

ersten Theilung der befruchteten Eizelle eine untere Stielzelle und eine obere Zelle, die zum Gonimoblasten auswächst; bisweilen theilt diese obere Zelle sich noch einmal in der Querrichtung, und es wachsen dann zwei Büschel von Gonimoblasten aus; die Stielzelle selbst bleibt aber immer steril.

In den Auxiliarzellen treten zur Zeit der Befruchtung gewisse lichtbrechende Körner, die Carmin ziemlich reichlich speichern, auf, scheinen aber später wieder zu verschwinden; ich fasse sie als Reservematerial für das Wachsthum der Gonimoblasten auf.

Den Chromatophoren in dem Procarpium fehlen Pyrenoide, und sie treten nur wenig deutlich hervor (in fixirtem Material); bei der Entwicklung der Gonimoblasten werden aber die Chromatophoren wieder deutlicher und die Pyrenoide treten dann wieder auf.

Nach diesen Untersuchungen wäre also die Befruchtung bei den Florideen als endgültig sicher gestellt anzusehen, und zwar schliessen die Vorgänge sich am nächsten an diejenigen an, die von PRINGSHEIM bei der Befruchtung von *Achlya*<sup>1)</sup> entdeckt worden sind. Zwar wandert der Spermakern bei *Nemalion multifidum* nicht wie bei *Achlya* durch die unversehrte Zellwand, aber das dürfte wohl auch bei einigen Florideen vorkommen können.<sup>2)</sup>

Weitere Mittheilungen über die Ausbildung der Carposporen bei *Nemalion multifidum*, einige Abnormitäten bei der Befruchtung und einige theoretische Erwägungen werde ich in einer ausführlicheren Abhandlung bald mittheilen.

#### 4. J. Grüss: Ueber die Einwirkung der Diastase-Fermente auf Reservecellulose.

▲ Mit Tafel XIV und XV.

Eingegangen am 25. September 1894.

Nach den bisherigen Ergebnissen der Diastaseforschung ist es in hohem Grade wahrscheinlich, dass die Lösung der Reservestärke ganz ausschliesslich durch Diastase erfolgt. Die Einwendungen, welche dagegen noch erhoben werden können, werden sich bei weiter eingehender Forschung voraussichtlich beseitigen lassen.

1) N. PRINGSHEIM, Neue Beobachtungen über den Befruchtungsact der Gattungen *Achlya* und *Saprolegnia*. (Sitzungsber. der k. Akad. d. Wiss. zu Berlin, 1882).

2) N. PRINGSHEIM, Ueber Sprossung der Moosfrüchte und den Generationswechsel der Thallophyten. (Jahrb. f. wiss. Botanik. Herausg. von N. PRINGSHEIM. B. 11. Berlin, 1878. S. 13).

Ungleich schwieriger gestalten sich die Verhältnisse bei der Frage, in welcher Weise die Umsetzung der Reservecellulose erfolgt und in welche Producte dieselbe übergeführt wird. Nur vermuthungsweise wurde bis jetzt angenommen, dass die Umwandlung des hornartigen Endosperms der Dattel und von *Phytelephas* durch ein Ferment stattfindet. Es lag nahe, dasselbe mit der Diastase zu identificiren, um so mehr als die Cellulose eine ähnliche chemische Zusammensetzung wie die Stärke besitzt. Um diese Frage zu erörtern, ist zunächst eine genaue Orientirung der Einwirkung der Diastase auf Reservecellulose nothwendig.

Schon in einer früheren Arbeit<sup>1)</sup> ist von mir darauf hingewiesen worden, dass die beiden Körper auf einander reagiren. Die Beobachtung dieser Einwirkung wird durch verschiedene Umstände sehr erschwert, weshalb ich auf diese etwas näher eingehen will.

Stellt man sich Schnitte von einem getrockneten Dattelendosperm her, so sieht man bei der mikroskopischen Betrachtung die verdickten Wandungen fast allgemein scheinbar von Streifensystemen durchsetzt deren Elemente als feine, parallel laufende Linien erscheinen. Die Richtung sowie die Länge derselben kann in einem Schnitte sehr verschieden sein; meist können sie über mehrere Zellen hinaus verfolgt werden. Diese Erscheinung weist darauf hin, dass die Streifen durch das Schneiden mit dem Messer hervorgerufen sind. Dass die Streifensysteme sich kreuzen rührt davon her, dass ein System der Oberseite und das andere der Unterseite des Schnittes angehört. Werden die Schnitte mit dem Mikrotom hergestellt, so erhält man nie zwei sich kreuzende Streifensysteme, wenn das Object immer in einer Richtung durchschnitten wird. Durch Drehen desselben kann man aber den Streifen eine beliebige Richtung ertheilen, wodurch die Herkunft derselben sicher erwiesen ist.

Noch eine zweite auffallende Erscheinung kann man an Schnitten beobachten, welche man von einem ausgetrockneten Endosperm dargestellt hat. Die verdickten Wandungen werden häufig von Spalten durchsetzt, die mitunter in solcher Menge auftreten, dass die Membran wie zerklüftet erscheint. Der Querdurchmesser der grösseren Spalten ist in der Mitte am grössten und nimmt nach beiden Seiten hin allmählich ab. Die kleineren Spalten haben die Form feiner Risse. Charakteristisch für alle diese Spalten ist ihre Stellung: sie laufen parallel und sind reihenweis gestellt. Diese Spaltensysteme zeigen nun die Eigenthümlichkeit, dass sie immer mehr oder minder senkrecht zu den vorher erwähnten Streifen stehen. Es würde also eine Reihe paralleler und gleich grosser Spalten senkrecht zwischen zwei

1) Ueber das Verhalten des diastatischen Enzyms in der Keimpflanze. PRINGSHEIM'S Jahrbücher für wissensch. Bot. Bd. XXVI.

parallelen Streifen aufzufinden sein. Diese Regel zeigt natürlich kleine Abweichungen: Die Spalten sind häufig nur annähernd parallel und ändern auch oft in ihren Dimensionen ab. (Tafel XIV, Fig. 1 und 2).

Die Streifen sind als Schrammen zu betrachten, welche durch die Unebenheiten des Messers auf der verdickten Wandung hervorgerufen werden. Die Spalten entstehen durch ein Zerbersten oder Zerreißen der Masse in Folge der Druck- und Zugwirkung, welche beim Durchschneiden der Membran ausgeübt wird; man kann den Spalten daher eine beliebige Richtung ertheilen (Taf. XIV, Fig. 1 und 2). Dass diese Ansicht richtig ist, lässt sich noch dadurch zeigen, dass man Endospermstücke einem starken Drucke aussetzt. Da, wo Zerquetschungen stattgefunden haben, finden sich Spalten, welche allerdings nicht reihenweis gestellt sind, aber doch parallel laufen. Schliesslich steht damit noch im Einklang, dass die Spalten nur dann zahlreich auftreten, wenn die Objecte stark ausgetrocknet waren. Haben dieselben jedoch viel Wasser aufgenommen, so lassen sie sich bekanntlich besser zerschneiden, und das Zerreißen der Membran findet seltener statt. In Fig. 3 sind solche Spalten dargestellt, welche durch starken mechanischen Druck auf die Endospermstücke entstanden sind und deren Aehnlichkeit mit den durch den Druck oder Zug des Messers hervorgebrachten Spalten leicht zu erkennen ist.

Um die Diastase-Reaction zu untersuchen, stellte ich mir aus Diastasepulver eine kräftig wirkende Fermentlösung her. Derselben wurde zur Erhöhung der Wirkung ein wenig Aluminiumacetat beigegeben. Obwohl dieses an und für sich schon antiseptisch wirkt, so wurden doch noch 1—2 Tropfen Chloroform zugesetzt, um ganz sicher zu sein, dass sich keine Spaltpilze in der Flüssigkeit ansammeln. Dieselbe wurde ausserdem häufig erneuert. Damit nun eine deutliche Einwirkung auf die Reservecellulose erzielt wird, ist es nöthig, die Objecte mindestens 2 Monate in der Lösung liegen zu lassen. Durch die nicht genügend lange Dauer der Exposition erkläre ich es mir, dass die dann eintretende Reaction von BROWN und MORRIS übersehen wurde.<sup>1)</sup>

Ausserdem kommt für den Versuch noch in Betracht, dass man von den auszusetzenden Endospermstücken die Samenschale entfernt, da diese Gerbstoffe enthält. Ich stellte mir aus den Dattelkernen kleine dreiseitige Prismen her, da man besonders an den scharfen Kanten eine eventuelle Corrosion leichter wahrnehmen kann.

Nachdem diese Versuchsobjecte mehrere Monate mit der Diastaselösung in Berührung gewesen waren, zeigte sich folgender Befund: Die Seiten der Prismen hatten an vielen Stellen meist eine rauhe Oberfläche, die vorher scharfen Kanten waren schartig, und schliesslich waren auch

1) BROWN und MORRIS, The germination of some of the Gramineae. London 1890.

einige Ecken lädirt worden; es hatte den Anschein, als wären sie abgebrochen.

Zunächst wurden Oberflächenschnitte hergestellt, indem das Messer parallel zu den Seiten des Prismas geführt wurde. Die Diastase hat daher in senkrechter Richtung zu diesen Schnitten eingewirkt. Es zeigte sich, dass die Membran in Lamellen zerspalten worden war, welche parallel der inneren Wandoberfläche der Zelle liefen. Da, wo ein Tüpfel sich befindet, biegen auch die Lamellen ein, so dass sie nach der Mittellamelle oder der primären Haut hin convergiren. Diese letztere war häufig gelöst, so dass an ihrer Statt ein Spaltraum sichtbar war. Die Celluloselamellen, wie ich dieselben im Gegensatz zur Mittellamelle nennen will, rücken oft auseinander, so dass auch zwischen ihnen längliche Spalten erscheinen. Die erste Einwirkung zeigt sich darin, dass die Substanz ihr Lichtbrechungsvermögen ändert, sie wird, wie man sagen könnte, hyalin, ausserdem treten kurze feine Risse auf, die wahrscheinlich die Lamellenbildung einleiten.

Der weitere Vorgang ist der, dass die Celluloselamellen, besonders die innersten, zerreißen, wodurch dann eine förmliche Zerfaserung der ganzen Zellwand eintritt. Mit diesem Stadium beginnt die Abschmelzung: Die Lamellen werden lichtschwach und schwinden allmählich. Die eben beschriebenen Verhältnisse sind in den Figuren 4 und 5 auf Taf. XIV dargestellt. In der ersteren ist der Schnitt senkrecht zum Längsdurchmesser der Zellen geführt, in der letzteren parallel zu demselben. Bei *a* in Fig. 4 nimmt die Zerfaserung der Celluloselamellen ihren Anfang, bei *b* findet die Abschmelzung statt. Fig. 5 bietet in der Mitte der Zeichnung eine besonders günstige Stelle für die Convergenz der Lamellen, wo die Membran einen Tüpfel trägt.

Das Präparat, welches die Fig. 1, Taf. XV in ca. 50 facher Vergrößerung wiedergibt, bietet endlich die genügende Sicherheit dar, dass die Diastase die Reservecellulose aufzulösen vermag. Der Schnitt wurde durch die Ecke eines der Endosperm-Prismen geführt, welche der Einwirkung der Fermentlösung ausgesetzt worden waren. In der Zeichnung ist die Ecke reconstruirt worden. Der Theil, welcher mit *a b x* bezeichnet ist, war verschwunden, was man schon makroskopisch an der muschligen Bruchfläche bei *x* erkennen konnte. Wenn wir die Seiten *a* und *b* vergleichen, so sehen wir, dass die langgestreckten, pallisadenförmig gestellten Zellwände schwerer gelöst werden als die mehr dickwandigen der rundlichen Zellen. Diese letzteren liegen auf der gefurchten Seite des Dattelkerns, die ersteren dagegen auf der gewölbten Seite, aus welcher der Keimling hervorwächst. Offenbar sind dieselben durch grössere Festigkeit ausgezeichnet und leisten daher dem einwirkenden Ferment einen grösseren Widerstand.

Dieses Ergebniss steht auch mit den Vorgängen bei der Keimung in Einklang. Wir erinnern uns, dass das zapfenartige Scutellum oder

Saugorgan in das Innere des Endosperms eindringt, wo die erwähnten rundlichen und dickwandigen Zellen liegen. Es breitet sich alsdann oberhalb der gefurchten Seite nach beiden Enden des Kerns hin aus. In diesem Stadium gewähren die langgestreckten, mehr dünnwandigen Pallisadenzellen für das Gehäuse den nöthigen Halt. Erst nach und nach schwinden auch sie. Aehnliche Verhältnisse<sup>1)</sup> habe ich auch beim Maiskorn nachgewiesen. Die Diastase vermag hier bei längerer Einwirkung die dem Schildchen naheliegenden Zellwände aufzulösen; in die peripherischen Zellen dringt sie ohne Lösung der Zellhäute ein.

Die mit *x* bezeichnete Stelle ist in Fig. 6 Taf. XIV in stärkerer Vergrößerung dargestellt. Die Diastase hat hier nicht wie in den Figuren 4 und 5, sondern in der Ebene des Schnittes eingewirkt.

Wir sehen hier wieder die Lamellenbildung und gleichzeitig damit eine Aenderung des Lichtbrechungsvermögens. Besonders am Rande des Schnittes werden die Lamellen zerfasert und schliesslich gelöst. In der zweiten bis dritten Zelllage vom Rande aus gerechnet ist die erste Veränderung an den Zellwänden zu beobachten. Die Innenwand, welche das Zelllumen begrenzt, ändert zunächst ihr Lichtbrechungsvermögen, weiterhin hebt sich alsdann die Innenlamelle scharf ab. Es löst sich die Intercellularsubstanz, an deren Stelle ein Spaltraum entsteht. Schliesslich werden mehr Lamellen in der Wand sichtbar, und es beginnt die Zerfaserung mit nachfolgender Abschmelzung. Der ganze Vorgang deutet darauf hin, dass das Lösungsmittel in die Substanz eindringt, möglicherweise durch die Tüpfel in das Lumen und von dort in die innere Wandoberfläche. Bevor wir hierauf eingehen, wollen wir zunächst noch den thatsächlichen Befund weiter durchmustern. Die eben beschriebenen Vorgänge sind hauptsächlich bei den Zellen eingetreten, welche auf der gefurchten Seite des Dattelkerns liegen und welche mehr eine rundliche Form und sehr dicke Membranen haben. Ich will dieselben der Kürze halber die primären Nährzellen nennen, weil sie dem Keim die erste Nahrung liefern. Zwischen ihnen und den langgestreckten, mehr dünnwandigen Pallisaden-Endospermzellen, welche unter der Oberhaut liegen, finden sich vermittelnde Uebergangsformen. Bei diesen treten die Wandlamellen in immer geringerer Anzahl auf, je näher sie den Pallisadenzellen zu liegen. An letzteren unterbleibt entweder die Lamellirung, oder nur die innerste, dem Zelllumen angrenzende Wandschicht, welche dann sehr zart und hyalin ist, hebt sich von der übrigen Masse der Zellmembran ab. In diesem Falle tritt eine Abschmelzung von innen her an der Zelle ein. Die Corrosion kann aber noch in anderer Weise verlaufen: es löst sich die Intercellularsubstanz, und der dadurch entstehende Spaltraum er-

1) Ueber das Verhalten des diastatischen Enzyms in der Keimpflanze. PRINGSHEIM'S Jahrbücher für wissensch. Bot. Bd. XXVI.

weitert sich durch Umbiegen und Auseinanderweichen der Zellwände. Dieselben erscheinen dann häufig an ihrer Aussenseite wie „zerfressen“. Hier hat also das Lösungsmittel nach Auflösung der Mittellamelle von aussen her auf die Zellen gewirkt. Beide Arten, die Lösung von aussen und von innen her, können gleichzeitig eintreten und sind meist mit einer Aenderung des Lichtbrechungsvermögens der Reservecellulose verbunden.

Schliesslich will ich nochmals hervorheben, dass die beschriebenen Vorgänge erst stattgefunden haben können, nachdem das Zellgewebe der Einwirkung der Diastase ausgesetzt worden war. Vorher waren die Zellen bei der Untersuchung intact. Eine Zellthätigkeit ist auch bei dem Versuch vollständig ausgeschlossen, da die Flüssigkeit mit Chloroform beständig übersättigt gewesen war.

Ueber die Veränderung, welche ein dünner Schnitt in der Diastaselösung erleidet, habe ich schon an anderer Stelle berichtet.<sup>1)</sup> Die dort abgebildete Zelle stammt mehr aus den peripherischen Schichten des Dattelkerns, weshalb sie auch keine Lamellirung zeigte; doch ist an der Fig. 13 in Bd. XXVI, Taf. XX von PRINGSHEIM's Jahrbücher, deutlich der hyaline Rand der Zellwand sichtbar, welcher alsbald „abschmilzt“, wie dies die Fig. 15 auf derselben Tafel angiebt.

Diese Untersuchung habe ich noch mehrmals wiederholt. In unserer Fig. 7 Taf. XIV ist eine Zelle dargestellt, welche vor ihrer Behandlung mit Diastase intact war. Nachdem sie zwei Monate in der Fermentlösung verweilt hatte, wurde die abgebildete helle Randzone deutlich sichtbar. Schliesslich geben die Figuren 8 und 9 Taf. XIV noch die sogenannte „Abschmelzung“. In der ersteren ist die von den beiden Tüpfeln  $t_1$  und  $t_2$  durchsetzte Zellwand vor der Fermentwirkung gezeichnet, in der letzteren dagegen, nachdem der Schnitt über zwei Monate mit Diastaselösung behandelt worden war. Die hyaline Randzone sehen wir noch bei  $r$  und an den daneben liegenden Tüpfeln, die dadurch wie behöft erscheinen. Die Tüpfel  $t_1$  und  $t_2$  sind leicht wiederzufinden:  $t_3$  ist nur noch halb vorhanden.

Während also nach dieser Richtung jeder neue Versuch die vorhergehenden bestätigt, habe ich hier andererseits einen Irrthum richtig zu stellen: Die in der Fig. 8, PRINGSHEIM's Jahrb. für wissensch. Bot. Bd. XXVI, Taf. XX wiedergegebenen Spalten sind keine Trockenspalten, sondern Zerberstungsspalten, die beim Schneiden mittelst des Messers hervorgerufen sind.

Bevor wir auf die Erörterung der gefundenen Thatsachen näher eingehen, wollen wir erst noch einen Blick auf die Lösung der Reservecellulose mittelst Schwefelsäure werfen. Obgleich dieser Vor-

1) Ueber das Verhalten des Diastase-Ferments in der Keimpflanze. PRINGSHEIM's Jahrbücher für wissensch. Bot. Bd. XXVI.

gang wohl schon häufig beobachtet sein dürfte, so möchte ich doch einige Verhältnisse hervorheben, die, wie ich glaube, früheren Beobachtern entgangen sein können.

Wir stellen uns von einem Dattelkerne senkrecht zur Längsachse desselben einen Schnitt dar, dessen Umriss, wenn möglich an allen Stellen durch die Oberhautzellen des Endosperms gebildet wird. Dieses Object bringen wir in Schwefelsäure, welche im Verhältniss von 1:3 mit Wasser verdünnt ist.

Nach längerer Einwirkung bemerkt man, wie zunächst die primären Nährzellen angegriffen werden, erst nach und nach, jedenfalls aber viel später, fallen auch die Wände der Pallisadenzellen dem Lösungsprocess anheim. Wir sehen also auch hier, dass die letzt-erwähnten Elemente viel fester aufgebaut sind, entsprechend ihrer physiologischen Bedeutung für den sich mehr und mehr aushöhlenden Kern ein festes Gerüst zu bilden.

Der Lösungsvorgang geschieht in der Weise, dass sich die Reservecellulose durch die Einwirkung der Schwefelsäure in einen gequollenen sehr hyalinen und schliesslich sich lösenden Körper verwandelt, welcher nach REISS<sup>1)</sup> in „Seminin“ übergeht. Dasselbe besteht aus einem Gemenge links drehender Kohlenhydrate und Spaltungsproducte, welche bei weiterer Hydrolyse in Mannose verwandelt werden.

Um festzustellen, wie diese Substanz aus der Cellulose hervorgeht, unterbrechen wir die Lösung, indem wir die Säure durch Wasser ersetzen. Die einfachste Art von Lösungserscheinungen beobachten wir alsdann an den Pallisadenzellen. In Fig. 2 Taf. XV ist ein Querschnitt derselben senkrecht zur Längsachse der Zellen dargestellt. Wir sehen hier die durch Schwefelsäure umgewandelte Wandmasse, welche hyalin ist und keine Spur von Schichtung zeigt. In derselben liegen die noch intacten Cellulosestücke, welche gleichsam das Ansehen von Eisstücken haben, die auf der Wasseroberfläche schwimmen. Diese Membranüberreste haben überall einen scharfen Rand, und man könnte hier gewissermassen von einem „Abschmelzen“ sprechen, obwohl dieser Ausdruck nicht ganz zutreffend ist; denn bei einer Abschmelzung wird nur der Aggregatzustand verändert, wogegen hier ein Umwandlungsprocess vorliegt.

Ich möchte für den falschen Ausdruck „Auslaugung“ den Ausdruck „Allöolyse“ vorschlagen, wodurch wenigstens angedeutet wird, dass mit der Lösung oder „Abschmelzung“ und der theilweisen Hydrolyse eine Verwandlung der Zellwand eintritt.

Nicht so einfach verhalten sich die primären Nährzellen. In Fig. 3 Taf. XV ist der zum Längsdurchmesser senkrechte Querschnitt zweier Zellen bei starker Vergrösserung (ca. 500) dargestellt. Beide Zellen

1) REISS, Ueber die Natur der Reservecellulose. Landwirthsch. Jahrbücher, 1889.

sind durch eine dicke, an beiden Enden Tüpfel tragende Wand getrennt, auf deren beide Seiten die Schwefelsäure ihre Wirkung auszuüben beginnt.

Wenn wir annehmen, dass die Reservecellulose gleich einem Stärkekorn aufgebaut ist, also auch aus Schichten von verschiedener Dichtigkeit resp. wasserärmerer und wasserreicherer Substanz besteht, so wird zunächst diese letztere gelöst, und da nun die Schwefelsäure beständig Wasser anzieht, so werden die aus dichter Masse bestehenden Lamellen allmählich auch auseinandergeschoben. Es lässt sich direct beobachten, wie die sich bildenden feinen Blättchen von einander rücken und bald darnach in einen hyalinen Körper übergehen. In der Mitte unserer zu beobachtenden Zellwand (Fig. 3 Taf. XV) findet sich noch völlig intacte Cellulose, welche weder hyalin noch gequollen ist.

Der Lösungsvorgang ist demnach auch in den primären Nährzellen eine Allöolyse, welche durch die besonderen Strukturverhältnisse der Zellwand bedingt wird.

Der durch die Einwirkung der Schwefelsäure entstandene gequollene, hyaline Körper zeigt also in den primären Nährzellen eine feine Lamellirung, welche man durch Behandlung mit Alkohol-Aether sehr gut sichtbar machen kann. S. Fig. 4 Taf. XV. Dagegen ist der aus den Pallisadenzellen hervorgegangene entsprechende Körper wie Fig. 2 Taf. XV zeigt, völlig structurlos.

Wir wollen nun die Lösungsverhältnisse, welche einerseits durch Schwefelsäure — andererseits durch Diastasebehandlung eintreten, mit einander vergleichen. Es ist uns jetzt klar, weshalb einige Schnitte nach ihrem Verweilen in Diastaselösung eine Lamellenbildung, andere nur einen hyalinen Rand aufweisen. Diese letzteren sind Pallisadenzellen, deren Wand überhaupt nicht aus Lamellen besteht. Nur an den primären Nährzellen (s. Fig. 4 und 5 Taf. XIV) kann die Schichtenbildung nach der Einwirkung der Diastase hervorgerufen werden.

In den Figuren 4 Taf. XIV und 4 Taf. XV zeigen sämtliche Zellen eine Lamellirung, da es in beiden Fällen primäre Nährzellen sind, welche durch die betreffenden Reagentien angegriffen worden sind. Auf der oberen Seite der Fig. 4 Taf. XV sind einige Membranstücke abgebildet, welche von der Schwefelsäure noch nicht angegriffen worden sind und in der gequollenen, vollständig wasserbellen und Lamellenstructur zeigenden Wandmasse liegen. In dem Präparat, welches die Fig. 4 Taf. XIV wiedergiebt, zeigen die durch die Diastase veränderten Zellhäute keine Spur von Quellung. Die Lichtbrechung der Membran ist hier allerdings verändert, aber selbst an den Stellen *a* und *b*, wo die Abschmelzung beginnt, ist die Masse nicht so wasserhell und durchsichtig wie die durch Schwefelsäure veränderte Zellwand.

Es kommt nun noch ein dritter Unterschied hinzu: Wir können nämlich die Wirkung der Diastase noch weiter sichtbar machen, wenn

wir zu dem Präparat Fig. 4 Taf. XIV Kalilauge setzen. Das Gewebe nimmt dann die Form an, wie es in der Fig. 5 Taf. XV dargestellt ist. In einer hyalinen, wasserhellen und Lamellirung zeigenden Grundmasse, finden wir die intacten Wandstücke, welche einen zackigen Rand haben. In einer Beziehung ist jedoch die geschichtete Grundmasse verschieden von dem durch Schwefelsäure entstandenen Quellungskörper: sie ist nicht so stark gequollen. Das Zelllumen verliert nach einem geringen Zusatz von Kalilauge nicht viel an Raum, wogegen bei Behandlung der Endospermzellen mittelst Schwefelsäure das Zelllumen fast verschwindet. Dieser Unterschied der beiden Substanzen ist jedoch ohne Belang, da die Quellung durch die stark wasseranziehende Eigenschaft der Schwefelsäure bedingt wird. Ob sie beide von gleicher Zusammensetzung sind, kann nur durch eine chemische Untersuchung, die ich mir noch vorbehalte, dargethan werden.

Wichtig ist, dass wir durch den Zusatz von Kalilauge zu der durch Diastase veränderten Reservecellulose zu erkennen vermögen, wie dieselbe von dem Ferment angegriffen wird. Die noch intacte Cellulose zeigt einen zackigen Rand, resp. eine rauhe Oberfläche. Bei der Schwefelsäure-Einwirkung haben die noch nicht in den Quellungskörper verwandelten Zellwandüberreste glatten Rand und glatte Oberfläche (s. Fig. 2 u. 4, Taf. XV); in den primären Nährzellen ist jedoch der Rand, wie wir bei starker Vergrößerung erkennen, wegen der Lamellenbildung, wenn die Säure nicht stark concentrirt ist und die Einwirkung langsam erfolgt, nicht völlig glatt, sondern schwach zerfasert (s. Fig. 3, Taf. XV), keineswegs ist der Rand aber zackig.

Der Lösungsmodus der Zellwand bei der Diastase-Einwirkung ist darnach wie bei der Schwefelsäure-Einwirkung trotz der angegebenen Verschiedenheit als Allöolyse zu bezeichnen. Eine Auslaugung im eigentlichen Sinne liegt nicht vor. Diesen Ausdruck kann man z. B. bei der Sodagewinnung anwenden: das Wasser dringt in die Schmelzmasse (beim LEBLANC'schen Verfahren) ein und bringt die fertig gebildeten Natriumcarbonat-Moleküle in Lösung. Das gelöste Salz diffundirt aus dem unveränderten Rückstand heraus. Wenn dagegen die Diastase die Reservecellulose angreift, so wird diese mit dem Eindringen des Fermentes und bei einer gleichzeitigen theilweisen Hydrolyse der Zellwandelemente verändert: wir können also den Vorgang als Allöolyse bezeichnen. Dass diese Vorstellung richtig ist, zeigt sich noch dadurch, dass der durch Kalilauge hervortretende hyaline Körper, welcher bei weiterer Diastase-Einwirkung „abschmilzt“, eine Substanz ist, deren Doppelbrechung bedeutend herabgesetzt ist, wogegen die intacte Reservecellulose vollständig anisotrop ist; hier liegt wahrscheinlich ein Körper vor, welcher wie das Mannan seiner chemischen Zusammensetzung gemäss eine Celluloseart sein mag. Das Resultat ergibt sich mit anderen Worten folgendermassen: Der Umsetzungsprocess der

Reservecellulose zeigt Verschiedenheiten, je nachdem er durch Schwefelsäure oder durch Diastase erfolgt, nichtsdestoweniger kann er in beiden Fällen in demselben Sinne verlaufen, worüber, wie ich schon oben erwähnte, nur makrochemische Untersuchungen die Entscheidung bringen können. Zu erwähnen ist noch, dass die Blaufärbung durch Jod-Schwefelsäure an der durch Diastase corrodirten Membran, wenn auch schwach, noch hervortreten kann.

Wir vergleichen nun die Diastasereaction mit den Lösungsvorgängen, welche während der Keimung stattfinden. Ueber diese letztere ist schon von REISS<sup>1)</sup> vorgearbeitet worden, dessen Resultate ich bestätigen kann. Doch habe ich einiges hinzuzufügen: in den primären Nährzellen ist die hyaline Randzone deutlich geschichtet, wie ich bei keimenden Dattelkernen gefunden habe, deren Keim eine Länge von 2—3 *mm* hatte. In den Pallisadenzellen machte sich beim Beginn der Keimung die Randzone dadurch bemerkbar, dass eine dünne Innenlamelle scharf hervortrat.

Vergleichen wir unsere Fig. 7 Taf. XIV mit der REISS'schen Fig. 1e, so ergibt sich eine völlige Uebereinstimmung beider. Was die Schichtung bei den primären Nährzellen anbelangt, so ist dieselbe aus unserer Fig. 15 Taf. XIV ersichtlich, in der das Stück einer Zellwand dargestellt ist, welche im Innern noch intacte Cellulose hat. Die Lamellen sind in der Randzone und ausserhalb derselben sichtbar; sie schwinden ungleichmässig, und ihre Ueberreste erstrecken sich in das Zelllumen. Dass die Lamellenbildung von REISS übersehen ist, liegt vielleicht daran, weil er die Untersuchung an sehr viel älteren Keimpflanzen geführt hat.

An den corrodirtten Wänden der primären Nährzellen habe ich ganz ähnliche Verhältnisse gefunden, wie sie in unserer Fig. 6 Taf. XIV gegeben sind. Ein Unterschied hierbei ist der, dass bei der Keimung wegen der energischeren „Abschmelzung“ die Randzone viel schmaler ist, weswegen auch die Lamellen nicht so deutlich und zahlreich auftreten als wie bei der Diastasereaction. Weiter lässt sich die Aehnlichkeit beider Processe in folgender Weise darthun: bei Zusatz von Kalilauge wird auch die bei der Keimung sich bildende Randzone wasserhell, und die Doppelbrechung, wie sich im polarisirten Licht zeigt, wird alsdann bedeutend herabgesetzt; der Rand der intacten Cellulose ist auf derartig behandelten Querschnitten zwar nicht so stark corrodirt wie bei der Diastasewirkung unter gleichen Verhältnissen, aber doch nicht völlig glatt. Schliesslich kann in beiden Fällen die corrodirtte Membran mittelst Jod-Schwefelsäure noch schwach blau gefärbt werden, und in beiden Fällen löst sich die Randzone durch verdünnte Schwefelsäure

1) S. Landwirthschaftliche Jahrbücher, 1889. Ueber die Natur der Reservecellulose.

leichter als die intacte Membran. Ferner kann die Randzone durch alkalisches Alizarin viel leichter gefärbt werden, als die unveränderte Reservecellulose.

Dieser Parallelismus macht es schon sehr wahrscheinlich, dass die Reservecellulose während der Keimung durch Fermente gelöst wird, welche der Diastasegruppe angehören. Ich konnte indessen noch den directen Nachweis führen. Die VAN TIEGHEM'sche Methode: die vom Endosperm losgelösten Keimlinge auf Stärkebrei wachsen zu lassen, führte zu keinem Resultat, da die Keimlinge sehr bald zu Grunde gehen. Auch eine andere Versuchsreihe: Die der Keimpflanze fortgenommene eine Hälfte des Endosperms durch einen Stärkebrei zu ersetzen, welcher mit einer Collodiumhaut umhüllt und so der andern Endospermhälfte angesetzt wurde, erwies sich wegen der Pilzansammlung als zwecklos. Es wurden daher die Schildchen von 60 Keimpflanzen in Glycerin zerquetscht und der Masse dünne Endospermscheiben beigegeben. Nach 2 Monaten zeigten dieselben eine raue Oberfläche, und auf den Schnitten liess sich eine deutliche Corrosion der Zellwände erkennen, welche hauptsächlich in einer „Abschmelzung“ bestand (s. Fig. 6 Taf. XV). Nach Entnahme der Endospermscheiben wurde dem Glycerin-Auszug Stärkekleister zugesetzt. Es zeigte sich nach mehreren Stunden, dass das Gemenge durch Jodtinctur violett und schliesslich garnicht mehr gefärbt wurde. Mit FEHLING'scher Lösung ergab sich ein Niederschlag von Cuprooxyd.

Nach diesen Untersuchungen ist es wohl zweifellos, dass die Lösung des Endosperms in der keimenden Dattel durch ein Ferment aus der Diastasegruppe besorgt wird.

### Resultate.

1. Diastase und Reservecellulose reagiren auf einander.
2. Die Lösung der Reservecellulose durch Diastase ist als „Allöolyse“ zu bezeichnen, d. h. das Ferment dringt in die Zellwand ein, wobei dieselbe gleichzeitig durch theilweise Hydrolyse der Wandelemente verändert wird; bei weiterer Einwirkung der Diastase wird sie in einen löslichen Körper (wahrscheinlich Mannose) übergeführt.
3. Die Lösung der Reservecellulose geschieht in der keimenden Dattel durch ein Ferment, welches der Diastasegruppe angehört.

Nach diesen Ausführungen möchte ich noch darauf hinweisen, dass der Ausdruck „Auslaugung“ auf ein Stärkekorn nicht anwendbar ist, selbst wenn sich bestätigen sollte, dass sich Stärkekörner auffinden lassen (s. PRINGSHEIM's Jahrb. Bd. XXVI, Taf. XIX, Fig. 5), deren

Lichtbrechung in Folge von Diastase-Einwirkung verändert ist. In einem solchen Falle läge nur eine „Allöolyse“, aber keine „Auslaugung“ vor.

### Anmerkung.

Der Ausdruck „Allöolyse“ soll nicht etwa den Ausdruck „Hydrolyse“ ersetzen, sondern nur für den fälschlich gebrauchten Ausdruck „Auslaugung“ angewendet werden. Ein Beispiel bietet die Allöolyse der Zellwand an den parenchymatischen Zellen der Leguminosencotyledonen in Folge von Diastase-Einwirkung. Der Vorgang hierbei erfolgt wahrscheinlich in der Weise, dass der eine Bestandtheil durch hydrolytische Spaltung in Galaktose übergeht; der andere resistenterere dagegen wird erst durch stärkere Einwirkung, durch Pilz-Fermente etc. schliesslich in Arabinose übergeführt. Da die die Zellwand zusammensetzenden Moleküle diese zwei Zuckerarten bei der Hydrolyse liefern, ist die Substanz von E. SCHULZE Paragalactoaraban genannt worden.

Das Reservecellulose- oder Mannanmolekül dürfte bei der hydrolytischen Spaltung durch Diastase in Mannin und schliesslich in Mannose übergehen.

### Erklärung der Abbildungen.

#### Taf. XIV.

- Fig. 1. Schnitt von einem getrockneten Dattelendosperm. Die Zellen sind parallel zum Längsdurchmesser durchschnitten. Das Messer ist beim Schneiden von oben nach unten geführt. Vergr. 300.
- „ 2. Dasselbe; nur ist das Messer von rechts nach links geführt worden.
- „ 3. Die Zellmembran zeigt Spalten, welche durch Quetschung des Endospermstückes entstanden sind.
- „ 4 u. 5. Primäre Nährzellen, auf welche Diastase eingewirkt hat; in der Zellwandung sind Lamellen zu erkennen, welche der Wandoberfläche parallel sind. Bei *a* und *b* findet eine „Abschmelzung“ statt. Fig. 4 giebt den Querschnitt, Fig. 5 den Längsschnitt der Zellen. Die Einwirkungsrichtung steht senkrecht zu der Ebene des Schnittes.
- „ 6. Dasselbe; die Einwirkungsrichtung liegt in der Ebene des Schnittes. Vergr. 300.
- „ 7. Zellen aus einem Schnitt, welcher etwa zwei Monate mit Diastaselösung behandelt wurde. Der Rand der verdickten Wandung ist hyalin geworden.
- „ 8. Stück einer intacten Zellwand.
- „ 9. Dasselbe nach Behandlung mit Diastase.  $t_1$ ,  $t_2$  und  $t_3$  sind die entsprechenden Tüpfel in beiden Figuren; *r* ist der hyalin gewordene Rand.
- „ 10. Die Zellwand einer primären Nährzelle, die sich im Stadium der Auflösung befindet und einer keimenden Dattel (Keimling 2–3 mm) entnommen ist. Vergr. 700.

## Taf. XV.

- Fig. 1. Ein Endospermstück, dessen Ecke  $abx$  durch Diastasewirkung abgeschmolzen ist. Vergr. 50. Die Stelle  $x$  entspricht der ebenso bezeichneten Stelle in Fig. 6 Taf. XV.
- „ 2. Ein Schnitt durch Pallisadenzellen nach Behandlung mit Schwefelsäure. Die dunklen Stücke bestehen aus intacter Cellulose.
- „ 3 und 4. Primäre Nährzellen bei Behandlung mit Schwefelsäure. Die Schichtung der angegriffenen Wandmasse tritt nach Zusatz von Alkohol-Aether deutlich hervor. Fig. 3 stärker vergrössert (etwa 500).
- „ 5. Ein Schnitt, wie ihn Fig. 4, Taf. XIV giebt, ist mit Kalilauge behandelt. Die von der Diastase angegriffene Cellulose ist dadurch vollständig hyalin geworden, so dass man in derselben die intacte Zellwandmasse erkennen kann, deren Oberfläche ein rauhes Ansehen hat.
- „ 6. Schnitt von einer Endospermscheibe, welche sich mit zerquetschten Schildchen zusammen längere Zeit in Glycerin befand.

## 5. J. B. de Toni und K. Okamura: Neue Meeresalgen aus Japan.

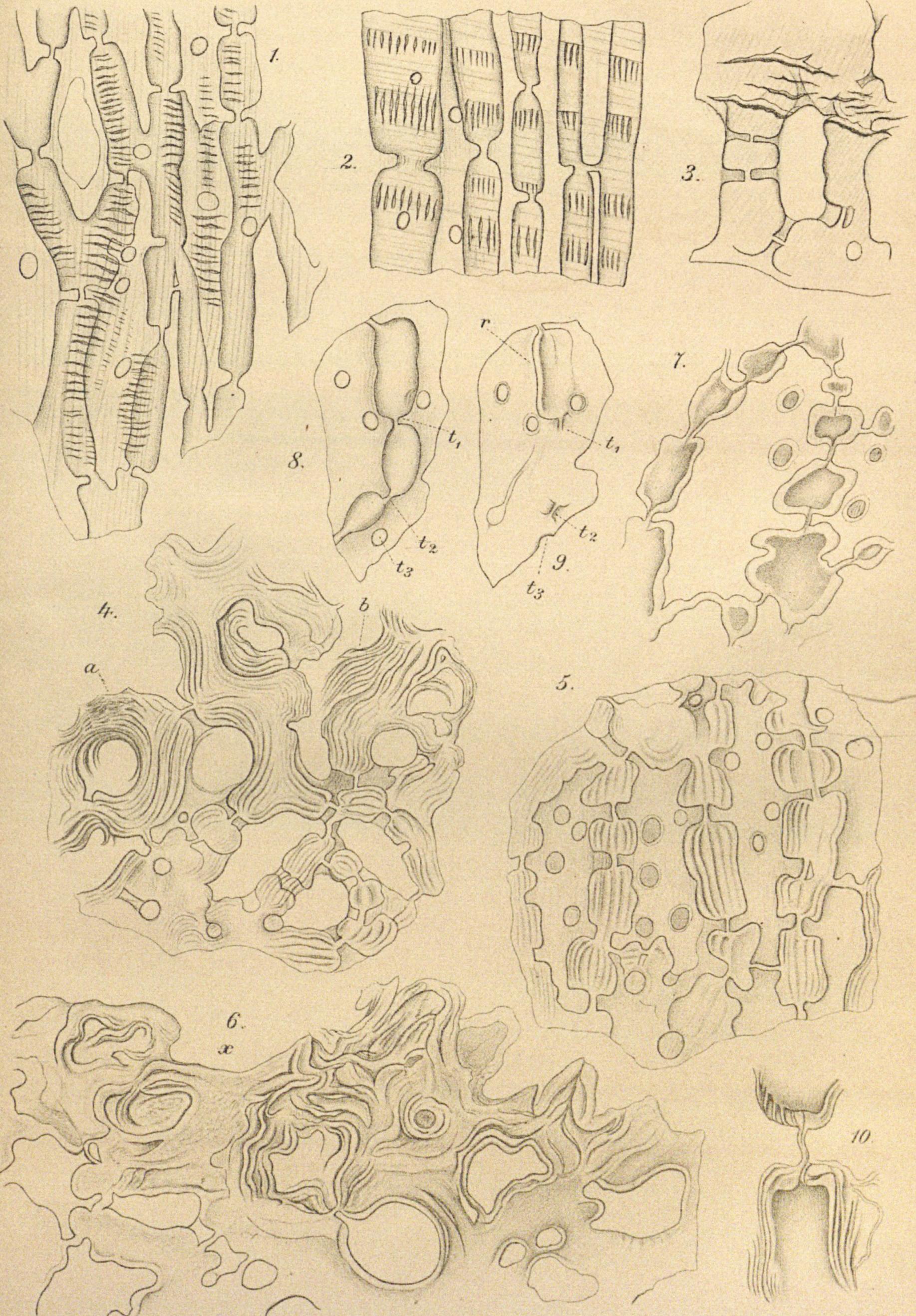
Mit Tafel XVI.

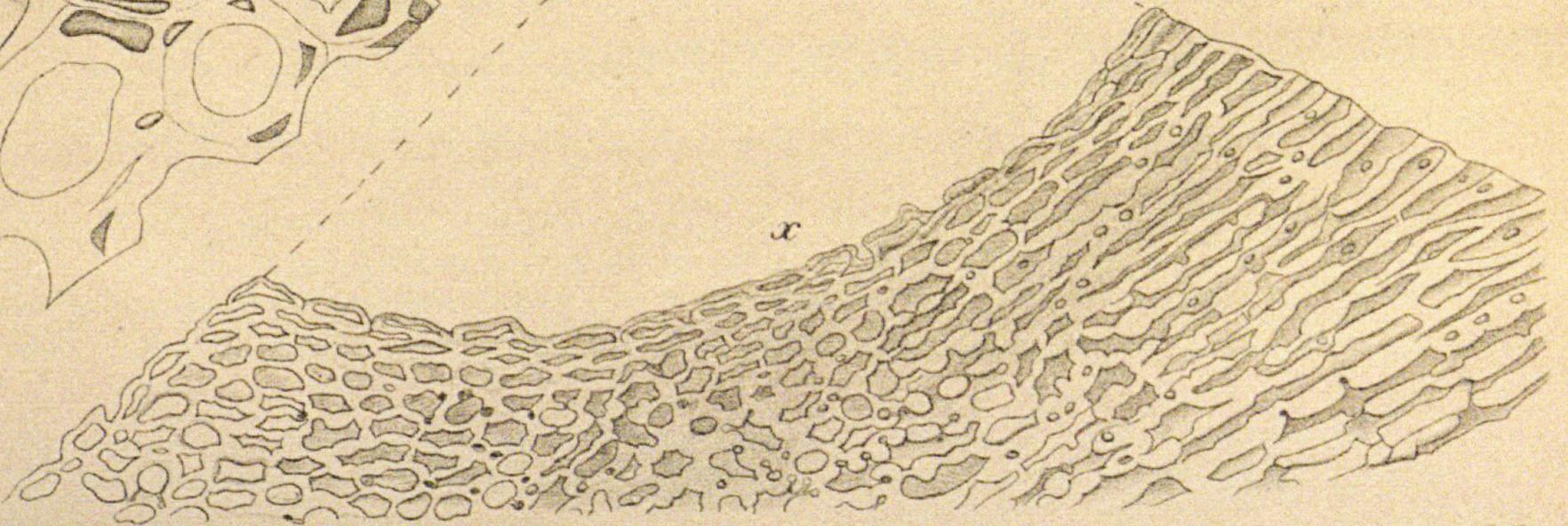
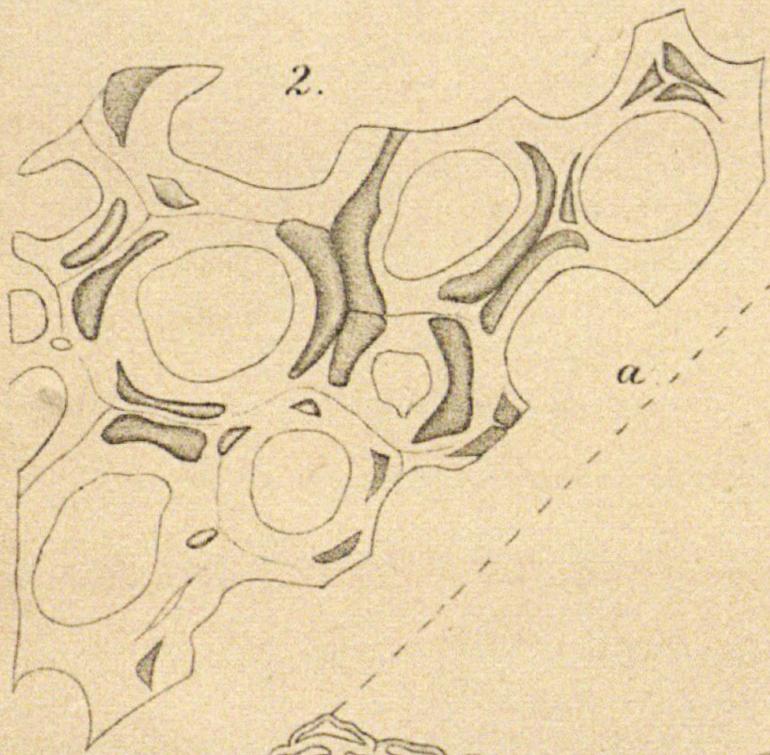
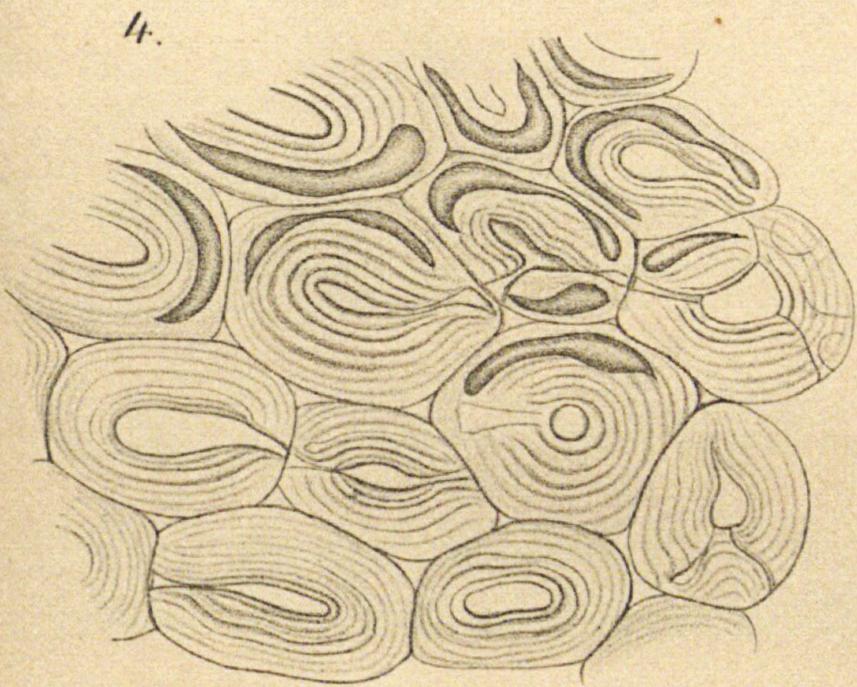
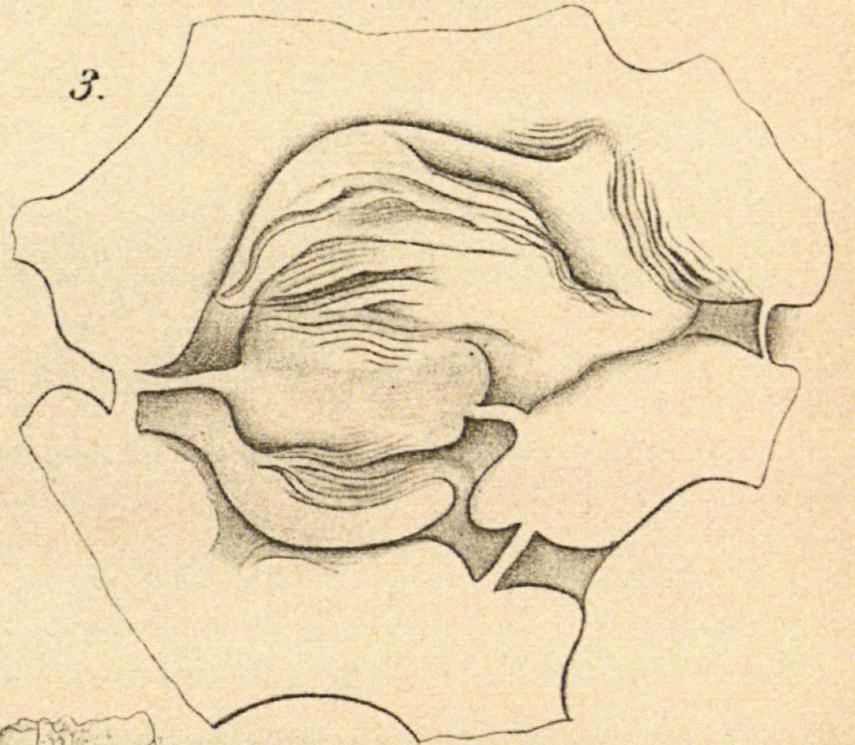
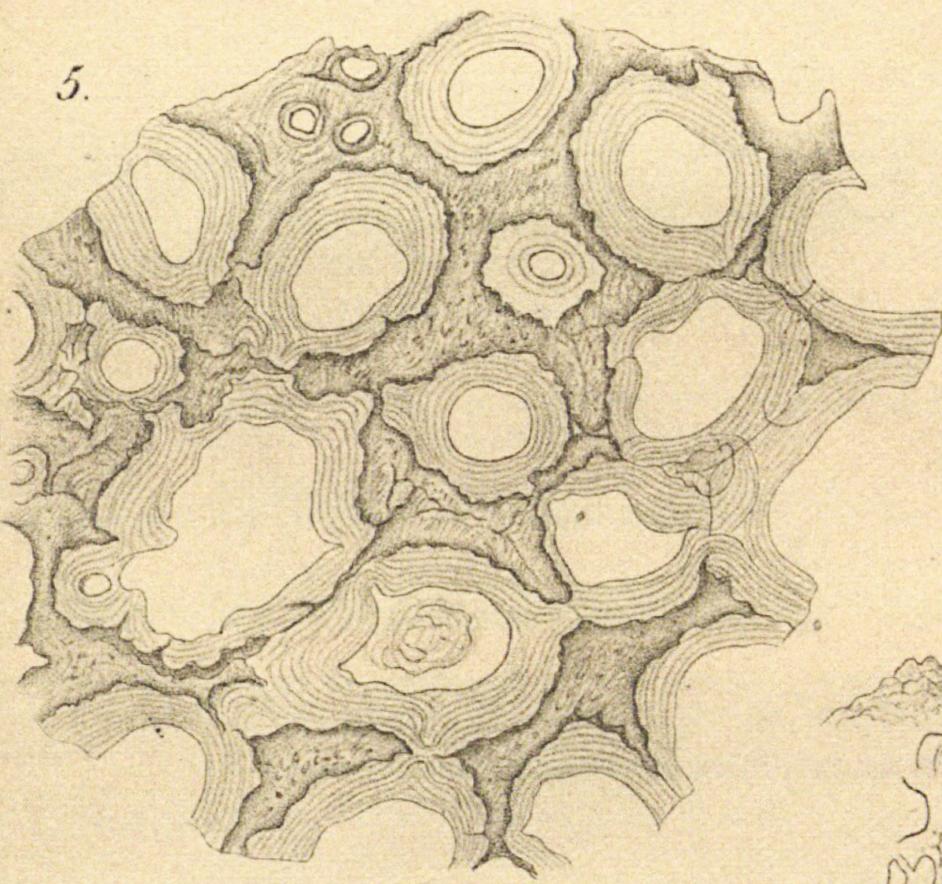
Eingegangen am 28. September 1894.

Seit dem Erscheinen der bedeutsamen Werke POSTEL's und RUPRECHT's (1840, 1850) wurden betreffs der phykologischen Flora der japanischen Küsten wichtige Beiträge geliefert, die hier in Kürze chronologisch mitgetheilt werden sollen. HARVEY<sup>1)</sup> hat 1859 einige neue japanische Algen, welche während der Expedition des Capt. J. RODGERS durch den nördlichen Theil des Stillen Oceans von C. WRIGHT gesammelt worden waren, aufgestellt. Die preussische Expedition der Fregatte „Thetis“ nach Ost-Asien hat einige Algen-Materialien bei Nangasaki gesammelt; G. V. MARTENS<sup>2)</sup> hat die Algen der „Thetis“ illustriert und eine sehr nützliche Uebersicht der bis zu jenem Jahre (1866) aus Japan (und dem nördlichen China) bekannten Tange zusammengestellt. Es folgen diesen Arbeiten drei interessante

1) W. H. HARVEY, Characters of new Algae, chiefly from Japan and adjacent regions collected by CHARLES WRIGHT in the North Pacific Exploring Expedition under the Capt. JOHN RODGERS. — Proceed. of the Amer. Academy. vol. IV (1859).

2) G. V. MARTENS, Die Preussische Expedition nach Ost-Asien. Botanischer Theil: Die Tange, mit 8 Tafeln. — Berlin 1866.





# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1894

Band/Volume: [12](#)

Autor(en)/Author(s): Grüss(Grüß) J.

Artikel/Article: [Ueber die Einwirkung der Diastase-Fermente auf Reservecellulose. 1060-1072](#)