, wurden selbstverständlich nicht zum Versuche gebraucht. Ebenso vermieden wir ein Zerreißen oder Anschneiden der Spinndrüsen. Die mit den Malpighischen Gefäßen verwachsenen Fettkörperteile wurden vorsichtig entfernt. Wir benutzten bei der Präparation für jedes Organ oder Gewebe eine besondere Pinzette, um Beimengungen anderer Extrakte zu verhindern.

Da man aber bei einer noch so sauberen Präparation niemals ganz sicher sein kann, sämtliche fremden Einflüsse ausgeschaltet zu haben, so unterzogen wir alles, was an Organen, Geweben oder Flüssigkeiten irgendwie mit den Malpighischen Gefäßen in Berührung kommt, einer Untersuchung auf den Gehalt an Fermenten. Wir untersuchten also außer den Malpighischen Gefäßen den Darm, die Speichel- bezw. Spinndrüsen, den Fettkörper und die Lymphe.

Bei der Herstellung der Versuchsflüssigkeiten verfuhren wir folgendermaßen:

Die Schaben wurden von der Bauchseite her aufgeschnitten, mit Nadeln in ein Präparierbecken gesteckt und mit Wasser bedeckt. Dann wurde zuerst der Fettkörper vorsichtig weggeräumt, dann die Malpighischen Gefäße mit einem Pinzettengriff abgerissen, dann der Mitteldarm ebenfalls mit einem Griff herausgenommen; er löst sich von selbst von beiden Enden. Es folgte der Enddarm. Durch Abreißen des Kopfes gewannen wir zuletzt Kropf und Speicheldrüsen.

Die Raupen öffneten wir vom Rücken her. Wir schnitten zuerst am Hinterende ein kleines Loch in die Haut und sammelten die hervorquellende Lymphe. Sodann steckten wir die aufgeschnittenen Tiere ebenfalls unter Wasser auf und präparierten nacheinander Malpighische Gefäße, Fettkörper, Spinndrüsen und Darm heraus.

Von den Raupen genügte ein Tier zu einem Versuche, von den Schaben dagegen benutzten wir fünf Exemplare, um einigermaßen ausreichende Extraktmengen zu erhalten. Wir fügten zu den Malpighischen Gefäßen, Darm usw. von je einer Raupe je 0,5 ccm aq. dest., zu den entsprechenden Organen von je fünf Schaben je 1 ccm.

Von einem Verreiben mit Quarzpulver oder Glas, wie es Gorka vornahm, wurde abgesehen, um die an sich kleinen Fermentmengen

durch Adsorption von seiten des Glases nicht noch mehr zu verringern. Auch das Filtrieren unterließen wir in der Regel, um nicht zuviel von den Versuchsflüssigkeiten zu verlieren.

Um Bakterienwirkung auszuschalten, wurden alle Glassachen vor dem Gebrauche ein bis zwei Stunden in einen Dampfkochtopf gebracht. Das oben schon erwähnte Ausglühen der Pinzetten, Scheren usw. zu Reinigungszwecken diente zugleich als Sterilisation. Den Extrakten wurde sodann soviel Toluol zugesetzt, daß die Oberfläche der Flüssigkeiten gegen die Luft abgeschlossen war.

Die so zubereiteten Versuchsflüssigkeiten wurden in durch Korke verschlossenen Gläsern bei möglichst kühler Temperatur zum Zwecke des Extrahierens einige Stunden stehen gelassen, ehe das Substrat zugesetzt wurde.

IV. Vorversuche.

Ehe wir mit der Besprechung unserer Versuche beginnen, müssen wir noch über zwei Vorversuche berichten, deren Ergebnisse wir für die eigentlichen Untersuchungen nutzbar machten.

1. Es wurden zwei Raupen von der Art *Phalera bucephala* L., die zwei Tage gehungert hatten, präpariert, von der einen Raupe nur der Darmsaft, von der anderen Darmwand und Darmsaft genommen und zu beiden Extrakten 0,2 ccm einer einprozentigen Lösung von löslicher Stärke hinzugefügt. Bei einer Kontrolle nach $2^1/_2$ Std. stellten wir durch Jodprobe (mit Hilfe der von Biedermann (11) und Lowartz (56) benutzten Plattenmethode) fest, daß beide Versuchsflüssigkeiten die Stärke vollständig abgebaut hatten. Die Kontrolle (0,5 ccm aq. dest. + 0,2 ccm einprozentige Lösung von löslicher Stärke) färbte sich mit Jod blau. Dasselbe Ergebnis hatte ein entsprechender Versuch, bei dem wir statt der löslichen Stärke Amylose (Bütschli) zusetzten. Als wir nach $^1/_2$ Std. mit Jod prüften, waren beide Flüssigkeiten achromisch, die Kontrolle blau.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß der Darmsaft allein eine ebenso starke Fermentwirkung ausübt wie ein Extrakt der Darmwandung mit dem Darmsaft. Diese Tatsache stimmt mit Biedermanns Feststellung an *Tenebrio molitor* (11) überein, wonach die Enzyme erst aus den zu Beginn der Verdauung abgestoßenen Epithelzellen frei werden und sich dem Inhalte des Darmes beimischen. Wir benutzten daher, um die Tiere möglichst auszuwerten, außer der Darmwand, die Gorka sorgfältig mit destilliertem Wasser abspült — wahrscheinlich, um sie nahrungsfrei zu erhalten er; macht selbst keine Angabe darüber; — auch den Darmsaft von Hungertieren (s. u.), ja in einigen Fällen, wenn es praktisch erschien, sogar den Darmsaft allein, zu unsern Versuchen.

2. a) Wir fütterten fünf Schaben zwei Tage lang reichlich mit löslicher Stärke und präparierten sie in der angegebenen Weise. Die Därme waren bei der Präparation prall gefüllt mit einem grauweißen Nahrungsbrei. Der Enddarm zeigte stets — auch bei den Hunger-

tieren! — einen schwärzlichen Inhalt. Mit Jod färbte sich der Kropfinhalt violett, die anderen Versuchsflüssigkeiten waren achromisch.

b) Zwei Tage lang reichlich mit löslicher Stärke gefütterte Schaben hungerten noch einen Tag, ehe sie präpariert wurden. Der Darm war in demselben Zustand wie bei den unter a) erwähnten Tieren. Auch die Jodprobe hatte dasselbe Ergebnis wie bei den Schaben, die gleich nach der Nahrungsaufnahme getötet wurden.

c) Fünf Schaben, die acht Tage gehungert hatten, wurden in derselben Weise präpariert wie die gefütterten. Der Kropf der Tiere war bei den Hungertieren stets leer von Nahrung, durch Gas aufgebläht und enthielt nur ein an sich farbloses Sekret, das aus den Speicheldrüsen stammt [vgl. Plateau (73)]. Der Mitteldarm war ebenfalls frei von Nahrungspartikeln, dagegen aber reichlich angefüllt von einer braunen Flüssigkeit.

Zu den unter a, b und c genannten Extrakten wurden je 0,2 ccm einer einprozentigen Lösung von löslicher Stärke hinzugefügt.

Das Resultat für Kropf, Mitteldarm und Enddarm war folgendes:

Kropf: a) nach 1 Std. 50 Min achromisch, b) nach 2 Std 30 Min. fast achromisch, c) nach 20 Min. achromisch.

Mitteldarm: a) nach 40 Min. achromisch, b) nach 1 Std. 30 Min. achromisch, c) nach 5 Min. achromisch.

Enddarm: a) nach 1 Std. 50 Min. fast achromisch, b) nach 2 Std. 30 Min. achromisch, c) nach 2 Std. 45 Min. achromisch.

Daraus geht hervor:

1. Kropf und Mitteldarm der Hungertiere bauen wesentlich schneller ab als die entsprechenden Darmteile bei gefütterten Tieren. Wir gebrauchten deshalb zu unseren Versuchen Hungertiere und erzielten dadurch den größtmöglichen Formenreichtum und zugleich Extrakte, die frei waren von Nährstoffen.

2. Beim Enddarm zeigten sich keine Unterschiede zwischen Hunger- und Futtertieren, weder in der Darmfüllung noch in der Fermentwirkung. Es ist anzunehmen, daß das im Enddarm wirksame Verdauungssekret aus dem Mitteldarm stammt.

3. Der Unterschied in der Verdauung zwischen Tieren, die gleich, und solchen, die einen Tag nach der Nahrungsaufnahme getötet wurden, ist nicht sehr hervortretend. Die Darmfüllung ist die gleiche. Wir ließen die Tiere zu unsern Versuchen immer so lange hungern, bis Kropf und Mitteldarm keine Nahrung mehr enthielten. Das trat nach ungefähr fünf bis sieben Tagen ein. Die Schaben konnten bis zu 14 Tagen den Hungerzustand aushalten, doch war der Fettkörper bis dahin fast ganz aufgezehrt. Nach sieben bis acht Tagen des Hungerns waren die Schaben am besten geeignet, die Raupen, je dach der Art, nach zwei bis vier Tagen. Bei den Raupen war dann der ganze Darm leer von Nahrung, aber stark angefüllt von braunem Darmsaft, der an der Luft nachdunkelte, ein Vorgang, der auf die Anwesenheit von Tyrosinase schließen läßt [vgl. Biedermann (11)].

V. Kohlehydratspaltende Fermente.

Wir beginnen nunmehr mit der Beschreibung der einzelnen Versuchsergebnisse, und zwar mit der Wirkung unserer Extrakte auf verschiedene Kohlehydrate. Es soll zuerst das Verhalten der einzelnen Versuchsflüssigkeiten besprochen und dann an Hand von ganzen Protokollen die Wirkung der Extrakte miteinander verglichen werden, und zwar werden immer zuerst die Versuche mit den Schaben, dann die mit den Raupen zu behandeln sein. Zu allen Kohlehydratuntersuchungen wurde ein Extrakt in der oben angegebenen Weise hergestellt. Die Versuche wurden immer durchschnittlich drei Tage hindurch kontrolliert. Die Substrate wurden in jedesmal frisch hergestellten einprozentigen Lösungen verwendet, von denen zu jedem Extrakt je 0,2 ccm zugesetzt wurden. Die Zeitangaben in den Protokollen beziehen sich auf den Augenblick des Substratzusatzes. Bei den Zuckerproben bedeutet ein Kreuz (+) einen geringen Kupferniederschlag bei der Fehlingsprobe bezw. eine kleine Anzahl von Osazonkristallen bei der Phenylhydrazinprobe, zwei Kreuze (++) mehr Niederschlag bezw. Osazonkristalle und drei Kreuze (+++) einen starken Niederschlag bezw. sehr viele Osazonkristalle. Für die Phenylhydrazinprobe stellten wir uns jedesmal eine frische Lösung von 1,5 g Natriumazetat und 1 g Phenylhydrazin in 10 ccm aq. dest. her und mischten diese Lösung zu ungefähr gleichen Teilen mit der Versuchsflüssigkeit in einem Reagenzglase, das im Wasserbade gekocht wurde. Wir unterschieden dabei Maltosazone und Glukosazone 1. nach ihrer Löslichkeit in Wasser und 2. nach dem Zeitpunkte des Auskristallisierens. Maltozone sind in heißem Wasser löslich, fallen also nur in der Kälte aus, Glukosazone dagegen sind in heißem Wasser unlöslich, fallen also auch in der Hitze aus. Maltosazone kristallisieren nach ungefähr $1^1/_2$ bis 2 Std. aus, während Glukosazone schon nach $^1/_2$ Std. erscheinen. Laktosazone haben ähnliche Eigenschaften wie Maltosazone. Von unsern Versuchsprotokollen bringen wir immer nur einige typische. Die Digestion ging, wenn nicht besonders andere Angaben gemacht sind, im Thermostaten bei 30—40° vor sich.

1. Amylase.

a) Substrat: Lösliche Stärke.

α) Schaben.

Beim Extrakt der Malpighischen Gefäße zeigte die Jodprobe im allgemeinen höchstens violette Farbe, die dann bis zum Abschluß des Versuches bestehen blieb (vgl. Protokoll 1). Violettfärbung trat nach Protokoll 1 schon nach ungefähr 20—30 Std. ein. Der Zeitpunkt lag in manchen anderen Versuchen später (vgl. Protokoll 2). Zwischen diesen beiden Extremen bewegen sich die Versuchsergebnisse. Nur in einem Falle trat ein rötlicher Farbton auf (vgl. Prot. 3). Niemals aber kam es bis zum achromischen Punkt.

Protokoll 1.

Schaben. Lösl. Stärke.

Der Extrakt der M. G. wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
20 Min.	blau
1 Std. 50 „	„
22 „	blau, wenig violett
32 „	violett
47 „ 30 „	„
70 „	„
95 „ 30 „	„
118 „ 30 „	„
144 „ 30 „	„

Protokoll 2.

Schaben. Lösl. Stärke.

Der Extrakt der M. G. wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
20 Std.	blau
24 „	„
41 „	„
44 „	„
50 „	„
65 „	blau-violett
91 „ 30 Min.	„ „
113 „ 30 „	violett

Der Kropfextrakt baute in allen Versuchen vollständig bis zum achromischen Punkt bei der Jodprobe ab, ebenso die Extrakte von Mitteldarm und Enddarm. Auch die Phenylhydrazinproben, die gleich nach Eintritt des achromischen Punktes angesetzt wurden, bewiesen den Abbau der Stärke unter dem Einfluß der Darmextrakte. Es fanden sich Maltosazone und Glukosazone (vgl. Prot. 6).

Protokoll 3.

Schaben. Lösl. Stärke.

Der Extrakt der M. G. wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
4 Std.	blau
21 „	violett
47 „ 30 Min.	„
69 „ 30 Min.	„
93 „	violett-rötlich
118 „ 30 „	rötlich

Der Fettkörper spaltete die Stärke ebenfalls (vgl. Prot. 4). Der Abbau verlief nicht immer so schnell. Oft blieb die rote Farbe lange bestehen (vgl. Prot. 5). Nicht in allen Versuchen kam der Abbau bis zum achromischen Punkt, jedoch stets bis zur Erythrodextrinstufe.

Protokoll 4.

Schaben. Lösl. Stärke.

Der Fettkörperextrakt wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
4 Std.	violett
21 „	achromisch

Protokoll 5.

Schaben. Lösl. Stärke.

Der Fettkörperextrakt wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
35 Min.	blau
1 Std. 50 „	„
22 „	violett
32 „	violett-rötlich
47 „ 30 „	rot
70 „	„
95 „ 30 „	„
118 „ 30 „	„
144 „ 30 „	„

Protokoll 6.

Schaben. Lösl. Stärke.

Zeit:	Extrakte von: Malp. Gef.	Kropf	Mitteldarm	Enddarm	Fettkörper	Kontrolle
	30—40°	bei Zimmertemperatur			30—40°	
nach 5 Min.		Jodprobe: rötl.—violett	Jodprobe: achromisch	Jodprobe: blau		Jodprobe: blau
15 „	Jodprobe: blau		Zusatz von 0,2 ccm Subst.		Jodprobe: blau	
20 „		Jodprobe: achromisch	Jodprobe: achromisch	Jodprobe: blau—violett		
25 „		Zusatz von 0,2 ccm Subst.	Zusatz von 0,2 ccm Subst.			
30 „	Jodprobe: blau		Jodprobe: achromisch	Jodprobe: violett	Jodprobe: blau	Jodprobe: blau
35 „		Jodprobe: violett	Zusatz von 0,2 ccm Subst.			
37 „			Jodprobe: rot			
40 „			Jodprobe: achromisch			Jodprobe: blau
45 „		Jodprobe: rot		Jodprobe: violett		
50 „		Jodprobe: fast achrom.				
60 „		Jodprobe: achromisch		Jodprobe: violett—rötl.		Jodprobe: blau
65 „	Jodprobe: blau			Von hier an: 30—40°	Jodprobe: blau	
$1^3/_4$ Std.		Phenylhydr.-Probe angesetzt	Phenylhydr.-Probe angesetzt	Jodprobe: rot		
$2^3/_4$ „			Viele Glukosazone + + +	Jodprobe: achromisch, Phenylhydr.-Probe angesetzt		
$3^1/_2$ „	Jodprobe blau					
$3^3/_4$ „		Viele Maltosazone + + +		Wenige Glukosazone +		
24 „	Jodprobe: violett				Jodprobe: violett—rot	Jodprobe: blau
$49^1/_4$ „	Jodprobe: blau				Jodprobe: rot	Jodprobe: blau
73 „	Jodprobe: violett				Jodprobe: rötl., fast achr.	Jodprobe: blau
$98^1/_4$ „					Jodprobe: achromisch	Jodprobe: blau

Die Kontrolle (1 ccm aq. dest. + 0,2 ccm einer einprozentigen Lösung von löslicher Stärke) färbte sich mit Jod stets blau.

Lösliche Stärke wird nach unseren Versuchen abgebaut von Kropf, Mitteldarm, Enddarm und Fettkörper, nicht aber von den Malpighischen Gefäßen. Aus Protokoll 6 geht hervor, daß der Mitteldarm am schnellsten die Stärke abbaut, nach 5 Min., dann folgen Kropf, Enddarm und Fettkörper. Der Extrakt der Malpighischen Gefäße bringt die Stärke nur bis zur Amylodextrinstufe. Wir glauben, bei einem Vergleich mit der Wirkung der anderen Extrakte in diesem Falle nicht von einer typischen Fermentwirkung reden zu dürfen, sondern müssen für diese Andauung des Substrates andere bisher ungeklärte, wohl auf chemischen Veränderungen des Präparates beruhende Ursachen verantwortlich machen.

Bei ganz gleichen Versuchsbedingungen fällt die Geschwindigkeit des Abbaus der Stärke durch die Versuchsflüssigkeiten immer etwas verschieden aus (vgl. Prot. 4 und 5). Dasselbe zeigen auch die Versuche mit anderen Substraten. Diese Beobachtung erklärt sich wohl dadurch, daß bei jedem Versuche mit anderen Tieren gearbeitet wurde und sich so individuelle Unterschiede bemerkbar machten. In der Kleinheit des Objekts liegt ja eine der Hauptschwierigkeiten bei der Untersuchung der Verdauungsvorgänge der Insekten. Während man bei Wirbeltieren z. B. den Extrakt einer Verdauungsdrüse oder das Blut von einem einzigen Tiere für eine ganze Reihe von Versuchen verwenden kann, ist bei den Insekten zu jedem einzelnen Versuche mindestens ein ganzes Tier nötig, meistens gebraucht man sogar mehrere. Wir arbeiten also bei unseren Versuchen immer mit verschiedenen Fermentmengen im Gegensatz zu Untersuchungen an größeren Tieren, bei denen man von einer gleichbleibenden Versuchsflüssigkeit zu jedem Versuche eine bestimmte Anzahl von Kubikzentimetern abmessen kann. Nun spielt ja bei der Lösung unseres Problems eine genaue Feststellung der Dauer des Abbaus keine Rolle. Wir können uns mit dem Nachweis begnügen, ob überhaupt eine Veränderung der Substrate unter dem Einfluß der Extrakte eintritt, und ob sich diese Spaltung nach Minuten, Stunden oder Tagen vollzieht.

β) Raupen.

Die Reaktionen mit der löslichen Stärke unter dem Einfluß des Extraktes der Malpighischen Gefäße verliefen im wesentlichen wie die bei den Schaben (vgl. Prot. 7 und 8).

Protokoll 7.

Raupen. Der Extrakt der M. G. wurde kontrolliert nach:	Lösl. Stärke. Die Jodprobe ergab:
4 Std.	blau
6 „	„
22 „	„
31 „	„
48 „	violett
71 „	„

Protokoll 8.

Raupen. Der Extrakt der M. G. wurde kontrolliert nach:	Lösl. Stärke. Die Jodprobe ergab:
$2^1/_4$ Std.	blau-violett
$16^1/_2$ „	„
48 „	„
65 „	„
90 „	violett

In einem Falle zeigte sich bei einer Kontrolle, die wir nach 45 Std. vornahmen, eine violett-rötliche Jodfarbe; Rotfärbung trat einmal bei einer Kontrolle nach 122 Std. ein (vgl. Prot. 9). Achromisch fiel die Jodprobe niemals aus.

Der Darmextrakt zersetzte die lösliche Stärke stets.

Wie bei den Schaben, so baute auch bei den Raupen der Fettkörper lösliche Stärke ab (vgl. Prot. 10 und 11). Manchmal verlief der Abbau bedeutend langsamer. Der achromische Punkt wurde innerhalb der Versuchsdauer nicht immer erreicht (vgl. Prot. 12).

Protokoll 9.

Raupen. Lösl. Stärke.

Der Extrakt der M. G. wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
15 Std.	blau
$21^1/_2$ „	„
38 „	blau-violett
122 „	rot

Protokoll 10.

Raupen. Lösl. Stärke.

Der Fettkörperextrakt wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
$2^1/_4$ Std.	viol.-rötl.
$16^1/_2$ „	rot
48 „	achromisch

Protokoll 11.

Raupen. Lösl. Stärke.

Der Fettkörperextrakt wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
$4^1/_2$ Std.	violett-rötlich
$20^1/_2$ „	rot
47 „	fast achromisch
$69^1/_2$ „	achromisch

Protokoll 12.

Raupen. Lösl. Stärke.

Der Fettkörperextrakt wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
$2^1/_2$ Std.	blau
$17^1/_2$ „	blau-violett
24 „	„
$41^1/_2$ „	violett
$121^1/_2$ „	„

Mit den Spinndrüsenextrakten wurde die Amylodextrinstufe in 2—6 Std. erreicht, in den verschiedenen Versuchen nach $2^1/_4$, $2^1/_2$, $4^1/_2$ und 6 Std. Der Übergang vom Amylodextrin zum Erythrodextrin und zur Glukose verlief langsam, vor allem auf der Erythrodextrinstufe blieb die Reaktion lange stehen (vgl. Prot. 13, 14 und 15).

Die Lymphe baute lösliche Stärke ebenfalls ab (vgl. Prot. 16, 17 und 18). In allen Versuchen wurde der achromische Punkt erreicht.

Protokoll 13.

Raupen. Lösl. Stärke.

Der Spinndrüsenextrakt wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
$2^1/_4$ Std.	viol. (Spur rötl.)
$16^1/_2$ „	schmutzig violett
48 „	achromisch

Protokoll 14.

Raupen. Lösl. Stärke.

Der Spinndrüsenextrakt wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
$4^1/_2$ Std.	violett
$20^1/_2$ „	viol.-rötl.
47 „	rot
$69^1/_2$ „	„

Protokoll 15.
Raupen. Lösl. Stärke.

Der Spinndrüsenextrakt wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
$2^1/_2$ Std.	violett
$17^1/_2$ „	„
24 „	„
$41^1/_2$ „	„
$121^1/_2$ „	violett-rötlich

Protokoll 16.
Raupen. Lösl. Stärke.

Der Lymphextrakt wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
4 Std.	blau (sehr schwach violett)
6 „	Spur violett
7 „	„ „
22 „	rot
31 „	rötl. (fast achrom.)
48 „	achromisch

Die Kontrolle (aq. dest. + lösliche Stärke) färbte sich mit Jod immer blau.

Protokoll 17.
Raupen. Lösl. Stärke.

Der Lymphextrakt wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
$2^1/_2$ Std.	rot
$17^1/_2$ „	achromisch

Protokoll 18.
Raupen. Lösl. Stärke.

Der Lymphextrakt wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
15 Std.	achromisch

Protokoll 19.
Raupen. Lösl. Stärke.

Zeit:	Extrakte von: Malp. Gef.	Darm	Fettkörper	Spinndrüs.	Lymphe	Kontrolle
nach $^1/_4$ Std.		blau				
4 „	blau	rot-violett	blau (Spur viol.)	blau (Spur viol.)	blau (Spur viol.)	blau
6 „	blau	rot	blau (Spur viol.)	violett	violett	blau
7 „		rötlich, fast achrom.			violett	
22 „	blau	achromisch	violett	violett (Spur rötl.)	rot	blau
31 „	blau		violett	viol.-rot	rot fast achrom.	blau
48 „	violett		viol.-rötl.	rot	achromisch	blau
71 „	violett		viol.-rötl.	rötlich, fast achrom.		blau

Der Abbau von löslicher Stärke erfolgt nach unseren Versuchen durch die Extrakte von Darm, Fettkörper und Lymphe der Raupen, nicht dagegen durch den Extrakt der Malpighischen Gefäße. Aus Protokoll 19 geht hervor, daß der Darm am schnellsten abbaut, in anderen Versuchen schneller als in dem vorliegenden Protokoll. Dann folgt die Lymphe, dann der Fettkörper. Der Abbau durch die Spinndrüsen ist fraglich. Die Malpighischen Gefäße halten mit keiner Versuchsflüssigkeit gleichen Schritt.

Über den Fermentgehalt von Spinndrüsen und Fettkörper fanden wir in der Literatur nirgends eine Angabe.

Was die Lymphe angeht, so konnte von vornherein angenommen werden, daß sie Fermente enthält. Am eingehendsten ist der Fermentgehalt des Wirbeltierblutes untersucht worden. Nach Wohlgemuth (98) wurde die Diastase im Blute der Wirbeltiere zuerst 1846 von Magendie studiert. 1892 gelang Röhmann, wie Wohlgemuth schreibt, der definitive Beweis, daß die Diastase sich normaliter im kreisenden Blute findet. Auch Bial stellte 1892 fest, daß im Serum des Blutes und der Lymphe ein diastatisches Ferment enthalten sei. Wohlgemuth fand, daß die geringsten Mengen an Diastase sich im Blute von Mensch, Rind und Ziege finden, etwas größere beim Kaninchen, die größten Werte beim Meerschweinchen und beim Hund. Und zwar enthält der nüchterne Hund ebensoviel Diastase in seinem Blute wie der reichlich gefütterte, und die Art der Nahrung ist ohne wesentlichen Einfluß auf den Diastasegehalt des Blutes. Ferner wies er nach, daß die Diastase im Blut nicht ausschließlich aus dem Pankreas stammt, sondern Darm, Speicheldrüsen, Leber, Muskeln und Nieren sind nach seinen Untersuchungen gleichfalls an der Versorgung des Blutes mit Diastase beteiligt. Ebenso wie Diastase hat man im Laufe der Zeit die verschiedensten anderen Enzyme im Blute ermittelt. Bei Hammarsten (42) findet sich eine Zusammenstellung der Blutfermente. Nach A. v. Tschermaks (93) tabellarischer Übersicht der Verbreitung der Fermente im Tierkörper enthalten die Zirkulationsflüssigkeiten, speziell Blut:

1. Karbohydrasen: Amylase (Dextrinase), Maltase, keine Invertase (normalerweise), keine Glukosidase,

2. Esterasen: Butyrinase — zugleich Esterase für Phosphatide und Jekorine, — keine Lipase,

3. Amidasen: Protrypsin (normalerweise?), keine aktive Pepsinase oder Trypsinase oder Ereptase, Nuklease, keine Arginase, Thrombogen, Antiprotease, speziell Antitrypsinase (?).

Die Ansichten, ob sich normalerweise immer Fermente im Blute finden, sind widersprechend. Abderhalden (2) ist der Meinung, daß das Blutplasma im allgemeinen keine verdauende Kraft besitzt, weil ja auch unter normalen Verhältnissen keine Stoffe ins Blut gelangen, die plasmafremd sind und eines schnellen Abbaues bedürfen. Dagegen betont Oppenheimer (70), der dem Blute eine Reihe von Enzymen zuschreibt, die Bedeutung dieser Fermente mit den Worten: „Sie können Nährstoffe, die den verdauenden Kräften des Darmes entgangen sind, noch nachträglich abbauen, und dasselbe auch dann leisten, wenn solche abbaufähigen Stoffe direkt unter Umgehung des Darmes, parenteral, eingeführt werden.“

Aus alledem geht hervor, daß über das Problem „Fermente im Blut“ noch lange keine Klarheit herrscht. Pütter (76) schreibt: „Da über den Gehalt des Blutes an Fermenten, Alexinen und anderen spezifischen Stoffen nur ganz vereinzelte vergleichende Beobachtungen vorliegen, müssen wir dieses Gebiet, das vielleicht den Schwerpunkt

einer künftigen vergleichenden Physiologie des Blutes bilden wird, ganz beiseite lassen." Diese aus dem Jahre 1911 stammenden Worte haben auch heute noch Gültigkeit.

Über das Blut der Wirbellosen, speziell der Insekten, sind die Angaben noch weit spärlicher. Man stößt meist nur auf Untersuchungen von Tyrosinase, Katalase und Oxydase. Kobert (100) fand Diastase in Coelomflüssigkeit und Blut von *Maja squinado* und *Sipunculus*. Wahrscheinlich ist aber die Diastase auch in der Körperflüssigkeit anderer Wirbelloser vorhanden, worauf unsere Untersuchungen hinweisen können.

b) Substrat: Amylose (Bütschli).

α) Schaben.

Die Amyloseversuche verliefen im wesentlichen wie die mit der löslichen Stärke. Es wurde durch ein $^1/_2$-stündiges Kochen und darauf folgendes Absetzenlassen eine einprozentige Amyloselösung hergestellt.

Bei dem Extrakt der Malpighischen Gefäße der Schaben ging die blaue Farbe bei der Jodprobe in allen Versuchen nach ungefähr 20 Std. in eine violette über, die bis zum Schluß bestehen blieb. Ein weiterer Abbau wurde niemals beobachtet. Stets trat mit der violetten Farbe eine Ausfällung fester Amylose ein, entsprechend den Beobachtungen von Lowartz beim Amyloseabbau durch den Flußkrebsmagensaft (56). Über unsere Versuche vgl. Prot. 20 und 21. Eine Fehlingsprobe, die in einem Versuche nach $16^1/_2$ Std. vorgenommen wurde, fiel negativ aus.

Protokoll 20.

Schaben. Der Extrakt der M. G. wurde kontrolliert nach:	Amylose. Die Jodprobe ergab:
20 Min.	blau
1 Std.	blau
3 „	blau
17 „	viol. mit Ausfällung
43 „	viol. mit Ausfällung
66 „	viol. mit Ausfällung
91 „ 30 Min.	viol. mit Ausfällung

Protokoll 21.

Schaben. Der Extrakt der M. G. wurde kontrolliert nach:	Amylose. Die Jodprobe ergab:
21 Std.	blau
44 „	violett
$69^1/_2$ „	violett
$117^1/_2$ „	viol. mit Ausfällung

Die Speicheldrüsen bauen „explosionsartig" ab. Fügt man zu dem Extrakt aus den Speicheldrüsen einer Schabe 2,0 ccm Amyloselösung und setzt auf der Platte einen Tropfen Jod hinzu, so geht die anfangs blaue Farbe in wenigen Sekunden in die reine Jodfarbe über. Den großen Gehalt der Speicheldrüsen an diastatischem Ferment zeigt auch folgender Versuch: Einem Speicheldrüsenextrakt von fünf Schaben in 1 ccm aq. dest. wurden 0,2 ccm Amyloselösung zugesetzt. Bei einer Kontrolle nach 5 Minuten fiel die Jodprobe negativ aus. Nach 10 Min. wurden wieder 0,2 ccm Amyloselösung hinzugefügt, die nach abermals 5 Min. vollständig verdaut waren. Die Fehlings-

proben zeigten mit Eintritt des achromischen Punktes stets einen Kupferniederschlag. Die Phenylhydrazinproben ergaben auch nach 20 Std. noch keine Maltosàzone. Der Abbau war bis zu diesem Zeitpunkte also erst bis zu den reduzierenden Achroodextrinen vor sich gegangen.

Sehr intensiv ist auch die Verdauung im Kropf (vgl. Prot. 22, 23 und 24). Aus der Phenylhydrazinprobe geht hervor, daß der Kropfextrakt schon in 6 Min. bis zum Zucker abbaut (vgl. Prot. 24), da die Speicheldrüsen, die dem Kropf ihr Sekret liefern, nicht so schnell verdauen, muß man wohl annehmen, daß die Verdauung im Kropf mit auf Rechnung der vom Mitteldarm eindringenden Sekrete zu setzen ist [vgl. Deegener (30) und Biedermann (12)]. Wir werden auf das Problem „Übertritt der Mitteldarmsekrete in den Vorderdarm" im Schlußkapitel unserer Arbeit zurückzukommen haben.

Protokoll 22.
(Kropfextrakt)
Schaben. Amylose.

nach 5 Min.	Jodprobe:	blau-violett m. Ausfällung
10 „	„	achromisch m. Ausfällung
35 „	Zusatz von Amyl.	0,2 ccm
45 „	Jodprobe:	violett mit Ausfällung
50 „	„	achromisch mit starker Ausfällung
65 „	„	„
65 „	Fehlingsprobe:	+++

Protokoll 23.
(Kropfextrakt)
Schaben. Amylose.

nach 5 Min.	Jodprobe:	achromisch mit starker Ausfällung
35 „	Zusatz von Amylose	0.2 ccm
35½ „	Jodprobe:	violett mit Ausfällung
40 „	„	achromisch
40 „	Zusatz von Amylose	0,2 ccm
55 „	Jodprobe:	achromisch
90 „	Fehlingsprobe:	+++

Protokoll 24.
(Kropfextrakt)
Schaben. Amylose.

nach 1½ Min.	Jodprobe:	achromisch m. Ausfällung
2 „	Zusatz von Amylose	0,2 ccm
5½ „	Jodprobe:	achromisch
6 „	Fehlingsprobe:	+++
6 „	Phenylhydrazinprobe:	+++

Protokoll 25.
(Mitteldarmextrakt)
Schaben. Amylose.

nach 5 Min.	Jodprobe:	fast achromisch m. Ausfällung
10 „	„	achromisch m. Ausfällung
35 „	Zusatz von Amylose	0,2 ccm
45 „	Jodprobe:	violett mit Ausfällung
50 „	„	fast achromisch m. Ausfüllung
65 „	„	achromisch m. Ausfällung
65 „	Fehlingsprobe:	+++

Über den Abbau von Amylose im Mitteldarm vgl. Prot. 25 und 26. Bei den Phenylhydrazinproben entstanden Maltosazone und Glukosazone.

Im Enddarm wird Amylose bis zum Zucker abgebaut (vgl. Prot. 27 28 und 29.

Protokoll 26.
(Mitteldarmextrakt)
Schaben. Amylose.

nach 5 Min.	Jodprobe:	achromisch m. Ausfällung
10 „	Zusatz von Amylose	0,2 ccm
15 „	Jodprobe:	fast achrom. m. Ausfällung
20 „	„	achromisch m. Ausfällung
25 „	Zusatz von Amylose	0,2 ccm
30 „	Jodprobe:	fast achrom. m. Ausfällung
45 „	„	„
105 „	„	„
105 „	Fehlingsprobe:	+++
120 „	Phenylhydrazinpr. anges.	
180 „	Ergebnis der Phenylhydr.:	+++

Protokoll 27.
(Enddarmextrakt)
Schaben. Amylose.

nach 5 Min.	Jodprobe:	blau
30 „	„	violett
45 „	„	violett mit Ausfällung
$1^3/_4$ Std.	„	fast achrom. m. Ausfällung
$1^3/_4$ „	Fehlingsprobe:	++
2 „	Phenylhydr. angesetzt	
$6^1/_2$ „	Ergebnis der Phenylhyd.-probe:	+++ (Maltosazone)

Protokoll 28.
(Enddarmextrakt)
Schaben. Amylose.

nach $1^1/_2$ Std.	Jodprobe:	achromisch
2 „	Zusatz von Amylose	0.2 ccm
$5^1/_2$ „	Jodprobe:	achromisch
6 „	Fehlingsprobe:	+++
6 „	Phenylhyd.-probe:	+++

Protokoll 29.
(Enddarmextrakt)
Schaben. Amylose.

nach 5 Min.	Jodprobe:	schmutzig-graublau
10 „	„	achromisch mit starker Ausfällung
$1^1/_2$ Std.	Fehlingsprobe:	+++

Um die diastatische Kraft von Kropf, Mitteldarm und Enddarm zu vergleichen, wurde folgender Versuch angestellt: Während alle bisher beschriebenen Versuche durch die Jod-Plattenmethode kontrolliert wurden, färbten wir zu diesem Versuche die Amylose mit Jod blau und gaben davon zu den drei Versuchsflüssigkeiten je 0,2 ccm. Beim Kropfextrakt verschwand die blaue Farbe sofort nach Zusatz,

der Extrakt wurde achromisch. Beim Mitteldarm wurde der Extrakt nach 1 Min. violett, nach 3 Min. achromisch. Der Enddarmextrakt war nach 3 Min. violett, nach 25 Min. achromisch.

Der Fettkörper spaltete in allen Versuchen das Substrat vollständig, und zwar bis zum Zucker. Die Jodproben fielen negativ, die Fehlings- und Phenylhydrazinproben positiv aus (vgl. Prot. 30, 31 und 32).

Protokoll 30.

(Fettkörperextrakt)

Schaben. Amylose.

nach:		
21 Std.	Jodprobe:	achromisch
21 „	Phenylhydr. probe:	+++

Protokoll 31.

(Fettkörperextrakt)

Schaben. Amylose.

nach:		
1½ Std.	Jodprobe:	schmutzig-grau mit Ausfällnng
2 „	Zusatz von Amylose	0,2 ccm
5½ „	Jodprobe:	rot
6½ „	„	„
23½ „	„	achromisch
23½ „	Fehlings-probe:	++

Protokoll 32.

Schaben. Amylose.

Der Fettkörperextrakt wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
20 Min.	blau
60 „	„
3 Std.	„
17 „	achromisch m. Ausfällung

Die Kontrolle (1 ccm aq. dest. + 0,2 ccm Amyloselösung) war mit Jod immer blau. Bei einem Versuche zeigte sich nach 72 Std. Ausfällung fester Amylose. Die Fehlingsprobe fiel stets negativ aus.

Amylose wird demnach abgebaut von Speicheldrüsen, Kropf, Mitteldarm, Enddarm und Fettkörper, nicht aber von den Malpighischen Gefäßen. Aus der ganzen Versuchsreihe (vgl. Prot. 33) und den einzelnen Protokollen geht hervor, daß Amylose am schnellsten von den Speicheldrüsen angegriffen wird. Nicht so explosionsartig wie die Speicheldrüsen arbeitet der Kropf, der dafür aber schneller bis zum Zucker abbaut. Gleich darauf folgt der Mitteldarm. Dann kommt der Enddarm. Am langsamsten — nach ungefähr 20 Std. — wirkt der Fettkörper. Eine Fermentwirkung der Malpighischen Gefäße liegt nicht vor; die violette Farbe bei der Jodprobe erklärt sich wie bei der löslichen Stärke (vgl. p. 28).

So eindeutig die Jodproben waren, so schwierig war oft die Feststellung eines positiven oder negativen Ausfalls der Fehlingsprobe. Besonders bei Mitteldarm und Enddarm wirkten die Eigenfärbung

und der reiche Eiweißgehalt störend. Der Mitteldarm wurde beim Kochen mit Fehlings Lösung schmutzigbraun, der Enddarm braunschwarz und der Fettkörper milchig-blau bis violett. Ein Versuch, in dem wir gleichsam einen künstlichen Darmextrakt herstellten, zeigte ähnliche Reaktionen. Wir mischten in einem Kölbchen: 50 ccm aq. dest., 10 ccm einprozentige Amyloselösung, 10 ccm Speichellösung (1 : 100), 5 ccm in Sodalösung emulgiertes Olivenöl, 2 ccm Pankreasextrakt, eine Messerspitze Pepton, $^1/_2$ Messerspitze Trypsin und $^1/_2$ Messerspitze Harnsäure. Das Gemisch reagierte sauer, es wurde soviel Sodalösung zugesetzt, bis blaues Lackmuspapier nicht mehr gerötet wurde. Das Ergebnis der Jodproben mit dieser Mischung zeigt Prot. 34. Bei den geringen Mengen unserer Versuchsflüssigkeiten war ein Kochen mit Tierkohle oder ein Ausfällen der Eiweißkörper mit nachfolgendem Filtrieren technisch unmöglich. Manchmal schien uns die Fehlingsprobe negativ zu sein, während die Phenylhydrazinprobe, die gleichzeitig mit einem Teile desselben Extraktes vorgenommen wurde, positiv ausfiel. Wir ließen in einem solchen Falle die unzweideutige Phenylhydrazinprobe entscheiden. Auch benutzten wir gelegentlich Glyzerinauszüge einzelner Darmteile zu unseren Versuchen, die auch nach mehreren Tagen noch deutliche Fehlingsproben zeigten (vgl. Prot. 35).

Protokoll 33.

Schaben. Amylose.

Die Jodprobe ergab bei:

Die Extrakte wurden kontrolliert nach:	Mal. Gef.	Speicheldrüse	Kropf	Mitteldarm	Enddarm	Fettkörper	Kontrolle
$^1/_2$ Min.		achrom.					
5 „			blau-viol. mit Ausf.	fast achrom. mit Ausf.	violett		blau
10 „			achrom. mit Ausf.	achromisch mit Ausf.			
15 „					achrom. mit Ausf.		
20 „	blau					blau	
1 Std.	„					„	blau
3 „	„					„	„
17 „	violett mit Ausf.					achrom. mit Ausf.	„
43 „	„					„	„
66 „	„						„
91$^1/_2$ „	„						„

Doch sahen wir im allgemeinen von Glyzerinauszügen ab, weil die wässerigen Extrakte uns gewöhnlich zur Lösung unserer Frage verhalfen, und weil zu den Glyzerinextrakten bedeutend mehr Tiere nötig waren. Zu dem erwähnten Versuche (vgl. Prot. 35) präparierten wir 20 Tiere, deren Mitteldärme in 4 ccm Glyzerin zerrieben wurden. Von diesem Extrakt filtrierte in 24 Std. 1 ccm durch.

Protokoll 34.

Amylose.

Der „künstliche Darmextrakt“ wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
0 Std.	violetten Farbton
	—
1 „	„ „
	—
24 „	gelb-grün
74 „	grünlich-milchig
74 „	nach vorherigem Kochen mit Tierkohle: grün
96 „	gelb (+?)
149 „	milchig-blau
173 „	„ „
218 „	„ „

Protokoll 35.

(Mitteldarmextrakt)

Schaben. Amylose.

Der Glyzerinextrakt wurde kontrolliert nach:	Die Jodprobe ergab:
50 Std.	++
72 „	+++
194 „	+++

Protokoll 36.

(Extrakt der Malp. Gef.)

Raupen. Amylose.

nach:		
$45^3/_4$ Std.	Jodprobe:	blau
$46^1/_2$ „	Phenylhrd. angesetzt	
$47^1/_4$ „	Ergebnis der Phenylhydraz.:	—

β) Raupen.

Die Amyloseversuche bei den Raupen zeigen ähnliche Resultate wie bei den Schaben. Die Malpighischen Gefäße gaben immer positive Jodproben und negative Zuckerproben (Fehlings und Phenylhydrazin) (vgl. Prot. 36, 37 und 38). Eine Fehlingsprobe, die in einem anderen Versuche nach $5^3/_4$ Std. vorgenommen wurde, fiel ebenfalls negativ aus.

Protokoll 37.

(Extrakt der Malp. Gef.)

Raupen. Amylose.

nach		
$^1/_4$ Std.	Jodprobe:	blau
4 „	„	blau mit Ausfällung
22 „	„	„
47 „	„	„
72 „	„	„
72 „	Fehlingsprobe:	—

Protokoll 38.

(Extrakt der Malp. Gef.)

Raupen. Amylose.

nach		
$^3/_4$ Std.	Jodprobe:	blau
23 „	„	„
$48^1/_2$ „	„	blau (Spur viol.) starke Ausfällg.
70 „	„	„
70 „	Fehlingsprobe:	—

Der Darm baute die Amylose ab (vgl. Prot. 39), ebenso Fettkörper (vgl. Prot. 40) und Lymphe (vgl. Prot. 41 und 42).

Protokoll 39.
(Darmextrakt)
Raupen. Amylose.

nach			
1/4 Std.	Jodprobe:	violett	
3/4 „	„	violett-rötlich	
4 „	„	achromisch	
22 „	Zusatz von Amylose	0,2 ccm	
47 „	Jodprobe:	violett	
72 „	„	achromisch	
72 „	Fehlingsprobe:	+ + +	

Protokoll 40.
(Fettkörperextrakt)
Raupen. Amylose.

nach		
1/4 Std.	Jodprobe:	blau mit Ausfällung
4 „	„	blau mit stark. Ausfällg.
22 „	„	violett mit stark. Ausfällg.
47 „	„	„
72 „	„	„
72 „	Fehlingsprobe:	+ +

Die negativen Jod- und Phenylhydrazinproben zusammen mit positiven Fehlingsproben beim Darmextrakt können nur so gedeutet werden, daß bis zum Ende der Digestionszeit ein Abbau der Amylose im Darm erst zu reduzierenden Achroodextrinen stattgefunden hat.

Während die Versuche mit löslicher Stärke an *Cerura vinula* L. und *Phalera bucephala* L. ausgeführt wurden, benutzten wir für die Amyloseversuche *Macrothylacia rubi* L. Der ursprünglich grünlichweiße Fettkörper von *Macrothylacia* färbte sich im Gegensatz zu dem der beiden anderen Raupenarten, der sich nur wenig verfärbte, nach der Präparation bläulich-violett. Diese Farbe störte besonders bei den Jodproben. Wie man aus Protokoll 40 ersehen kann, zeigte die Jodprobe einen violetten Farbton, während die Fehlingsprobe positiv ausfiel. Eine Fehlingsprobe mit dem Fettkörper allein war negativ. Es war also unter der Einwirkung des Fettkörpers aus der Amylose reduzierendes Amylodextrin entstanden.

Bei der Untersuchung der Lymphe wirkte ebenfalls die Eigenfarbe der Versuchsflüssigkeit hinderlich. Die anfangs grüne Farbe geht im Verlaufe des Versuches in eine tief blau-schwarze über (Tyrosinasewirkung), sodaß sowohl die Jod- als auch die Fehlingsproben nicht immer zu deuten waren. Wir benutzten trotz dieser lästigen Nebenerscheinung gerade *Macrothylacia*, weil sie verhältnismäßig die meisten Lymph- und Fettmengen enthielt und stützten uns auf Reaktionen, die den Abbau des Substrates unabhängig von Farbwirkungen zeigten. Bei der Amylose gab die Phenylhydrazinprobe in zweifelhaften Fällen den Ausschlag. Danach baut die Lymphe bis zur Glukose ab.

Bei den Spinndrüsenextrakten wurde die Amylodextrinstufe fast immer erreicht (vgl. Prot. 43, 44 und 45). Ein weiterer Abbau ist fraglich. Die Fehlingsproben waren negativ.

Die Kontrolle (0,5 ccm aq. dest. + 0,2 ccm Amyloselösung) war mit Jod stets blau, die Zuckerproben (Fehlings- und Phenylhydrazin) fielen immer negativ aus.

Protokoll 41.
(Lymphextrakt)
Raupen. Amylose.

nach $4^1/_2$ Std.	Jodprobe:	violett mit starker Ausfällung
$20^1/_2$ „	„	schmutzig-viol.-rötl., Ausfällung
47 „	„	anscheinend achromisch, schmutzige Ausfällung
$61^1/_2$ „	„	„
$71^1/_2$ „	Fehlingsprobe:	+++

Protokoll 42.
(Lymphextrakt)
Raupen. Amylose.

nach $45^3/_4$ Std.	Jodprobe:	achromisch
$46^1/_2$ „	Phenylhyd. angesetzt	
$47^1/_4$ „	Ergebnis d. Phenylh.:	++ Glukosazone

Protokoll 43.
(Spinndrüsenextrakt)
Raupen. Amylose.

nach $^1/_4$ Std.	Jodprobe:	blau
4 „	„	blau mit Ausfällung
22 „	„	„
47 „	„	„
72 „	„	schmutzig blau mit Ausfällung
72 „	Fehlings-probe:	—

Protokoll 44.
(Spinndrüsenextrakt)
Raupen. Amylose.

nach $^3/_4$ Std.	Jodprobe:	blau
23 „	„	violett mit starker Ausfällung
$48^1/_2$ „	„	„
70 „	„	„
$70^1/_2$ „	Fehlings-probe:	—

Protokoll 45.
(Spinndrüsenextrakt)
Raupen. Amylose.

nach $45^3/_4$ Std.	Jodprobe:	blau (Spur violett)
$46^1/_2$ „	Phenylhyd. angesetzt	
$47^1/_4$ „	Ergebnis der Phenylhydr.:	—

Außer den bis jetzt beschriebenen Amyloseversuchen an Schaben und Raupen machten wir noch weitere mit Raupen, zu denen wir die Amylose auf andere Weise herstellten. Wir erhitzten die Amylose mit dem destillierten Wasser nur auf 70 ° und ließen sie sich dann mehrere Tage lang absetzen. Dadurch entstand eine wasserhelle Flüssigkeit, die die Amylose nur in Spuren enthielt und sich mit Jod nur sehr schwach blau färbte. Bei den Versuchen mit dieser Amylose zeigte sich folgendes:

Darm, Lymphe und Fettkörper bauten diese dünne Lösung in bedeutend kürzerer Zeit ab als die $^1/_2$ Std. gekochte konzentriertere. Spinndrüsen und Malpighische Gefäße, die sich gegen die starke Amyloselösung indifferent gezeigt hatten, gaben nach ungefähr 24 Std. negative Jod-, aber auch negative Fehlingsproben.

Daß die im Medium nur spurenweise vorhandenen Substratmengen durch die Extrakte von Spinndrüsen und Malpighischen Gefäßen abgebaut wurden, ist zweifellos auf Rechnung der den Organen anhaftenden Spuren von Fettkörper, Lymphe usw. zu setzen, mit deren Vorhandensein gerechnet werden muß (vgl. p. 17). Der Abbau dieser dünnen Substratlösung ist auch auf dieselbe Weise zu erklären, wie die Andauung konzentrierterer Lösungen (vgl. p. 28). Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe liegen innerhalb der durch die Technik bedingten Fehlergrenzen und sind für die Klärung unserer Frage unbrauchbar.

Bei den Raupen bauen demnach Darm, Lymphe und Fettkörper die Amylose ab, nicht dagegen die Malpighischen Gefäße. Ein Abbau durch die Spinndrüsen ist fraglich. Aus der Versuchsreihe (vgl. Prot. 46) geht hervor, daß der Darm die Amylose am schnellsten abbaut, dann folgen nacheinander Lymphe und Fettkörper.

Protokoll 46.

Raupen. Amylose.

Zeit:		Extrakte von: Malp. Gef.	Darm	Fettkörp.	Spinndrüs.	Lymphe	Kontrolle
nach $^1/_4$ Std.	Jodprobe:	blau	violett	blau mit Ausfällg.	blau		blau
$^3/_4$ „	„		violett-rötlich				
4 „	„	blau mit Ausfällg.	achrom.	„	„ mit Ausf.	violett mit Ausfällg.	„
22 „	„	„		violett mit Ausfällg.	„	viol.-rötl. mit Ausf.	„
22 „	Zusatz von Amylose		1 ccm				
47 „	Jodprobe:	„	violett	„	„	achrom. mit Ausf.	„
72 „	„	„ (schmutz.)	achrom.	„	„ (schmutz.)	„	„
72 „	Fehlings-probe:	—	+++	++	—	+++	—

c) Substrat: Glykogen.

α) Schaben.

Ein Glykogenabbau fand durch die Malpighischen Gefäße der Schaben nicht statt (vgl. Prot. 47 und 48).

Den Abbau durch die Speicheldrüsen läßt folgender Versuch erkennen: Läßt man mit Jod braun gefärbte einprozentige Glykogenlösung in den Speicheldrüsenextrakt tropfen, so verschwindet die braune Farbe des Jodglykogens zusehends, und die reine Jodfarbe

bleibt zurück. Plattenversuche hatten dasselbe Resultat, also einen explosionsartigen Abbau des Glykogens. Die Fehlingsproben, die wir zu verschiedenen Zeiten nach dem Zusatz von Glykogen (z. B. nach 15 Min., 35 Min. und 5 Std.) vornahmen, waren stets positiv; Phenylhydrazinproben, die wir gleichzeitig ansetzten, dagegen negativ. Das deutet entsprechend den Amyloseversuchen auf einen Abbau des Glykogens durch die Speicheldrüsen bis zu Achroodextrinen am Ende der Versuchsdauer.

Protokoll 47.

(Extrakt der Malp. Gef.)

Schaben. Glykogen.

nach 1 Std.	Jodprobe:	braun
$5^1/_2$ „	„	„
$22^1/_2$ „	„	„
$70^1/_2$ „	„	hellbraun
94 „	„	„
118 „	„	„
126 „	Fehlings-probe:	—

Protokoll 48.

(Extrakt der Malp. Gef.)

Schaben. Glykogen.

nach $^1/_4$ Std.	Jodprobe:	braun
$17^1/_2$ „	„	„
42 „	„	„
$65^1/_2$ „	„	hellbraun
$89^1/_2$ „	„	„
$89^1/_2$ „	Fehlings-probe:	—

Protokoll 49.

(Kropfextrakt)

Schaben. Glykogen.

nach 1 Std.	Jodprobe:	achromisch
1 „	Zusatz von Glykogen	0,2 ccm
$4^1/_2$ „	Jodprobe:	achromisch
5 „	Fehlings-probe:	+++
5 „	Phenylhydr.-probe:	+++

Protokoll 50.

(Enddarmextrakt)

Schaben. Glykogen.

nach 1 Std.	Jodprobe:	achromisch
1 „	Zusatz von Glykogen	0,2 ccm
$4^1/_2$ „	Jodprobe:	achromisch
5 „	Fehlings-probe	+++
5 „	Phenylhydr.-probe:	+++

Der Darm baute in seinem ganzen Verlaufe Glykogen ab, für den Kropf vgl. Prot. 49, für den Enddarm Prot. 50. Für den Mitteldarm bewiesen die negativen Jodproben den Abbau, ebenso die Fehlingsproben, die aber wegen der Darmfarbe und des Darmeiweißes nicht immer eindeutig waren. Phenylhydrazinproben, die z. B. nach $^3/_4$ Std. und nach 3 Std. angesetzt wurden, fielen negativ aus, das deutet auf einen Abbau zu Achroodextrinen bis zu dieser Zeit.

Der Fettkörperextrakt gab zuletzt mit Jod immer ein negatives Resultat, mit Fehlings Lösung aber ebenfalls (vgl. Prot. 51 und 52).

Protokoll 51.
(Fettkörperextrakt)
Schaben. Glykogen.

nach 1 Std.	Jodprobe:	braun
$5^1/_2$ „	„	„
$22^1/_2$ „	„	hellbraun
$70^1/_2$ „	„	achromisch
$70^1/_2$ „	Fehlingsprobe:	—

Protokoll 52.
(Fettkörperextrakt)
Schaben. Glykogen.

nach 30 Min.	Jodprobe:	braun
40 „	Fehlingsprobe:	—
18 Std.	Jodprobe:	braun
$41^1/_2$ „	„	hellbraun
68 „	„	achromisch

Die Kontrolle (1 ccm aq. dest. + 0,2 ccm Glykogenlösung) färbte sich mit Jod immer braun und gab stets negative Fehlingsproben.

Glykogen wird demnach bei den Schaben von Speicheldrüsen und Darm abgebaut, nicht dagegen von den Malpighischen Gefäßen. Der Abbau durch den Fettkörper ist fraglich. Aus der ganzen Versuchsreihe (vgl. Prot. 53) geht hervor, daß die Speicheldrüsen das Glykogen am schnellsten verdauen, dann folgt der Darm, zuletzt wirkt, wenn überhaupt, der Fettkörper. Die hellbraune Jodglykogenfarbe bei dem Extrakt der Malpighischen Gefäße müssen wir in demselben Sinne erklären wie die violette Farbe bei der Amylose und der löslichen Stärke (vgl. p. 176).

Protokoll 53.
Schaben. Glykogen.

Zeit:		Extrakte von						
		Mal. Gef.	Speicheldr.	Kropf	Mitteldarm	Enddarm	Fettkörp.	Kontr
nach 10 Min.	Jodprobe:		achrom.		hellbraun			brau
10 „	Zusatz von Glykogen		0,2 ccm					
15 „	Jodprobe:			hellbraun		hellbraun		
20 „	„		achrom.		hellbraun			
25 „	„			achrom.	achrom.	achrom.		
25 „	Fehlingsprobe:		+++					
30 „	Jodprobe:	braun					braun	brau
30 „	Fehlingsprobe:			+++	++			
35 „	„					+++		
35 „	Zusatz von Glykogen:				0,2 ccm			
40 „	Fehlingsprobe:						—	—
45 „	Phenylh. angesetzt:		×					
1 Std.	„			×				
$1^1/_4$ „	„				×			
2 „	Ergebnis der Phenylh.:		—	—	—			
18 „	Jodprobe:	braun					braun	brau
$41^1/_2$ „	„						hellbraun	„
68 „	„						achrom.	„

β) Raupen.

Die Malpighischen Gefäße der Raupen bauen Glykogen ebensowenig ab wie die der Schaben (vgl. Prot. 54 und 55).

Negative Jod- und positive Fehlingsproben bewiesen den Abbau von Glykogen im Darm. Da bei den Phenylhydrazinproben keine Glukosazone entstanden, wurde also der Abbau bis zum Ende unseres Versuches nicht bis zu den Monosacchariden durchgeführt.

Der Fettkörperextrakt gelangte bei den Jodproben bis zum achromischen Punkt, wenn auch nicht immer (vgl. Prot. 56 und 57). Das Ergebnis der Fehlingsproben war zweifelhaft, sodaß der Abbau ebenso fraglich ist wie beim Fettkörper der Schaben.

Protokoll 54.
(Extrakt der Malp. Gef.)
Raupen. Glykogen.

nach 4 Std.	Jodprobe:	braun
6 „	„	„
22 „	„	„
31 „	„	„
48 „	„	„
71 „	„	„

Protokoll 55.
(Extrakt der Malp. Gef.)
Raupen. Glykogen.

nach 16½ Std.	Jodprobe:	braun
41 „	„	„
46 „	Phenylhydr. angesetzt	
47 „	Ergebnis der Phenylhydr.:	—
66½ „	Jodprobe:	braun
66½ „	Fehlingsprobe:	—

Protokoll 56.
(Fettkörperextrakt)
Raupen. Glykogen.

nach 15 Std.	Jodprobe:	braun
22 „	„	„
41 „	„	„
111 „	„	hellbraun

Protokoll 57.
(Fettkörperextrakt)
Raupen. Glykogen)

nach 16½ Std.	Jodprobe:	braun
41 „	„	hellbraun
66½ „	„	fast achromisch
66½ „	Fehlingsprobe:	+ (?)

Bei dem Spinndrüsenextrakt verschwand der braune Farbton mit Jod nach und nach. Die Flüssigkeit wurde achromisch. Die Zuckerproben (Fehlings und Phenylhydrazin) blieben aber stets negativ (vgl. Prot. 58 und 59).

Die Lymphe baut Glykogen bis zur Glukose ab. Die Jodproben waren wieder wegen der Eigenfarbe der Versuchsflüssigkeit sehr schlecht zu deuten. Dagegen hatten die Zuckerproben (Fehlings und Phenylhydrazin) immer ein unzweifelhaft positives Ergebnis (vgl. Prot. 60 und 61).

Protokoll 58.
(Spinndrüsenextrakt)
Raupen. Glykogen.

nach 4 Std.	Jodprobe:	braun
6 „	„	„
22 „	„	„
31 „	„	hellbraun
48 „	„	fast achromisch
71 „	„	„
71 „	Fehlings-probe:	violetter Farbton: —

Protokoll 59.
(Spinndrüsenextrakt)
Raupen. Glykogen.

nach $22^1/_2$ Std.	Jodprobe:	hellbraun fast achromisch
$46^1/_2$ „	„	„
$46^1/_2$ „	Fehlings-probe:	violetter Farbton —
$46^1/_2$ „	Phenylhy. angesetzt	
$47^1/_2$ „	Ergebnis d. Phenylh.:	—

Protokoll 60.
(Lymphextrakt)
Raupen. Glykogen.

nach 4 Std.	Jodprobe:	anscheinend fast achromisch
4 „	Fehlings-probe:	—
22 „	Jodprobe:	anscheinend achromisch
31 „	„	„
48 „	„	achromisch
71 „	Fehlings-probe:	+++

Protokoll 61.
(Lymphextrakt)
Raupen. Glykogen.

nach 16 Std.	Jodprobe:	anscheinend braun
42 „	„	„
42 „	Fehlings-probe:	++
$46^1/_2$ „	Phenylh. angesetzt	
$47^1/_4$ „	Ergebnis der Phenylh.:	+ Glukosazone

Die Kontrolle (1 ccm aq. dest. + 0,2 ccm Glykogenlösung) war mit Jod immer braun und gab stets negative Zuckerproben (Fehlings und Phenylhydrazin).

Nach unseren Versuchen bauen Darm und Lymphe von Raupen das Glykogen ab, und zwar der Darm am schnellsten. Die Malpighischen Gefäße greifen das Glykogen nicht an. Eine Verdauung dieses Substrats durch den Fettkörper ist wahrscheinlich, konnte aber nicht einwandfrei nachgewiesen werden, dasselbe können wir auch von den Spinndrüsen sagen.

2. Maltase

α) Schaben.

Der Abbau des Malzzuckers wurde an Hand von Phenylhydrazinproben festgestellt. Wir bezeichneten dabei eine Zuckerprobe als positiv, d. h. wir stellten einen Abbau von Maltase fest, wenn nach $^1/_2$ Std. in der Hitze Glukosazone ausfielen (vgl. p. 173).

Mit dem Extrakte der Malpighischen Gefäße hatten wir in keinem Falle ein positives Ergebnis. Wir kontrollierten ihn nach $3^3/_4$, $4^1/_2$, $28^1/_2$, $44^1/_4$ und $63^3/_4$ Std.

Die Speicheldrüsen zeigten keine große Wirkung auf Maltose. Phenylhydrazinproben, die nach $3^3/_4$, $4^1/_2$ und $44^1/_4$ Std. angesetzt wurden, hatten ein negatives Resultat. Erst eine Probe nach $63^3/_4$ Std. war positiv. Werfen wir an dieser Stelle noch einmal einen Blick auf die Ergebnisse der Stärkedervauung, so sehen wir, daß die Speicheldrüsen an erster Stelle ein starkes diastatisches Ferment enthalten, das die Stärke in wenigen Minuten zu Achroodextrinen abbaut. Auf dieser Stufe bleibt die Reaktion lange Zeit stehen. Nach 20 Std. war noch keine Maltose nachzweisen. Das deutet, wie auch unsere Maltoseversuche zeigen, darauf hin, daß mit der Spaltung bis zu Achroodextrinen die Aufgabe des Speichelsekretes erfüllt ist. Der weitere Abbau geschieht, was man aus unseren Stärkeversuchen schließen könnte, wohl durch die Mitteldarmfermente. Wir werden diese Frage, wie schon erwähnt, im Schlußkapitel noch einmal wieder aufnehmen. Für die Annahme, daß Mitteldarmsekrete in den Vorderdarm gelangen können, scheinen auch unsere Maltoseabbauversuche mit den Darmextrakten zu sprechen.

Der Darm spaltet in seinem ganzen Verlaufe den Malzzucker. Mit den Extrakten aller drei Darmabschnitte, also mit Kropf-, Mitteldarm- und Enddarmauszügen, erhielten wir positive Ergebnisse nach $3^3/_4$, 4, $4^1/_2$, $28^1/_2$ und $63^3/_4$ Std.

Die Fähigkeit des Fettkörpers, Maltose zu spalten, bewiesen positive Phenylhydrazinproben, die nach 4, $4^1/_2$, $28^1/_2$ und $63^3/_4$ Std. beobachtet wurden. Die Kontrolle wies niemals Glukosazone auf.

Protokoll 62.

Schaben. Maltose.

Die Extrakte wurd. kontrolliert nach:	Die Phenylhydrazinprobe war bei:						
	Mal. Gef.	Speicheldrüsen	Kropf	Mitteldarm	Enddarm	Fettkörper	Kontrolle
4 Std.			+++	+++	+++	++	—
$4^1/_2$ „	—	—	+++	+++	+++	+++	—
$44^1/_4$ „	—	—					—
$63^3/_4$ „	—	++	+++	+++	+++	+++	—

Nach unsern Versuchen spalten Darm und Fettkörper der Schaben Malzzucker, die Malpighischen Gefäße dagegen nicht. Der Abbau durch die Speicheldrüsen nach $63^3/_4$ Std. beruht unserer Meinung nach nicht auf Fermentwirkung. Vielleicht handelt es sich auch hierbei um chemische Veränderungen des Mediums im Sinne des auf p. 176 von der Andauung durch die Malpighischen Gefäße Gesagten. Aus Protokoll 62 geht hervor, daß der Darm die Maltase am schnellsten spaltet, daß aber die Wirkung des Fettkörpers auf Malzzucker der des Darmes ungefähr gleich kommt.

β) Raupen.

Der Malzzucker wird von den Malpighischen Gefäßen der Raupen nicht abgebaut. Das beweisen negative Phenylhydrazinproben, die nach $5^1/_2$, $21^3/_4$, $45^3/_4$ und $69^3/_4$ Std. angesetzt wurden.

Phenylhydrazinproben nach $4^1/_2$, $5^1/_2$, $45^3/_4$, $69^3/_4$ und 71 Std. ergaben, daß der Darm Maltase enthält.

Ebenso ließen positive Zuckerproben nach $4^1/_2$, $21^3/_4$ und 71 Std. erkennen, daß Malzzucker unter Einwirkung des Fettkörpers zersetzt wird.

Die Spinndrüsen enthalten dagegen keine Maltase, was Phenylhydrazinproben lehrten, die wir nach $5^1/_2$, $21^3/_4$, $45^3/_4$, $69^3/_4$ und 70 Std. ansetzten.

Die Lymphe wirkt auf Malzzucker zersetzend, das zeigten positive Phenylhydrazinproben nach $4^1/_2$, $21^3/_4$, $45^3/_4$, $69^3/_4$ und 70 Std.

In den Kontrollen (1 ccm aq. dest. + 0,2 ccm Maltoselösung) fanden sich niemals Glukosazone.

Bei den Raupen spalten demnach Darm, Fettkörper und Lymphe den Malzzucker, nicht aber die Malpighischen Gefäße und die Spinndrüsen. Aus der Versuchsreihe (vgl. Prot. 63) folgt, daß Maltose am stärksten vom Darm abgebaut wird. Dann folgen Fettkörper und Lymphe.

Protokoll 63.

Raupen. Maltose.

Die Extrakte wurden kontrolliert nach:	Malp.Gef.	Die Phenylhydrazinprobe war bei: Darm	Fettkörp.	Spinndr.	Lymphe	Kontrolle
$5^1/_2$ Std.	—	+++	—	—	—	—
$21^3/_4$ „	—		+++	—	+++	—
$45^3/_3$ „	—	+++		—	+++	—
$69^3/_4$ „	—	++		—	++	—

3. Saccharase.

α) Schaben.

Der Extrakt der Malpighischen Gefäße der Schaben war ohne Wirkung auf Rohrzucker. Fehlings- wie Phenylhydrazinproben waren stets negativ (vgl. Prot. 64, 65 und 66).

Die Speicheldrüsen bauten Saccharose ab (vgl. Prot. 67 und 68).

Der Darm wirkte in allen Teilen abbauend auf Rohrzucker. Wie bei den Speicheldrüsen, so waren bei Kropf, Mitteldarm und Enddarm die Zuckerproben (Fehlings- und Phenylhydrazin) positiv. Über den Kropf vgl. Prot. 69, den Mitteldarm Prot. 70, den Enddarm Prot. 71 und 72.

Vom Fettkörper wurde Rohrzucker ebenfalls abgebaut (vgl. Prot. 73 und 74).

Protokoll 64.

(Extrakt der Malp. Gef.)
Schaben. Saccharose.

nach:		
$41^1/_2$ Std.	Fehlingsprobe:	—
66 „	„	—
$96^1/_2$ „	„	—
$97^1/_4$ „	Phenylhyd.-probe:	—

Protokoll 65.

(Extrakt der Malp. Gef.)
Schaben. Saccharose.

nach:		
1 Std.	Fehlingsprobe:	—
$41^1/_2$ „	„	—
72 „	„	—
$72^3/_4$ „	Phenylhyd.-probe:	—

Protokoll 66.

(Extrakt der Malp. Gef.)

Schaben. Saccharose.

nach:		
35 Min.	Fehlingsprobe:	—
15 Std.	„	—
39 „	„	—

Protokoll 67.

(Speicheldrüsenextrakt)

Schaben. Saccharose.

nach:		
2 Std.	Fehlingsprobe:	+++
2 „	Zusatz von Rohrzucker:	0,2 ccm
6 „	Phenylhyd.-probe:	+++

Protokoll 68.

(Speicheldrüsenextrakt)

Schaben. Saccharose.

nach:		
15 Min.	Fehlingsprobe:	—
45 „	„	—
45 „	Zusatz von Rohrzucker:	1 ccm
15 Std.	Fehlingsprobe:	+++
15 „	Zusatz von Rohrzucker:	1 ccm
40 „	Fehlingsprobe:	+++
$40^1/_4$ „	Phenylhyd.-probe:	+++

Protokoll 69.

(Kropfextrakt)

Schaben. Saccharose.

nach:		
5 Min.	Fehlingsprobe:	+
20 „	Zusatz von Rohrzucker:	0,3 ccm
45 „	Phenylhyd.-probe:	+

Die Kontrolle gab stets negative Fehlings- und Phenylhydrazinproben. Blieben die Proben zwei Stunden und länger im heißen Wasserbad, so wurde der Rohrzucker invertiert, sodaß Glukosazone ausfielen. Am Tage nach dem Kochen waren manchmal Glukosazone in den vorher kristallfreien Flüssigkeiten vorhanden. Wir sahen deshalb eine Phenylhydrazinprobe nur dann als positiv an, wenn die Glukosazone nach $^1/_2$ bis höchstens $1^1/_2$ Std. auskristallisierten.

Protokoll 70.

(Mitteldarmextrakt)

Schaben. Saccharose.

nach:		
5 Min.	Fehlingsprobe:	+++
15 „	Zusatz von Rohrzucker:	0,3 ccm
1 Std.	Fehlingsprobe:	+++
$1^1/_4$ „	Phenylhyd.-probe:	+++

Protokoll 71.

(Enddarmextrakt)

Schaben. Saccharose.

nach:		
10 Min.	Fehlingsprobe:	—
15 „	„	—
30 „	„	—
45 „	„	—
45 „	Phenylhyd.-probe:	—

Protokoll 72.
(Enddarmextrakt)
Schaben. Saccharose.

nach:		
1 Std.	Fehlingsprobe:	+
$1^1/_2$ „	Phenylhyd.-probe:	+++

Protokoll 73.
(Fettkörperextrakt)
Schaben. Saccharose.

nach:		
1 Std.	Fehlingsprobe:	++
$1^1/_4$ „	Phenylhyd.-probe:	+

Protokoll 74.
(Fettkörperextrakt)
Schaben. Saccharose.

nach:		
2 Std.	Fehlingsprobe:	—
$5^1/_2$ „	„	++
6 „	Phenylhyd.-probe:	++

Rohrzucker wird nach unseren Versuchen verdaut von Speicheldrüsen, Darm und Fettkörper der Schaben, nicht aber von den Malpighischen Gefäßen. Durch Vergleich einer ganzen Versuchsreihe (vgl. Prot. 75) ergibt sich, daß der Mitteldarm den Rohrzucker am intensivsten abbaut. Dann folgt sogleich der Kropf, der in anderen Versuchen auch gleich stark mit dem Mitteldarm wirkt. In etwas weiterem Abstande kommen sodann der Enddarm und der Fettkörper und an letzter Stelle die Speicheldrüsen. In anderen Versuchen verdauen die Speicheldrüsen schneller als der Fettkörper.

Protokoll 75.
Schaben. Saccharose.

Zeit nach:		Extrakte von						
		Malp. Gef.	Speicheldrüsen	Kropf	Mitteldarm	Enddarm	Fettkörp.	Kontrolle
5 Min.	Fehlingsprobe:			—	+++			
10 „	„			—				
15 „	Zusatz von Rohrzucker:				0,3 ccm			
30 „	Fehlingsprobe:		—	+				
1 Std.	„	—	—	+	+++	+	++	—
$1^1/_4$ „	Phenylh.-probe:				+++		+	—
$1^1/_2$ „	„			+++		+++		
2 „	Fehlingsprobe:		—					
$2^3/_4$ „	„		+					
$17^1/_2$ „	„	—						
72 „	„	—						
$72^3/_4$ „	Phenylh.-probe:	—						—

β) Raupen.

Der Extrakt der Malpighischen Gefäße der Raupen griff den Rohrzucker ebensowenig an wie der der Schaben. Alle Fehlingsproben (nach 1, 6, $24^1/_2$, 48 und $71^1/_2$ Std.) wie Phenylhydrazinproben (nach $4^1/_2$, $23^1/_4$, 46 und $70^1/_4$ Std.) waren negativ.

Der Darmextrakt dagegen baute Rohrzucker ab. Fehlingsproben, die nach 1, 4, 6, $24^1/_2$, $28^3/_4$ und 48 Std. vorgenommen wurden, waren positiv, ebenso die Phenylhydrazinproben, die wir nach $4^1/_2$, $23^3/_4$ und 46 Std. ansetzten.

Der Fettkörper zerstörte den Rohrzucker ebenfalls. Die Zuckerproben (Fehlings und Phenylhydrazin), die nach weniger als 46 Std. gemacht wurden, fielen negativ aus. Dagegen wiesen Phenylhyrazinproben, die nach 46 und 70 Std. angesetzt wurden, Glukosazone auf.

Die Spinndrüsen hatten bei den Fehlingsproben einen auffällig starken Kupferniederschlag, sodaß wir uns veranlaßt sahen, sämtliche Extrakte einmal auf ihre Reduktionsfähigkeit hin zu prüfen. Eine *Macrothylacia rubi*, die drei Tage gehungert hatte, wurde präpariert unter Zusatz von 0,5 ccm aq. dest. zu jedem Extrakt. Eine halbe Stunde nach der Präparation wurde mit jeder Versuchsflüssigkeit die Fehlingsprobe gemacht, die in allen Proben negativ war. Die Spinndrüsen der Raupen enthalten demnach eine sehr lebhaft wirkende Saccharase. Das zeigten auch die Phenylhydrazinproben, die wie die Fehlingsproben zu verschiedenen Zeiten zwischen 1 und 70 Std. angestellt wurden und immer ein positives Resultat hatten.

Nicht so klar konnten wir ein Invertin in der Lymphe der Raupen nachweisen. Die Fehlingsproben versagten wegen der Eigenfarbe der Versuchsflüssigkeit, die immer einen schwärzlichen Ton behielt, und wegen des großen Gehaltes an Eiweiß, das beim Kochen ausflockte. Nur einmal (nach 48 Std.) konnten wir einen gelben Kupferniederschlag deutlich erkennen. Die Phenylhydrazinproben fielen immer negativ aus. Nur bei einer Probe, die nach 70 Std. gemacht wurde, zeigten sich Glukosazone. Wahrscheinlich baut die Lymphe, wenn überhaupt, Rohrzucker nur sehr langsam ab.

Bei der Kontrolle (0,5 ccm aq. dest. + 0,2 ccm Rohrzuckerlösung) waren die Zuckerproben (Fehlings und Phenylhydrazin) stets negativ.

Nach unseren Versuchen wird Rohrzucker bei den Raupen abgebaut von Darm, Fettkörper und Spinndrüsen, vielleicht auch von der Lymphe, nicht aber von den Malpighischen Gefäßen. Aus der Zusammenstellung der Versuchsreihen (vgl. Prot. 76) geht hervor, daß in erster Linie Darm und Spinndrüsen eine Saccharase enthalten. Der Fettkörper hat nur eine äußerst schwache Wirkung auf Rohrzucker. Das Vorhandensein von Invertin in der Lymphe ist fraglich. Die Malpighischen Gefäße sind auf Rohrzucker ohne Einfluß.

Protokoll 76.

Raupen. Saccharose.

Zeit nach		Extrakte von Malp.Gef.	Darm	Fettkörp.	Spinndr.	Lymphe	Kontrolle
1 Std.	Fehlingsprobe:	—	+++	—	+++	?	—
4 „	„	—	+++	—		?	—
$4^1/_2$ „	Phenylh.-probe:	—	+++	—	+++	—	—
6 „	Fehlingsprobe:	—	+++	—	+++	?	—
$23^1/_4$ „	Phenylh.-probe:	—	+++	—	+++	—	—
24 „	Fehlingsprobe:	—	?			?	—
$24^1/_2$ „	„	—	+++	—	+++	?	—
46 „	Phenylh.-probe:	—	++	++	+++	—	—
48 „	Fehlingsprobe:	—	+++	—	+++	+++	—
70 „	Phenylh.-probe:	—				—	—
$70^1/_4$ „	„	—					
$71^1/_2$ „	Fehlingsprobe:	—		+++	+++	++	—
					+++	?	—

4. Laktase.

α) Schaben.

Der Milchzuckerabbau wurde kontrolliert durch Barfoods Reagens und durch Phenylhydrazinproben. Barfoods Reagens (6,6-prozentige Kupferazetatlösung und einige Tropfen 38-prozentiger Essigsäure) wird von Glukose reduziert, nicht dagegen von Laktose. Die Phenylhydrazinproben wurden positiv (+) genannt, wenn nach ungefähr $^1/_2$ Std. Glukosazone in der Hitze ausfielen. Durch beide Proben wurde nachgewiesen, daß Milchzucker weder von den Malpighischen Gefäßen noch von Kropf, Enddarm, Fettkörper oder Speicheldrüsen der Schaben angegriffen wird. Auch der Mitteldarm enthält nach unserer Meinung keine Laktase. Phenylhydrazinproben, die nach $40^1/_4$ und 72 Std. mit Mitteldarmextrakten angesetzt wurden, zeigten Glukosazone. Doch ist ein Abbau, der erst nach so langer Zeit festzustellen ist, wohl nicht mehr als Fermentwirkung zu bezeichnen, sondern vielleicht auf Kosten chemischer Veränderungen des Präparates zu setzen (vgl. p. 176).

Die Kontrolle (1 ccm aq. dest. + 0,2 ccm Milchzuckerlösung) war immer unverändert. Nach mehreren Stunden zeigten sich in der Hitze lösliche Laktosazone.

Die Schaben besitzen nach unsern Versuchen keine Laktase (vgl. Prot. 77, 78, 79 und 80).

Protokoll 77.

Schaben. Laktose.

Zeit nach:		Extrakte von Mal. Gef.	Speicheldr.	Kropf	Mitteldarm	Enddarm	Fettkörper	Kontrolle
23 Std.	Phenylh.-probe anges.		×		×	×	×	×
$24^3/_4$ „	Ergebnis der Phenylh.:		—		—	—	—	—
$25^1/_4$ „	„		— (Laktosaz.)		— (Laktosaz.)	— (Laktosaz.)	— (Laktosaz.)	— (Laktosaz.)

Protokoll 78.

Schaben. Laktose.

Zeit nach:		Extrakte von Mal. Gef.	Speicheldr.	Kropf	Mitteldarm	Enddarm	Fettkörper	Kontrolle
$^1/_2$ Std.	Probe mit Barfoods Reagens:				—			
1 „	„				—			
$1^1/_2$ „	„			—				
2 „	„				—			
5 „	„	—		—	—			
$6^1/_2$ „	Phenylh.-Probe anges.:	×		×	×	×		×
$7^1/_2$ „	Ergebnis d. Phenylh.:	—		—	—	—		—
$8^1/_4$ „	„	—		—	—	—		—
22 „	„	— (Laktosaz.)		— (Laktosaz.)	— (Laktosaz.)	— (Laktosaz.)		— (Laktosaz.)

Protokoll 79.

Schaben. Laktose.

Zeit nach		Extrakte von Malp. Gef.	Speicheldr.	Kropf	Mitteld.	Enddarm	Fettkörp.	Kontrolle
$40^1/_4$ Std.	Phenylh. angesetzt	×	×	×	×	×	×	×
$40^3/_4$ „	Ergebn. d. Phenylh.:	—	—	—	—	—	—	—
$41^1/_2$ „	„	— (Laktos.)			einzelne Glukosoz.			— (Laktos.)
42 „	„	—	—	—	+++	—	—	—
66 „	„	— (Laktos.)	— (Laktos.)	— (Laktos.)	+++	— (Laktos.)	— (Laktos.)	— (Laktos.)

β) Raupen.

Die Milchzuckerversuche mit den Raupen stimmen vollkommen mit den Untersuchungen an Schaben überein (vgl. Prot. 81, 82 und 83). Auch hier zeigte nur der Darm, und zwar erst nach zwei Tagen, Glukosazone. Es kommt also auch den Raupen die Fähigkeit, Laktose abzubauen, nicht zu.

Protokoll 80.

Schaben. Laktose.

Zeit nach		Extrakte von Malp.Gef.	Speicheldr.	Kropf	Mitteldarm	Enddarm	Fettkörp.	Kontrolle
72 Std.	Phenylh. angesetzt	×	×	×	×	×	×	×
72½ „	Ergebnis:				—			
73 „	„				Beginn d. Auskristallisierens.			—
73¼ „	„	—	—	—	einz. Glukosaz.	—	—	—
74 „	„	—	—	—	+++	—	—	—
89 „	„	—	—	—	+++	—	—	—
		(Laktos.)	(Laktos.)	(Laktos.)	(Glukosaz.)	(Laktos.)	(Laktos.)	(Laktos.)

Protokoll 81.

Raupen. Laktose.

Zeit nach		Extrakte von Malp.Gef.	Darm	Fettkörp.	Spinndr.	Lymphe	Kontrolle
4½ Std.	Phenylh. angesetzt	×	×	×	×	×	×
7 „	Ergebn. d. Phenylh.:	— (Laktosaz.)	— (Laktosaz.)	— (Laktosaz.)	— (Laktosaz.)	— (Laktosaz.)	— (Laktosaz)

5. Glykosidase (Arbutinase).

Die Schaben untersuchten wir auf ihre Fähigkeit, Glykoside zu spalten. Wir wählten Arbutin, das Fehlings Lösung nicht reduzierte und mit Phenylhydrazin keine Osozone gab.

Protokoll 82.

Raupen. Laktose.

Zeit nach:		Extrakte von Malp. Gef.	Darm	Fettkörper	Spinndrüs.	Lymphe	Kontrolle
46¼ Std.	Phenylh. angesetzt:	×	×	×	×	×	×
47 „	Ergebnis d. Phenylh.:		Beginn des Auskristallis.				—
47¼ „	„		„				
47½ „	„	— (Laktosaz.)	+++ (Glukosaz.)	— (Laktosaz.)	— (Laktosaz.)	— (Laktosaz.)	(Laktosaz.)

Protokoll 83.

Raupen. Laktose.

Zeit nach:		Extrakte von Malp. Gef.	Darm	Fettkörper	Spinndrüs.	Lymphe	Kontrolle
69½ Std.	Phenylh. angesetzt	×	×	×	×	×	×
70 „	Ergebnis der Phenylh.:		Beginn des Auskristallis.				—
70½ „	„	—	„	—	—	—	—
70¾ „	„	— (Laktosaz.)	„	— (Laktosaz.)	— (Laktosaz.)	— (Laktosaz.)	— (Laktosaz.)
71 „			+++ (Glukosaz.)				

Die Versuche mit Arbutin ergaben, daß die Malpighischen Gefäße selbst auf dieses leicht zersetzliche Substrat keine Wirkung ausüben (vgl. Prot. 84, 85, 86 und 87).

Auch die Speicheldrüsen enthalten keine Glykosidase. Fehlingsproben nach 5½, 15, 21¾, 30, 39½, 46, 54½ und 95 Std.; sowie Phenylhydrazinproben nach 6¼ und 40 Std. waren negativ.

Der Darm baute in allen Teilen das Arbutin ab, was positive Fehlings- und Phenylhydrazinproben zeigten.

Ebenso spaltete der Fettkörper das Arbutin, was aus positiven Fehlingsproben nach 5½ und 95 Std. und eben solchen Phenylhydrazinproben nach 6¼ und 40 Std. hervorging.

Die Kontrolle (1 ccm aq. dest. + 0,2 ccm Arbutinlösung) war stets negativ.

Arbutin wird demnach abgebaut von Kropf, Mitteldarm, Enddarm und Fettkörper der Schaben, nicht aber von den Speicheldrüsen und den Malpighischen Gefäßen.

Protokoll 84.

(Extrakt der Malp. Gef.)

Schaben. Arbutin.

nach 5½ Std.	Fehlingsprobe:	—
6¼ „	Phenylhydr.-probe:	—

Protokoll 85.

(Extrakt der Malp. Gef.)

Schaben. Arbutin.

nach 95 Std.	Fehlingsprobe:	—

Protokoll 86.

(Extrakt der Malp. Gef.)

Schaben. Arbutin.

nach 15 Std.	Fehlingsprobe:	—
39½ „	„	—
40 „	Phenylhydr.-probe:	—

Protokoll 87.

(Extrakt der Malp. Gef.)

Schaben. Arbutin.

nach 21¾ Std.	Fehlingsprobe:	—
30 „	„	—
46 „	„	—
54½ „	„	—

6. Zellulase.

Eine Zellulase konnten wir weder bei Schaben noch bei Raupen nachweisen. Die Mandelschnitte, die wir der Wirkung der Versuchsflüssigkeiten unterwarfen, blieben stets unverändert. Wir weisen auf die mit unsern übereinstimmenden Versuche von Biedermann (13, 14) hin. Danach wird der Inhalt pflanzlicher Zellen vollkommen ausverdaut, ohne daß die Zellulosemembranen angegriffen werden, durch die die wirksamen Bestandteile des Verdauungssaftes diffundieren sollen.

VI. Eiweißspaltende Fermente.

Schwieriger als bei den Digestionsversuchen mit Kohlehydraten lagen die Verhältnisse bei Eiweißstoffen und Fetten. Bei der Beschaffenheit unserer Versuchsflüssigkeiten fand sich schwer eine geeignete Methode zum Nachweis der Spaltung der Eiweißkörper. Eine Unterscheidung der verschiedenen proteolytischen Fermente (Pepsin, Trypsin, Erepsin) kam für uns nicht in Frage. Es genügte im allgemeinen festzustellen, ob in den einzelnen Gewebsextrakten überhaupt Proteasen vorhanden sind oder nicht. Für solche Fälle empfiehlt Abderhalden (1) die Anwendung von Seidenpepton oder die Kaseinmethode.

Die Seidenpeptonmethode, bei der es sich darum handelt, die bei der Spaltung von Pepton entstehenden Tyrosinkristalle nachzuweisen, konnten wir nicht anwenden, da das von Abderhalden (3 und 4) empfohlene Pepton-La Roche zurzeit nicht mehr hergestellt wird. Die Versuche mit Witte-Pepton hatten keine einwandfreien Ergebnisse. Auch Hirsch (46) hält die Seidenpeptonmethode zum Nachweis einer besonders lokalisierten und überschüssigen Protease in Verdauungsdrüsen nicht für brauchbar.

Ebenso erwies sich die Kaseinmethode als ungeeignet. Es handelt sich hierbei darum nachzuweisen, ob unter der Einwirkung der Versuchsflüssigkeiten das Kasein mit Essigsäure noch auszufällen ist oder nicht. Fällt kein Kasein mehr aus, so hat ein eiweißspaltendes Ferment gewirkt, das in dem Extrakt vorhanden sein muß. Um diese Methode benutzen zu können, muß die Fermentlösung möglichst klar sein. Daran scheiterten unsere Versuche, denn auch die filtrierten Extrakte von Darm und Fettkörper waren stark getrübt.

Aus demselben Grunde konnten wir auch die bei Abderhalden (1) angegebenen Ricin- und Edestinmethoden nicht verwenden. Eine Klärung der Fermentlösung durch Zusatz von Kaolin, was Abderhalden (1) für stärkere Pepsinlösungen (1 g auf 50 ccm Flüssigkeit) vorschlägt, war bei unseren kleineren Fermentmengen nicht möglich.

Gorka stellte eine Verdauung von Fibrin im Mitteldarm von Käfern fest. Nach v. Fürth (37) scheint bemerkenswerterweise der Darmsaft von Raupen nicht imstande zu sein, gekochtes Fibrin oder koaguliertes Hühnereiweiß anzugreifen, während rohes Fibrin schnell

in Lösung geht. Wir konnten auch mit rohem, mit Ammoniakkarmin gefärbtem Fibrin keinen Abbau nachweisen.

Schließlich wurde eine Methode angewandt, die uns wenigstens zu einigermaßen sicheren Ergebnissen führte. Hirsch (46) benutzte ein wenig Muskelfleisch von einem Krebs oder Fisch, zerzupfte es, bis die Querstreifung unter dem Mikroskop deutlich sichtbar wurde, fügte dann etwas von der Verdauungsflüssigkeit und außerdem einen Tropfen Toluol hinzu und stellte das Ganze in eine feuchte Kammer. Nach einiger Zeit kontrollierte er durch mikroskopische Prüfung der quergestreiften Muskelfasern, ob das Muskeleiweiß angedaut war. Bei Anwendung dieser Methode stellten wir Extrakte in der früher angegebenen Weise her und ließen sie 24 Std. kühl stehen. Sodann töteten wir einen Frosch, brachten davon ein paar Muskelfasern auf Objektträger mit Hohlschliff und fügten von den Extrakten hinzu. Zur Desinfektion diente Tuluol, das mit der Versuchsflüssigkeit gemischt auf den Objektträger kam, ferner auch dem Wasser in der feuchten Kammer zugesetzt wurde. In Abständen von einigen Stunden wurden die Muskelfasern drei Tage hindurch unter dem Mikroskop beobachtet.

α) Schaben.

Unter dem Einfluß der Malpighischen Gefäße der Schaben blieb die Querstreifung in allen Versuchen stets gut erhalten, und die Fasern wurden niemals irgendwie verändert (vgl. Prot. 88, 89 und 90).

Extrakte aus allen Darmteilen zerstörten die Muskelfasern, für den Kropf vgl. Prot. 91 und 92, für den Mitteldarm vgl. Prot. 93 und 94 und für den Enddarm Prot. 95 und 96.

Protokoll 88.
(Extrakt der Malph. Gef.)
Schaben. Froschmuskel.

nach	
16 Std.	Querstreifung gut erhalten
40 „	„
63 „	„
87 „	„

Protokoll 89.
(Extrakt der Malph. Gef.)
Schaben. Froschmuskel.

nach	
19 Std.	Querstreifung gut erhalten
42 „	„
65 „	„
89 „	„

Protokoll 90.
(Extrakt der Malp. Gef.)
Schaben. Froschmuskel.

nach	
72 Std.	Querstreifung erhalten

Protokoll 91.
(Kropfextrakt)
Schaben. Froschmuskel.

nach	
72 Std.	Querstreifung zerstört

Protokoll 92.
(Kropfextrakt)
Schaben. Froschmuskel.

nach	
5 Std.	Querstreifung fast ganz erhalten
22 „	„
52 „	Querstreifung an einigen Stellen zerstört
69 „	„

Protokoll 93.
(Mitteldarmextrakt)
Schaben. Froschmuskel.

nach	
4 Std.	Querstreifung nur an ganz wenigen Stellen erhalten; die meisten Fasern zerfallen bei Berührung
23 „	Die Muskelfasern sind vollständig verdaut und zerfallen bei Berührung

Protokoll 94.
(Mitteldarmextrakt)
Schaben. Froschmuskel.

nach 19 Std.	Die Muskelfasern sind vollständig zersetzt und zerfallen bei Berührung

Protokoll 95.
(Enddarmextrakt)
Schaben. Froschmuskel.

nach 5 Std.	Querstreifung an wenigen Stellen zerstört
22 „	Querstreifung fast ganz zerstört
52 „	„
69 „	Querstreifung fast ganz zerstört; ein Teil der Fasern ist zerfallen

Unter dem Einfluß des Fettkörpers blieb die Querstreifung des Muskels auch nicht erhalten (vgl. Prot. 97 und 98).

Protokoll 96.
(Enddarmextrakt)
Schaben. Froschmuskel.

nach 19 Std.	Querstreifung teils zerstört, teils erhalten
42 „	„
65 „	Querstreifung nur noch an wenigen Stellen erhalten, ein Teil vollständig zerstört
89 „	„

Protokoll 97.
(Fettkörperextrakt)
Schaben. Froschmuskel.

nach 19 Std.	Querstreifung erhalten, nicht so gut wie bei den Malp. Gef.
42 „	„
65 „	Querstreifung fast ganz erhalten
89 „	Querstreifung teils zerstört, teils erhalten.

Protokoll 98.
(Fettkörperextrakt)
Schaben. Froschmuskel.

nach 5 Std.	Querstreifung an wenigen Stellen zerstört
22 „	Querstreifung teils zerstört, teils erhalten
52 „	„
69 „	„

Der Speicheldrüsenextrakt war ohne Wirkung auf die Muskelfasern. Die Protokolle sind dieselben wie bei dem Extrakt der Malpighischen Gefäße. Wir können damit die Ansicht von Kühne, Krukenberg und Biedermann bestätigen, die die Unfähigkeit des Speicheldrüsensekretes der Blattiden, auf Eiweißstoffe zu wirken, konstatierten (nach Deegener [30]), während nach Basch [8] das Sekret der Speicheldrüsen in mit Salzsäure angesäuertem Wasser Fibrin verdaut (was allerdings mit der Bildung löslicher Acidalbumine zusammenhängen kann).

Protokoll 99.

Schaben. Froschmuskel.

nach	Extrakte von						Kontrolle
	Malp. Gef.	Speicheldr.	Kropf	Mitteld.	Enddarm	Fettkörp.	(aq. dest.)
4 Std.	Querstr. gut erhalten.	Querstr. gut erhalten.	Querstr. erhalten	Querstr. nur a. ganz wenigen Stell. erh., d. meisten Faser. zerfall. bei Berührung.	Querstr. fast ganz erhalten, an einigen Stellen etwas zerstört.	Querstr. fast ganz erhalten, an einigen Stellen etwas zerstört.	Querstr. gut erhalten
23 „	„	„	Querstr. fast ganz erhalten.	vollständ. verdaut, Faser. zerfall. b. Berührung.	Querstr. fast überall zerstört.	Querstr. teils erhalten, teils zerstört.	„
45 „	Querstr. erhalten.	Querstr. erhalten.	Querstr. teils erhalten, teils zerstört.	„	„	„ (mehr erhalten als zerstört).	Querstr. erhalten
72 „	„	„	„		„ (weiter fortgeschritten).	Querstr. teils erhalt., teils zerstört.	„

In Kontrollversuchen mit physiologischer Kochsalzlösung blieben die Muskelfasern immer unverändert, während sie in aq. dest. etwas quollen. Die Querstreifung blieb aber auch in aq. dest. erhalten.

Eiweiß wird nach unsern Versuchen abgebaut von Darm und Fettkörper, nicht dagegen von den Malpighischen Gefäßen und den Speicheldrüsen. Aus Protokoll 99 geht hervor, daß der Mitteldarm das Eiweiß am stärksten angreift. Es folgen der Enddarm und dann erst der Kropf. Der Fettkörper zeigt nur eine schwache Wirkung auf Eiweiß. Da die Speicheldrüsen keine eiweißspaltende Kraft besitzen, könnte das Vorhandensein von Protease im Kropf wieder auf die schon mehrfach erwähnte Annahme führen, nach der die Mitteldarmsekrete, die auch in diesem Falle das im Kropf wirksame Ferment enthalten, in den Vorderdarm übertreten.

β) Raupen.

Bei den Raupen verhielten sich die Malpighischen Gefäße genau so wie bei den Schaben (vgl. Prot. 100 und 101).

Unter der Einwirkung des Darmextraktes wurde die Querstreifung der Muskelfasern zerstört (vgl. Prot. 102 und 103). Der Fettkörperextrakt griff die Querstreifung der Muskeln ebenfalls an (vgl. Prot. 104 und 105).

Die Spinndrüsenauszüge waren ohne jede Wirkung auf den Eiweißkörper (vgl. Prot. 106 und 107).

Die Lymphe zeigte abbauende Kraft (vgl. Prot. 108 und 109).

Für die Kontrollversuche gilt dasselbe wie für die bei den Schaben.

Aus den ganzen Versuchsreihen (vgl Prot. 110 und 111) ist zu schließen, daß der Darm das Eiweiß am besten verdaut. Die Lymphe zeigt ebenfalls eine starke Wirkung auf Eiweiß, der Fettkörper nur eine schwache. Die Spinndrüsen und die Malpighischen Gefäße sind ohne Einfluß auf diesen Eiweißkörper.

Protokoll 100.

(Extrakt der Malp. Gef.)

Raupen. Froschmuskel.

nach $17^1/_2$ Std.	Querstreifung gut erhalten
40 „	„
63 „	„
87 „	„

Protokoll 101.

(Extrakt der Malp. Gef.)

Raupen. Froschmuskel.

nach 16 Std.	Querstreifung gut erhalten
38 „	„
113 „	„

Protokoll 102.

(Darmextrakt)

Raupen. Froschmuskel.

nach $17^1/_2$ Std.	Querstreifung an einigen Stellen zerstört
40 „	Zerstörung weiter fortgeschritten
63 „	„
87 „	Querstreifung überall zerstört

Protokoll 103.

(Darmextrakt)

Raupen. Froschmuskel.

nach 21 Std.	Querstreifung fsst ganz zerstört, die Fasern zerfallen z. T. bei Berührung

Protokoll 104.

(Fettkörperextrakt)

Raupen. Froschmuskel.

nach $17^1/_2$ Std.	Querstreifung erhalten
40 „	„
63 „	Querstreifung fast ganz erhalten
87 „	Querstreifung an vielen Stellen zerstört

Protokoll 105.

(Fettkörperextrakt)

Raupen. Froschmuskel.

nach 16 Std.	Querstreifen fast ganz erhalten
38 „	Querstreifung an einigen Stellen zerstört
113 „	„

Protokoll 106.

(Spinndrüsenextrakt)

Raupen. Froschmuskel.

nach 21 Std.	Querstreifung gut erhalten
46 „	„

Protokoll 107.

(Spinndrüsenextrakt)

Raupen. Froschmuskel.

nach $17^1/_2$ Std.	Querstreifung gut erhalten
40 „	„
63 „	„
87 „	„

Protokoll 108.
(Lymphextrakt)
Raupen. Froschmuskel.

nach	
16 Std.	Querstreifung an einigen Stellen zerstört
38 „	Querstreifung teils erhalten, teils zerstört
113 „	„

Protokoll 109.
(Lymphextrakt)
Raupen. Froschmuskel.

nach	
17½ Std.	Querstreifung erhalten
40 „	Querstreifung z. T. zerstört
63 „	Querstreifung fast ganz erhalten
87 „	„

Protokoll 110.
Raupen. Froschmuskel.

Zeit nach	Extrakte von					Kontrolle (aq. dest.)
	Malp. Gef.	Darm	Fettkörp.	Spinndrüs.	Lymphe	
4 Std.	Querstr. gut erhalten	Querstr. gut erhalten	Querstr. erhalten	Querstr. gut erhalten	Querstr. an wenig. Stellen zerstört	Querstr. erhalten
21 „	„	Querstr. an einig. Stellen zerstört	„	„	„	„ (nur stark gequollen)
47 „	„	Querstr. teils erhalt., t. zerstört	Querstr. an einig. Stellen zerstört	„	Querstr. teils erhalt., t. zerstört	„
71 „	„	„	„	„	„	„

Protokoll 111.
Raupen. Froschmuskel.

Zeit nach:	Extrakte von					Kontrolle (phys. NaCl)
	Malp. Gef.	Darm	Fettkörper	Spinndrüs.	Lymphe	
17½ Std.	Querstr. gut erhalten	Querstr. an einigen Stellen zerstört	Querstr. erhalten	Querstr. gut erhalten	Querstr. erhalten	Querstr. gut erhalten
40 „	„	Zerstörung weiter fortgeschritten	Querstr. erhalten	„	Querstr. z. T. zerstört	„
63 „	„	Querstr. immer noch z. T. erhalt., Zerstörung weiter fortgeschritten	Querstr. fast ganz erhalten	„	Querstr. fast ganz erhalten	„
87 „	Querstr. erhalten	Querstr. überall zerstört	Querstr. an viel. Stellen zerstört	Querstr. erhalten	„	Querstr. erhalten

VII. Fettspaltende Fermente.

Wie Gorka (39) und Biedermann (11) benutzten wir zum Nachweis der Fettverdauung als Substrat mit Lackmoidlösung blau gefärbte Vollmilch, die wir den wie zu den anderen Versuchen vorbereiteten Extrakten zusetzten. Bei Entstehung von Fettsäuren müssen die Versuchsflüssigkeiten eine rote Färbung annehmen. Bei den Extrakten

der Malpighischen Gefäße der Schaben blieb die blaue Farbe in allen Versuchen erhalten, auch in einem Versuche, den wir noch nach 142 Stunden kontrollierten.

Die Darmextrakte röteten sich alle nach einiger Zeit.

Unter dem Einfluß des Fettkörpers wurde die Flüssigkeit erst nach vielen Stunden nur eben merklich rot.

Die Speicheldrüsenextrakte blieben blau oder zeigten doch erst nach längerer Zeit Rötung, verhielten sich also ähnlich wie der Fettkörper.

Die Kontrollen (aq. dest. + Milch) blieben immer blau.

In allen sich rötenden Extrakten konnten wir wie Biedermann (11) die Absetzung einer roten Schicht über einen gelblichen beobachten.

Aus den Versuchsreihen (vgl. Prot. 112, 113 und 114) geht hervor, daß der Darm das Fett der Milch spaltet, und zwar am intensivsten der Mitteldarm, dann der Kropf und dann der Enddarm. Für den Fettkörper und die Speicheldrüsen glauben wir keine Fettspaltung annehmen zu können. Die Malpighischen Gefäße der Schaben sind ohne Einfluß auf Fett.

Protokoll 112.
Schaben. Vollmilch

nach	Extrakte von						Kontrolle
	Malp. Gef.	Speicheldr.	Kropf	Mitteld.	Enddarm	Fettkörp.	
15 Std.	blau	blau	blau	mehr rot als blau	etwas rötlich, mehr blau als rot	blau	blau
23 „	„	„	etwas rötlich	„	mehr rot als blau	„	„
42 „	„	sehr schwach rötlich	mehr rot als blau	rot	„	„	„
87 „	„	„	stärker rot als der Enddarm	„	„	„	„

Protokoll 113.
Schaben. Vollmilch.

nach	Extrakte von						Kontrolle
	Malp. Gef.	Speicheldr.	Kropf	Mitteld.	Enddarm	Fettkörp.	
3 Std.	blau	blau	blau	etwas rötlich	blau	blau	blau
5 „	„	„	„	mehr rot als blau	„	„	„
20 „	„	„	rötlich	fast rot	„	„	„
28 „	„	„	mehr rot als blau	rot	„	„	„
45 „	„		rot	„	Spur rötlich	blau (Spur rötl.)	„
51 „	„		„	„	„	„	„
69 „	„		„	„	„	„	„
77 „	„		„	„	rötlich	Spur rötlich	„
92 „	„		„	„	„	„	„

Für den Nachweis der Fettspaltung in den Raupenextrakten versagte die Methode mit der durch Lackmoidlösung blau gefärbten Vollmilch. Wie wir schon bei den Diastaseversuchen auseinandersetzten, sind kolorimetrische Methoden bei den stark gefärbten und immer noch nachdunkelnden Darm- und Lymphflüssigkeiten so gut wie unmöglich. Was wir durch unsere Milchversuche (an Raupen), die wir in verschiedenen Verdünnungen vornahmen, zeigen konnten, war nur das eine, für unser Problem aber wesentliche: Der Extrakt der Malpighischen Gefäße behielt stets die reine blaue Farbe, die Lackmoidlösung mit Milch annimmt. Ebenso blieben die Auszüge von Fettkörper und Spinndrüsen unverändert blau. Über Darm und Lymphe läßt sich aber auf Grund dieser Versuche wegen der Eigenfarbe der Extrakte nicht sagen, ob die blaue Farbe einen Umschlag ins Rote erfährt.

Protokoll 114.
Schaben. Vollmilch.

Zeit nach 1Std.	Extrakte von Malp. Gef. blau	Speicheldr. blau	Kropf blau	Mitteldarm blau (Spur rötlich)	Enddarm blau	Fettkörp. blau	Kontrolle blau
6	„	„	„	Spur rötlich	„	„	„
23	„	„	s. schwach rötlich	Spur rötlich	rötlich	„	„ (s. schw. rötlich)	„
29	„	„	„	rötlich	„	„	„	„
47	„	„	„	mehr rot als blau	mehr rot als blau	„ (s. schw. rötlich)	„	„
55	„	„	„	fast rot	fast rot	„	„	„
70	„	„	schwach rötlich	rot	rot	Spur rötlich	s. schwach rötlich	„
142	„	„	„	„	„	„	„	„

Die Tatsache, daß Diastase von Glas adsorbiert wird (vgl. Biedermann [15]), brachte uns auf den Gedanken festzustellen, ob man nicht auch die Lipase auf diese Weise rein erhalten könne. Wir hofften, dadurch die störende Färbung beseitigen zu können. Es wurde ein Vorversuch mit frisch vom Schlachthof bezogenem Pankreas gemacht, aus dem wir uns durch Zerschneiden, Zerreiben, 24-stündiges Extrahieren mit aq. dest. unter Toluolzusatz und darauf folgendes Filtrieren eine Flüssigkeit herstellten, die wir mit Glassplittern verrieben und 24 Std. stehen ließen. Darauf gossen wir den Extrakt ab und benutzten ihn zu Versuch I. Das destillierte Wasser, mit dem wir sodann die Glassplitter tüchtig durchspülten, wurde für Versuch II verwandt, die abgespülten Glassplitter schließlich zu Versuch III. Die Flüssigkeiten und Glassplitter wurden je in zwei Teile geteilt. Zu dem einen Teile (a) wurde lösliche Stärke zugesetzt, zum 2. Teil (b) mit Lackmoidlösung blau gefärbte Milch. Über das Ergebnis nach 14 Std. vgl. Protokoll 115. Versuch a zeigt, daß die Diastase z. T. von

den Glassplittern adsorbiert, z. T. noch in den Abgußflüssigkeiten enthalten war. Nach Versuch b muß auch die Lipase adsorbiert worden sein. Sie wurde mit dem destillierten Wasser wieder abgespült, sodaß der zweite Abguß die meiste Lipase enthält.

Protokoll 115.

Pankreasextrakt.

Versuch:		a (Stärke)	b (Vollmilch)
I	1. Abguß	mit Jod achromisch	blau
II	2. Abguß	„ „ „	rot
III	Glassplitter	„ „ „	rötlich

Wir stellten ganz in derselben Weise einen Auszug aus fünf Raupen (*Macrothylacia*) her und setzten zu den Splittern mit Lackmoidlösung blau gefärbte Vollmilch. Aber auch in diesem Versuche zeigten Darm und Lymphe noch die gleichen schmutzigen Farbtöne, während Malpighische Gefäße, Fettkörper, Spinndrüsen und Kontrolle rein blau waren und auch blieben bis zum Abschluß des Versuches nach 40 Std. Ein weiterer Versuch, bei dem wir wie bei dem Pankreasexperiment auch den 1. und 2. Abguß mit untersuchten, hatte ganz dasselbe Ergebnis. Der Versuch wurde zuletzt nach 70 Std. kontrolliert.

Eine Anwendung der Methode, die bei der Fettverdauung sich bildenden Fettsäuremengen durch Titration mit Na OH gegen Phenolphtalein festzusetellen, hat zur Voraussetzung, daß keine Versuchsgläser verwandt werden, die an sich schon alkalisch reagieren und deshalb die widersprechendsten Ergebnisse bei den Versuchen herbeiführen können. Zur Prüfung wurden die Gläser im Heißluftschrank auf 200 ° erhitzt; die nicht alkalischen vertrugen die Hitze und blieben heil und glatt, die alkalischen wurden rissig und rauh und zersprangen. Trotz dieser Vorsichtsmaßregeln führte auch die Titriermethode, zu der wir neutrales Olivenöl als Substrat benutzten, zu keinen einwandfreien Ergebnissen. Wieder blieb die Reaktion von Malpighischen Gefäßen, Fettkörper, Spinndrüsen und Kontrolle während des ganzen Versuches ungefähr die gleiche. Bei Lymphe und Darm störten die Eigenfarben. Das Titrieren war bei der geringen Menge von Versuchsflüssigkeit zudem wenig geeignet. Auch stellten wir in Versuchen mit Schabenextrakten ohne Zusatz von Ölemulsion eine Zunahme des Säuregehaltes in einzelnen Versuchsflüssigkeiten (Darm und Fettkörper) fest. Diese Säuremenge, die wohl auf Rechnung der postmortal entstehenden Aminosäuren zu setzen ist, mußte in Abzug gebracht werden, um die absolute Menge der Fettsäuren feststellen zu können, wodurch die Untersuchungen erheblich komplizierter und ungenauer wurden.

Schließlich wurde folgende Methode angewandt: Schweineschmalz wurde mit Äther im Soxlethapparat extrahiert. Mit dem so gereinigten Fett wurden in möglichst dünner Schicht absolut saubere Objektträger überzogen. Auf diese Objektträger gelangte je ein Tropfen der verschiedenen Versuchsflüssigkeiten. Dabei

entstand an der Stelle, wo der Darmsaft wirkte, stets im Laufe von $^1/_4$ Std. eine Emulsion des Fettes, die man leicht mit Wasser abspülen konnte, sodaß ein der Tropfengröße entsprechendes Loch in der Fettschicht sichtbar wurde. Mit abgekochtem Darmsaft konnten wir das gleiche Ergebnis niemals feststellen, ebensowenig mit den Extrakten von Malpighischen Gefäßen, Fettkörper, Spinndrüsen und Lymphe. Destilliertes Wasser blieb immer in einem klaren, abgekugelten Tropfen auf der Fettschicht stehen. Eine derartige emulgierende Kraft des Raupendarminhaltes haben schon Plateau (71) und Cornelia (26) beobachtet, die durch Schütteln von Öl mit Darmsaft im Reagenzglase augenblicklich eine Emulsion erhielten. Ein Entstehen von Fettsäuren konnten wir auf diesem Wege nicht nachweisen. Nun ist es aber wahrscheinlich, daß der Darm, der das Fett in solchem Maße zu emulgieren vermag, es auch spalten kann, zumal da man heute annimmt, daß die Darmwand kein emulgiertes Fett, sondern nur die Spaltungsprodukte des Fettes resorbiert (vgl. Biedermann [11]).

Alles in allem können wir aus unseren Fettversuchen schließen, daß weder Malpighische Gefäße noch Speichel- bezw. Spinndrüsen von Schaben und Raupen noch Lymphe von Raupen Fett zu verdauen vermögen. Dem Darm dagegen dürfen wir wohl eine emulgierende und fettspaltende Wirkung zuschreiben.

VIII. Einfluß des Extraktes der Malpighischen Gefäße auf die Darmamylase.

Zum Schluß seien noch Versuche erwähnt, bei denen — im Sinne der v. Gorkaschen Ausführungen — ein etwaiger fördernder Einfluß des Extrakts der Malpighischen Gefäße auf den Verdauungsvorgang im Darm geprüft werden sollte. Es wurden die Därme und Malpighischen Gefäße von sechs Raupen (*Macrothylacia*) präpariert und daraus durch Zusatz von aq. dest. je 6 ccm Versuchsflüssigkeit hergestellt. Die Extrakte wurden folgendermaßen verteilt, gemischt und zu den Versuchen gebraucht: Versuchsflüssigkeit I: 2 ccm Malp. Gef.-Extrakt, Versuchsflüssigkeit II: 2 ccm Darmextrakt, Versuchsflüssigkeit III: 2 ccm Darm- + 2 ccm Mal. Gef.-Extrakt, Versuchsflüssigkeit IV: 2 ccm Darmextrakt + 2 ccm aq. dest.

Als Substrat benutzten wir eine einprozentige Lösung löslicher Stärke, von der wir je 0,2 ccm zu jeder Versuchsflüssigkeit zusetzten.

Eine die verdauende Kraft des Darmes fördernde Wirkung des Extrakts der Malpighischen Gefäße konnten wir in diesen und ähnlichen Versuchen nicht nachweisen (vgl. Prot. 116).

Protokoll 116.

Raupen. Darm u. Malp. Gef. Lösl. Stärke.

Die Jodprobe ergab bei Versuchsflüssigkeit:

nach:	I.	II.	III.	IV.
1 Min.	blau	violett-rötlich	violett	violett
3 „	„	„	„	„
5 „	„	„	„	„
15 „	„	rötlich	violett-rötlich	violett-rötlich
20 „	„	rot	rot	rot
25 „	„	„	„	„
30 „	„	fast achromisch	„	fast achromisch

IX. Zusammenfassung.

Protokoll 117 und 118 bieten eine Übersicht über die Ergebnisse unserer Untersuchungen. Die Zeichen bedeuten:

+ = Ferment vorhanden,
— = Ferment nicht vorhanden,
? = Vorhandensein von Ferment fraglich,
+? = Ferment wahrscheinlich vorhanden,
—? = Ferment wahrscheinlich nicht vorhanden.

Was das Problem der Funktion der Malpighischen Gefäße angeht, so können wir den Schindlerschen Satz: „Die Malpighischen Gefäße sind spezifische Harnorgane“ dahin ergänzen: Sie liefern keine Verdauungssekrete. Gorka machte seine Untersuchungen an Käfern, während wir mit Schaben und Raupen arbeiteten. Die Gorkaschen Ergebnisse an Käfern haben wir nicht nachgeprüft. Doch bestehen zwischen den verschiedenen Insektenordnungen wohl keine so prinzipiellen Unterschiede in der Funktion der Malpighischen Gefäße. Wir lehnen daher auf Grund unserer Versuche die Resultate Gorkas bezüglich der Fermentsekretion der Malpighischen Gefäße ab. Die Versuchsergebnisse Gorkas in dieser Beziehung beruhen unseres Erachtens auf Versuchsfehlern (vgl. p. 15 ff.). Ob den Elektrolyten des in den Darm gelangenden Inhalts der Malpighischen Gefäße ein Einfluß auf den Verdauungsvorgang im Darm zukommt, konnte durch unsere Versuche nicht festgestellt werden. Es ist aber sehr gut möglich, daß der Elektrolytgehalt der Malpighischen Gefäße beim lebenden Tiere von Bedeutung für die Fermentwirkung ist. Diesbezügliche Untersuchungen der Organextrakte im Reagenzglase sind aber sehr schwierig und bei Insekten wegen der kleinen Fermentmengen wohl kaum durchführbar, da eine ganz geringe Verschiebung des Elektrolytgehaltes große Veränderungen in der Fermentwirkung hervorruft. Die Frage ist höchstens durch entwicklungsphysiologische Untersuchungen zu entscheiden, bei denen nach Entfernung der Anlage die Ausbildung der Malpighischen Gefäße unterbleiben und der Ver-

Protokoll 117.

Kohlehydratspaltende Fermente bei Schaben und Raupen.

	Lösl. Stärke		Amylase Amylose (Bütschli)		Glykogen		Maltase		Saccharase		Laktase		Glykosidase Arbutin		Zellulase	
	Schaben	Raupen	Schaben	Raupen	Schaben	Raupen	Schaben	Raupen	Schaben	Raupen	Schaben	Raupen	Schaben	Raupen	Schaben	Raupen
Malpighische Gefäße	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—
Speicheldrüsen			+		+		—		+		—		—		—	
Spinndrüsen		?		?		?		—		+		—				—
Darm: Kropf	+		+		+		+		+		—		+		—	
Darm: Mitteldarm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+		—	—
Darm: Enddarm	+		+		+		+		+		—		+		—	
Fettkörper	+	+	+	+	?	?	+	+	+	+?	—	—	+		—	—
Lymphe		+		+		+		+		+?		—				—

Protokoll 118.

	Eiweißspaltende Fermente		Fettspaltende Fermente	
	Schaben	Raupen	Schaben	Raupen
Malpighische Gefäße	—	—	—	—
Speicheldrüsen	—		—?	
Spinndrüsen		—		—
Darm: Kropf	+		+	
Darm: Mitteldarm	+	+	+	+
Darm: Enddarm	+		+	
Fettkörper	+	+	—?	—?
Lymphe		+		—?

dauungsvorgang solcher Tiere ohne Malpighische Gefäße studiert werden müßte. Es steht aber zweifellos fest, daß die Malpighischen Gefäße keine Verdauungssekrete bilden. Ob ihr Inhalt einen fördernden Einfluß auf die Verdauung im Mitteldarm ausübt, ist unentschieden.

Über den Verdauungsvorgang im Insektenkörper können wir uns nach den Ergebnissen unserer Versuche unter Berücksichtigung der in der Literatur vorhandenen Angaben folgendes Bild machen:

Für den Vorderdarm wird nach Deegener (30) im allgemeinen keine sekretorische Funktion angenommen. Vertreter gegenteiliger Ansicht sind Möbuß (68) und Mingazzini (67). Überall da, wo keine Drüsen in der Wand entwickelt sind, wie z. B. bei manchen Coleopteren, darf man aber wohl mit Recht an einer Sekretion zweifeln. Bei *Periplaneta* ist der Vorderdarm mit einer Chitincuticula überzogen, eine Sekretion also wohl ausgeschlossen.

Bei den Schaben sind dafür stark entwickelte Speicheldrüsen vorhanden, die ihr Sekret in den Kropf senden. Die Speicheldrüsen der Insekten enthalten im allgemeinen ein alkalisches Sekret (vgl. Plateau, Kühne, Krukenberg, Biedermann). Dem Sekrete dieser Drüsen wird stets die Fähigkeit des Stärkeabbaus zugeschrieben (vgl. Plateau, Jousset de Bellesme). Über die Anwesenheit eines eiweißspaltenden Fermentes gehen die Meinungen auseinander (vgl. p. 204). Es ist wohl nur selten vorhanden (*Corethra*-Larve, Weismann). Ein Invertin wurde im Bienenspeichel nachgewiesen. Bei manchen Dipteren und Lepidopteren kommt dem Speichelsekret eine mechanische Wirkung zu, die man mit der des Wirbeltierspeichels vergleichen kann: Der Speichel macht die Nährstoffe durch Auflösung aufnahmefähig. Nach unsern Versuchsergebnissen liefert das Speichelsekret von *Periplaneta orientalis* L. vor allem eine starke Amylase, die aber Stärke nur bis zu Achroodextrinen abbaut. Ferner enthält das Speichelsekret Saccharase, deren Wirksamkeit jedoch bei weitem nicht so intensiv ist als die der Amylase und auch mit der starken Wirkung des Mitteldarminvertins nicht zu vergleichen ist. Andere Fermente konnten in den Speicheldrüsen nicht nachgewiesen werden. Es finden sich also keine Maltase, keine Laktase, keine Zellulase, kein glukosid- und kein eiweißspaltendes Enzym. Ein fettzersetzendes Ferment ist sehr unwahrscheinlich.

Betrachten wir an dieser Stelle kurz unsere Feststellungen über den Fermentgehalt der Spinndrüsen! Wir fanden in diesen Raupenorganen ein sehr stark wirkendes Invertin. Unentschieden ist, ob auch eine Diastase vorhanden ist. Es fehlen Maltase, Laktase, Glykosidase, Zellulase, Protease und Lipase. Das nachgewiesene Ferment muß aus den Drüsen selbst stammen und nicht etwa aus der sie umspülenden Lymphe, deren Fermentgehalt ein wesentlich anderer ist (vgl. unten). Nach Deegener (30) braucht man in den Spinndrüsen nicht unbedingt umgewandelte Speicheldrüsen zu sehen; aber vielleicht spricht der Befund von Fermenten in den Spinndrüsen für einen genetischen Zusammenhang zwischen diesen und den Speicheldrüsen.

Die zwei Fermente der Speicheldrüsen entfalten ihre spaltende Kraft, wie wir nachweisen konnten, im Kropf. Nun geht aber im Kropf, was unsere Versuche zeigen, die Zersetzung nicht nur bis zu den Achroodextrinen, sondern bis zum Zucker vor sich. Das Invertin wirkt im Kropf bedeutend energischer als in den Speicheldrüsen. Dazu kommt, daß der Vorderdarm nach unseren Untersuchungen außerdem noch Maltase, glykosid-, eiweiß- und fettspaltende Fermente enthält, die in den Speicheldrüsen nicht nachgewiesen werden konnten.

Ein Vergleich der verdauenden Wirkung der Kropfflüssigkeiten mit der der Mitteldarmextrakte zeigt nun, daß die im Vorderdarm vorhandenen, aber in den Speicheldrüsen fehlenden Fermente sämtlich im Mitteldarm, und zwar in sehr aktiver Form, anzutreffen sind. Es liegt also der Schluß nahe, daß der Mitteldarmsaft zum Teil in den Vorderdarm gelangt. Es finden sich in der Literatur eine Reihe von Beobachtungen, für deren Erklärung ebenfalls die Annahme eines Übertritts von Mitteldarminhalt in den Kropf notwendig wird. Plateau fand bei Heuschrecken die Pflanzenpartikel, die den Kropf erfüllen, stets durchtränkt mit einer intensiv gelblich oder braun gefärbten Flüssigkeit, die jedenfalls nicht das Sekret der Speicheldrüsen darstellen konnte, das ja an sich farblos ist. Plateau hielt die gelbe Flüssigkeit für ein Sekret der Kropfwand, was wegen des chitinösen Charakters des Vorderdarmes aber gar nicht in Frage kommen kann. Spätere Forscher nahmen an, daß es sich bei dem Vorderdarmsaft um die zäne, gelb oder braun gefärbte Flüssigkeit der Mitteldarm-Coeca handele, die nach vorn befördert werde. Auch die Größe des Kropfes im Verhältnis zu dem bisweilen stark reduzierten Mitteldarm hat man geltend gemacht für die Annahme, daß der Kropf nicht allein die Rolle eines bloßen Nahrungsreservoirs spielen könne, sondern daß sich in ihm zugleich der Hauptteil der Verdauung vollziehe, sodaß die Bezeichnung „Magen" hier durchaus gerechtfertigt sei. Nach Ramme vermittelt bei Blattiden und anderen Orthopteren der Proventriculus „einerseits den Übertritt der Mitteldarmsekrete in den Kropf und bewirkt andererseits eine gründliche Vermischung des Nahrungsbreies mit den Sekreten und ihre allmähliche Überführung in den Mitteldarm" (vgl. Deegener [30], p. 246).

Schließt man sich der Ansicht dieser Autoren an, so läßt sich zwanglos der Unterschied zwischen dem Fermentgehalt der Speicheldrüsen und dem des Vorderdarmes erklären. Es muß aber darauf hingewiesen werden, daß dieser Mechanismus des Fermentübertrittes vom Mittel- zum Vorderdarm keineswegs bei allen Insekten in Frage kommen kann. Erinnert sei nur an die Funktion des „Ventiltrichters" bei Hymenopteren, der — wie sehr ausführliche anatomische und physiologische Untersuchungen einwandfrei dargetan haben — unter allen Umständen einen Rücktritt von Mitteldarminhalt in den Vorderdarm verhindert.

Nach den neueren Arbeiten auf dem Gebiete der Fermentforschung

übt bekanntlich der Elektrolytgehalt des Mediums einen entscheidenden Einfluß auf die Aktivität des Fermentes aus. Die Salze werden ja deshalb geradezu als Kofermente bezeichnet. Theoretisch wäre es daher denkbar, daß von den Speicheldrüsen Fermente in inaktiver Form abgeschieden würden, die erst unter Einfluß der Salze und H-Jonen des Vorderdarmes zu einer nachweisbaren Wirkung gelangten. Ob sich experimentell diese Vermutung bestätigen lassen wird, müssen zukünftige Arbeiten zeigen; bei den winzigen Fermentmengen, die naturgemäß zur Verfügung stehen, wird eine speziell auf diesen Punkt gerichtete Untersuchung aber mit den allergrößten technischen Schwierigkeiten zu kämpfen haben.

Das Mitteldarmsekret spaltete außer Zellulose und Laktose alles, was wir ihm an Substraten zusetzten. Ferner liefert es noch gelegentlich ein oxydierendes Ferment (z. B. Raupendarm). Bedenken wir dann noch das Fehlen freier Säuren und die normalerweise alkalische Reaktion, die nur durch die Anwesenheit saurer Phosphate zuweilen sauer erscheint (vgl. Biedermann [11]), so kommen wir mit Biedermann und Plateau zu dem Schlusse, daß der Verdauungsvorgang im Mitteldarm der Insekten viel eher der Pankreas- als der Magenverdauung der Wirbeltiere verglichen werden kann. Allerdings handelt es sich bei dem Mitteldarmsaft der Insekten um ein noch ungleich komplizierteres Gemisch verschiedener Fermente, als es das Pankreassekret der Wirbletiere darstellt.

Die Fermente, die wir im Enddarmextrakt nachwiesen, stimmen mit denen des Mitteldarmes überein. Sie wirken nur nicht so intensiv. Das deutet darauf hin, daß Teile der Mitteldarmfermente mit den unverdaulichen Nahrungsresten aus dem Mittel- in den Enddarm übertreten; denn die Enddarmwandung selbst enthält keine sezernierenden Zellen.

Die abgebauten Stoffe werden im Mitteldarm resorbiert und gelangen in die Körperflüssigkeit, deren Aufgaben im wesentlichen der Transport der Nahrung zu den Zellen und Organen des Organismus und der Rücktransport der Stoffwechselendprodukte zu den Ausscheidungsorganen sind.

In der Lymphe der Raupen konnten wir verschiedene Fermente nachweisen: Amylase, Maltase und Protease; wahrscheinlich ist auch Invertin vorhanden, während Laktase und Zellulase fehlen und die Anwesenheit eines fettspaltenden Fermentes aus unsern Versuchen nicht hervorgeht. Der Zweck der Lymphfermente leuchtet ein, wenn man bedenkt, daß der Raupendarm die Stärke nur bis zu Achroodextrinen abbaut, die dann resorbiert und von der Lymphe die bis zur Glukose spaltet, weiter verarbeitet werden können. Ähnliche Aufaben fallen wohl der Maltase und Protease der Lymphe zu. Ein Vergleich mit dem Fermentgehalt des Wirbeltierblutes zeigt wesentliche Übereinstimmungen (vgl. p. 35).

Der Fettkörper enthält, wie die Lymphe, Maltase und Protease, wahrscheinlich auch Amylase. Ferner konnten wir bestimmt Invertin und Arbutinase nachweisen. Laktase und

Zellulase fehlen, und über die Anwesenheit eines fettspaltenden Fermentes können wir auf Grund unserer Versuche nichts sicheres aussagen.

Da die Lymphe den Fettkörper umspült, es also nicht zu vermeiden ist, daß Körperflüssigkeit mit in den Fettkörperextrakt gelangt, ist eine Wirksamkeit der Lymphfermente bei den Versuchen mit dem Fettkörper wahrscheinlich. Doch deuten die nicht ganz übereinstimmenden Ergebnisse der Lymph- und Fettkörperversuche darauf hin, daß dem Fettkörper ein eigener Fermentgehalt zuzusprechen ist. Der Zweck dieser Erscheinung würde dann darin zu suchen sein, daß der Fettkörper, der ein Speicherorgan ist, die Reservestoffe im geeigneten Augenblick wieder aktivieren, d. h. abbauen und in gelöster Form der Körperflüssigkeit zum Transport nach den Stellen des Verbrauchs übergeben muß. Im einzelnen liefert die Frage nach dem Fermentgehalt des Fettkörpers der Insekten noch eine Fülle ungelöster Probleme, die aber erst mit Erfolg bearbeitet werden können, wenn eingehendere Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung des Fettkörpers vorliegen, als das bis jetzt der Fall ist.

* * *

Vorstehende Arbeit fertigte ich im Zoologischen Institute der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster an. Herrn Professor Dr. Stempell danke ich auch an dieser Stelle herzlich für das Interesse, das er meiner Arbeit jederzeit entgegenbrachte.

Ebenso spreche ich Herrn Professor Dr. Rosemann und Herrn Professor Dr. Benecke meinen Dank aus für die Bereitwilligkeit, mit der sie mir Apparate, Chemikalien und Literatur zur Benutzung überließen.

Die Anregung zu meiner Arbeit gab Herr Privatdozent Dr. A. Koch, dem ich zu größtem Danke verpflichtet bin. In überaus liebenswürdiger und uneigennütziger Weise hat er mir allezeit mit Rat und Tat zur Seite gestanden und meine Untersuchungen mit regster Anteilnahme verfolgt.

Literaturverzeichnis.

(Die mit * bezeichneten Schriften lagen im Original vor.)

1. Abderhalden,** Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, III. Band, 1. Hälfte, 1910. — ***2.** Derselbe, Abwehrfermente des tierischen Organismus. 2. Aufl., Berlin, 1913. — **3. Derselbe und **Schittenhelm,** Über das Vorkommen von peptolytischen Fermenten im Mageninhalte und ihren Nachweis in: Ztschrft. f. physiol. Chem., Bd. 59, 1909. — ***4.** Dieselben, Über den Nachweis peptolytischer Fermente in: Ztschr. f. physiol. Cem., Bd. 61, 1909. — ***5. Abonyi,** Referat in: Zool. Zentralbl., Vol. 11, 1904. — **6. Audouin,** Calculs trouvés dans les canaux biliaires d'un Cerf-volant in: Ann. d. sc. nat., 2. sér., tome 5, 1835. — **7. Balbiani, E. G.,** Etudes bactériologiques sur les

Arthropodes in C. R. Acad. Sc. Paris, Vol. 103, 1886. — *8. **Basch, S.,** Untersuchung über das chylo- und uropoetische System der Blatta orientalis, Wien 1858. — *9. **Jousset de Bellesme,** Recherches sur les fonctions des glandes de l'appareil digestif des Insectes, in C. R. hebd. des séances de l'Acad. d. sc. 82, 1876. — **10. Bernard,** Sur une nouvelle fonction du foie in: Ann. d. sc. nat. (3), 19, 1853. — *11. **Biedermann,** Beiträge zur vergleichenden Physiologie I, in: Pflügers Archiv, Bd. 72, 1898. — *12. Derselbe, Die Aufnahme, Verarbeitung und Assimilation der Nahrung in: Wintersteins Handbuch der vergleichenden Physiologie, Jena 1911, II. Bd., 1. Hälfte. — *13. Derselbe, Beiträge zur vergleichenden Physiologie VII, in: Pflügers Archiv, Bd. 174, 1919. — *14. Derselbe, Beiträge zur vergleichenden Physiologie VIII, in: Pflügers Archiv, Bd. 174, 1919. — *15. Derselbe, Das Koferment (Komplement) der Diastasen in: Archiv. f. Fermentforschung 17, 1921. — **16. Bordas, L.,** Considérations générales sur le tube digestif des Scorpions (Buthus europaeus L.) in: Bull. Soc. zool. France, T. 32, 1907. — **17.** Derselbe, Les tubes de Malpighi des Orthoptères in: C. R., T. 124, 1897. — **18.** Derselbe, Les tubes de Malpighi des Hyménoptères in: Bull. Sc. France Belg., T. 26, 1895. — **19.** Derselbe, L'appareil digestif et les tubes de Malpighi des larves des Lépidoptères in: Ann. d. sc. nat. (9), T. 14, 1911. — **20.** Derselbe, Sur la morphologie et la structure histologique des tubes de Malpighi des Insectes et principiellement des Coléoptères in: C. R. Assoc. Anat., 14. Réun., 1912. — **21. Brugnatelli,** Osservazio sopra l'assiurato d'ammoniaca, in: Giornale de fiscica, 8, 1815, refer. in: Meckels Archiv f. d. Physol., 2, 1846. — **22. Burmeister,** Handbuch der Entomologie, Bd. I, 1832. — **23. Carus, J.,** System der tierischen Morphologie, 1853. — **24. Chaussier,** Mémoire sur un acide particulier découvert dans le ver à soie, in: Nouv. mém. de l'Acad. de Dijon, 4, 1783. — **25. Chévreul,** vgl. Straus-Dürkheim, Considérations générales sur l'anatomie comparée etc., 1828. — **26. Cornalia, E.,** Monografia del Bombice del Gelso (Bombyx mori), in: Mém. dell' Istituto Lombardo di Scienze, Lettere e Arti, 6, 1856. — *27. **Cuénot,** Etudes physiologiques sur les Orthoptères, in: Arch. d. Biol., 14, 1896. — **28. Cuvier,** siehe Reils Archiv f. Physiol., Bd. V, 1802. — **29. Davy, J.,** I. Note on the excrements of certain Insects; II. Additional notice on the urinary excrements of Insects with some observations on that of Spiders, in: Edinburgh new Philosophical Journal, conducted by James, 40, 1846. — *30. **Deegener, P.,** Der Darmtraktus und seine Anhänge, in: Schröders Handbuch der Entomologie, Bd. I, Kap. 4, Jena 1913. — **31. Doyère,** in: Ann. d. scienc. nat., 2. sér., T. XIX, 1843. — **32. Dufour, L.,** Mémoire sur les vaisseaux biliaires etc., in: Ann. d. scienc. nat., 2. sér., T. XIX, 1843. — **33. Dutrochelt,** Über die Metamorphose des Darmkanals der Insekten, in: Meckels Archiv, Bd. IV (Journal de physique etc., T. 86, 1818). — **34. Duvernoy,** Leçon d'anatomie comparée de Cuvier, 2. Edition, T. V et VII, 1837—40. — *35. **Ehrenberg,** Die Exkretion (Tracheaten), in: Wintersteins Handbuch der vergleichenden Physiologie, II. Bd., 2. Hälfte, Jena 1921. — **36. Fischer, Leop.,** Orthoptera europaea, 1853. —

*37. **v. Fürth, O.**, Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere, Jena, 1903. — 38. **Gaede**, Observations physiologiques sur les vaisseaux biliaires des Insectes, in: Ann. géner. d. scienc. Physiques, 1819. — *39. **v. Gorka, A.**, Experimentelle und morphologische Beiträge zur Physiologie der Malpighischen Gefäße der Käfer, in: Zool. Jahrb., 34, 1914. — 40. **Grandis, V.**, in: Arch. Ital. Biol., Vol. 14, 1891. — 41. **Grube, E.**, Fehlt den Wespen- und Hornissenlarven ein After oder nicht? in: Müllers Archiv, 1849. — *42. **Hammarsten, O.**, Lehrbuch der physiologischen Chemie, Wiesbaden, 1914. — 43. **Heckel, E.**, Phénomènes de la localition dans les tissus animaux, in: Journ. d'Anat. et de la Physiol., 1875. — 44. **Heller, J. F.**, Harnsäure, ein reichliches Exkret der Schmetterlinge, in: Archvi f. Chemie u. Mikroskopie, herausgegeb. v. Joh. Flor. Heller, Wien, 1844. — 45. **Herold**, Entwicklungsgeschichte der Schmetterlinge, 1815. — *46. **Hirsch, G. Ch.**, Die Ernährungsphysiologie fleischfressender Gastropoden, in: Zool. Jahrb. 35, 1915. — 47. **van der Hoeven**, Handbuch der Zoologie, I. Band, 1850. — 48. **Hornung** und **Bley**, Entomologisch-chemische Untersuchung des sogen. Mistkäfers (Blaps obtusa), in: Journ. f. prakt. Chem., 6, 1855. — 49. **Karawalew**, in: Biol. Zentralbl., Vol. 19, 1899. — 50. **Karsten, H.**, Harnorgane von Brachinus complanatus, in: Müllers Archiv, 1848. — 51. **Kölliker**, Zur feineren Anatomie der Insekten, in: Verhandl. der physik.-mediz. Gesellschaft in Würzburg, Bd. III, Heft 2, 1857. — *52. **Kowalewski, A.** Ein Beitrag zur Kenntnis der Exkretionsorgane, in: Biol. Zentralbl., 9, 1889/90. — *53. **Krukenberg**, Vergleichende Studien, I. Reihe, 2. Abt., 1880. — 54. **Leuckart, R.** Wagner, Zootomie: Frey und Leuckart, Anatomie und Physiologie der Wirbellosen, 1843. — 55. **Leydig** Histologie, 1857. — *56. **Lowartz, C.**, Die Diastase im Magensaft von Potamobius astacus L., in: Fermentforschung, Bd. III, Hft. 3, 1920. — 57. **Lowne, B. Th.**, Anatomy, Physiology, Morphology, and Development of the Blow-fly (Calliphora erythrocephala). Second Edition, Part 1, London, 1890—92. — *58. **Lozinski, Paul.**, Über die Malpighischen Gefäße der Mymeleonidenlarven als Spinndrüsen, in: Zool. Anzeiger, Bd. 38, 1911. — 59. **Lyonet**, Traité anatomique de la chenille etc., 1762. — 60. **Malpighi**, Dissertatio epistolica de Bombyce, 1669. — 61. **Marchal, P.**, L'acide urique et la fonction rénale chez les Invertébrés, in: Mém. Soc. zool. de France, 3, 1890. — *62. **Mayet, V.**, Une nouvelle fonction des tubes de Malpighi, in: C. R. Acad. Sc. Paris, T. 22, 1896. — 63. **Meckel, H.**, Mikrographie einiger Drüsenapparate, in: Müllers Archiv f. Anat. u. Physiol., 1846. — 64. **Meckel, J. F.**, Über die Gallen- und Harnorgane der Insekten, in: Meckels Archiv, 1826. — 65. Derselbe, System der vergleichenden Anatomie, Teil IV, 1829. — 66. **Metalnikoff, S.**, Recherches expérimentales sur les chenilles de Galleria melonella, in: Arch. Zool. expér., Vol. 8, 1909 (4). — 67. **Mingazzini**, Ricerche sul canale digerente dei Lamellicorni fitofagi (Larve e Insetti perfetti), in: Mitteil. d. Zool. Stat. Neapel, Bd. 9, 1889. — **Möbuß, A.**, Über den Darmkanal der Anthrenuslarve nebst Bemerkungen zur Epithelregeneration,

in: Archiv f. Naturgesch., Jahrg. 63, I, 1897. — **69. Mac Munn, C. A.,** Note on a method of obtaining uric acid crystals from the Malpighian tubes of insects and from the nephridium of pulmonate Mollusca, in: Journ. of Physiol., 7, 1886. — ***70. Oppenheimer, C.,** Grundriß der Biochemie. Leipzig 1912. — ***71. Plateau, F.,** Recherches sur les phénomènes de la digestion chez les Insectes, in: Mém. Acad. Roy. Belg., (2), T. 41, Bruxelles 1874. — ***72.** Derselbe, Recherches sur les phénomènes de la digestion chez les Insectes, in: Mém. Acad. Roy. Belg., T. 44, 1875. — ***73.** Derselbe, Note sur les phénomènes de la digestion chez la blatte américains, in: Bull. de l'Acad. Roy. Belg., 44. Année, 2. sér., T. 41, 1876. — ***74.** Derselbe, Sur la digestion chez les Insectes; remarques à propos d'un travail récent de M. Jousset, in: C. R. 82, 1876. — **75. Posselt,** Beiträge zur Anatomie der Insekten, 1804. — ***76. Pütter, A.,** Vergleichende Physiologie, Jena, 1911. — **77. Ramdohr,** Über die Verdauungswerkzeuge der Insekten, 1811. — **78. Rengger,** Physiologische Untersuchungen über den tierischen Haushalt der Insekten, 1817. — **79. Robiquet,** Expér. sur les Cantharides, in: Ann. de Chimie, 76, 1810. — ***80. Röhmann, F.,** Biochemie, 1908. — **81. Rywosch,** Allgemeines über Tierharn, in: Wiener mediz. Wochenschrift, Nr. 47, 1893. — ***82. Schindler,** Beiträge zur Kenntnis der Malpighischen Gefäße der Insekten, in: Ztschr. f. wiss. Zool. 30, 1877. — **83. Schloßberger,** Die Krystalle der Malpighischen Gefäße bei den Raupen, in: Müllers Archiv 1857. — **84. Séguin,** Etudes sur les vers à soie; examen des déjections dont les papillons se débarrassent avant l'accouplement. C. R. 48, 1859. — **85. v. Siebold,** Vergleichende Anatomie der Wirbellosen, 1848. — **86. Simroth,** Über den Darmkanal der Larve von Osmoderma eremita mit seinen Anhängen, in: Ztschrft. f. d. ges. Naturw., Vol. 41, 1878. — **87. Sirodot,** Recherches sur les sécrétions chez les Insectes, in: Ann. des sc. nat., 4. sér., T. 10, 1858. — **88. Straus-Dürkheim,** Considérations général. sur l'anatomie comparée etc., 1828. — **89. Suckow,** in: Heusingers Ztschr. f. organ. Physik, Bd. III, 1829. — **90. Swammerdam,** Biblia naturae, 1752. — **91. Treviranus,** Vermischte Schriften, Bd. II, 1. — **92.** Derselbe, Biologie, Bd. IV, 1814. — ***93. v. Tschermak, A.** Allgemeine Physiologie, Berlin, 1916. — **94. Veneziani, A.,** Sulla sostanza colorante dei Tubi Malpighiani negli Insetti. Estrat. dal Vol. per le onor. giubil. del prof. A. Stefani, 1903. — **95.** Derselbe, Valore morfologico e fisiologico dei Tubi Malpighiani. Redia, Giorn. di Entom., Vol. 2, 1904. — **96. Vogt, C.,** Zoologische Briefe, I. Bd., 1851. — ***97. Wille, Joh.,** Biologie und Bekämpfung der deutschen Schabe (Phyll. germ.), in: Beiheft I zu Bd. VII der Ztschr. f. ang. Entom., herausgeg. v. Escherich-München, Berlin 1920. — ***98. Wohlgemuth, J.,** Untersuchungen über die Diastasen III. Das Verhalten der Diastase im Blut, in: Biochem. Ztschr., Bd. 21, 1909. — **99. Wurzer,** Chemische Untersuchungen des Stoffes in den Gallgefäßen von Bombyx mori, in: Meckels Archiv f. Physiol., Bd. IV, 1818. — ***100. Kobert, R.,** Über einige Enzyme wirbelloser Tiere, in: Pflügers Archiv, Bd. 99, 1903.