

Mittheilungen.

I. J. Grüss: Die Diastase im Pflanzenkörper. (Vorläufige Mittheilung).

△ Mit Tafel I. □

Eingegangen am 2. Januar 1895.

Bekanntlich hat SCHÖNBEIN gefunden, dass Diastase, Guajak und Wasserstoffsuperoxyd auf einander einwirken¹⁾). Darauf begründe ich eine mikrochemische Reaction zur Erkennung der Diastase im Pflanzenkörper.

Die pflanzlichen Objecte lässt man kürzere oder längere Zeit in einer dunkelbraunen Lösung von Guajak-Harz in absolutem Alkohol liegen. Dieser Lösung darf kein Aether zugesetzt sein, welcher die Wirkung beeinträchtigen würde. Nachdem die Objecte genügend durchtränkt sind, lässt man den Alkohol abdunsten und bringt sie in eine mehr oder weniger verdünnte Lösung von Wasserstoffsuperoxyd. Im Uebrigen muss sich die speciellere Behandlungsweise nach dem Material richten. Sofort erscheint eine prächtig blaue Färbung in denjenigen Zellen vom Gewebe, welche Diastase enthalten.

Durch den in die Objecte eindringenden Alkohol wird im Zellsaft die Diastase, durchtränkt mit Guajak, gefällt. Das eindringende Wasserstoffsuperoxyd färbt den Niederschlag blau, welcher sich im Gewebe nicht weiter vertheilen kann, da er in Wasser unlöslich ist. Will man ein derartiges Präparat längere Zeit beobachten, so kann man nicht Glycerin als Einbettungsflüssigkeit wählen, weil darin die blaue Farbe alsbald verschwindet, sondern flüssiges Paraffin (sogenanntes Paraffinöl), in welchem sie sich sehr gut hält. Man hat natürlich das Präparat vorher zu trocknen und zur Entfernung der Luftblasen ein wenig in dem Paraffinöl zu erwärmen. Bei manchen Objecten (Stärkekörner, Reservecellulose etc.) kann auch Canadabalsam verwendet werden, aus welchem man aber den Aether vorher entfernen muss. Diese Methode liefert vorzügliche Resultate, denn ich habe dieselben auf einem anderen Wege, durch quantitative Bestimmung der Diastase mittelst *Cu O*, controlliren können. Ueberhaupt müssen bei der

1) Siehe darüber auch C. J. LINTNER, Studien über Diastase I. (Journ. für prakt. Chemie. XXXIV.)

Diastaseforschung stets mehrere Wege bei der Untersuchung gleichzeitig neben einander eingeschlagen werden.

Bevor wir indessen auf die durch die Guajak-Methode gewonnenen Resultate näher eingehen, wollen wir noch der Frage näher treten, wie sich die Maltose bei der Einwirkung der Diastase auf Stärke verhält. Löst man in einer kräftig wirkenden Lösung von Diastase eine hinreichend grosse Menge Maltose auf und setzt darauf Weizenstärke zu, so bleibt selbst bei Optimaltemperatur die Stärke vollständig unverändert. Statt Maltose kann man auch Dextrose nehmen. Fügt man nun einer solchen Lösung, in der die hydrolytische Kraft der Diastase gehemmt ist, mehr und mehr Wasser zu, so erscheinen alsbald, wenn die Lösung hinreichend verdünnt ist, die ersten Corrosionen an den Stärkekörnern. Die gleiche Erscheinung findet statt, wenn man die Diastase in Glycerin löst und Stärkekörner zusetzt. Dieselben werden erst corrodirt, wenn man mehr und mehr Wasser zugiebt. Prüft man eine Lösung, in der die hydrolytische Kraft der Diastase durch wasseranziehende Mittel (Maltose, Glycerin etc.) so gehemmt ist, dass keine Hydrolyse der Stärke erfolgt, mit Guajak-Wasserstoffsperoxyd, so findet man, dass die katalytische Kraft des Ferments voll und ganz wirksam ist, wie dies der blaue Niederschlag anzeigt. Dies war auch zu erwarten, da in diesem Falle kein Wasser, sondern der Sauerstoff übertragen wird.

Von den vielen, nach dieser Richtung hin unternommenen Versuchen, will ich einen als Beispiel herausgreifen:

10 g Maltose wurden in 20 *ccm* einer 4 prozentigen Lösung löslicher Stärke aufgelöst und 3 Tropfen einer kräftigen Diastaselösung zugegeben. Zur Controlle wurde eine gleiche Fermentmenge gleichzeitig zu 20 *ccm* einer reinen Stärkelösung gesetzt. Nach 24 Stunden ergab die Maltose-Stärkelösung auf Jodzusatz eine röthlich-violette Färbung, die andere Lösung konnte selbst durch viel Jod nicht mehr gefärbt werden. Andere Lösungen, die nach derselben Versuchsanordnung bereitet worden waren, zeigten selbst nach mehreren Tagen noch die gleiche Jodfärbung. Als aber zu einer Lösung Wasser hinzugefügt wurde, war nach kurzer Zeit die Stärke vollständig verwandelt worden. Eine grosse Reihe derartiger Versuche, die allerdings noch nicht ihren Abschluss gefunden haben, führten mich zu der hydrolytischen Gleichung:

$$H = \frac{d \cdot n^{v_1} \cdot w^{v_2}}{k(\beta - a)^{v_1} \cdot m^{v_1}}$$

In dieser Gleichung sind k , n , a , β Constanten; a sind die Anzahl Calorien, welche zur Verdampfung von 1 *ccm* Wasser von 100° nöthig sind; β die Anzahl Calorien, welche das Wasser von 100 *ccm* bei 100° gesättigter Maltoselösung verdampfen. Zu der Sättigung

werden ng Maltose gebraucht. Die Constanten n , $\beta - a$ hängen also von der Zuckerart ab.

H bedeutet die hydrolytische Kraft einer Gewichtseinheit Diastase, gemessen durch die in einer Minute in einer 1 prozentigen Stärkelösung gebildete Zuckermenge. Diese Kraft wird geringer, wenn wir der Stärkelösung Maltose zusetzen, also in der Gleichung m , die Gewichtsmenge Maltose, vergrössern, und zwar giebt v_1 das noch näher zu bestimmende Verhältniss an. d ist die wirkende Diastasemenge und w die Kubikcentimeter Wasser, in welchen das Ferment wirkt. Beiden Grössen ist die hydrolytische Kraft H direct proportional, was für w bis zu einer bestimmten Grenze und in einem noch zu bestimmenden Verhältniss v_2 gilt. Die Ermittelung der Constanten, sowie die Bestimmung der einzelnen Grössen durch graphische Darstellung bleibt einer ausführlicheren Arbeit überlassen.

Bevor wir uns mit der Wirksamkeit der Diastase im Pflanzenkörper beschäftigen, werfen wir einen Blick auf die Vertheilung des Ferments im Gewebe.

Ein ruhendes, trockenes Maiskorn wird durchschnitten und mit Guajak-Wasserstoffsuperoxyd behandelt. In Fig. 5 ist das Korn abgebildet, nachdem die Reaction eingetreten ist. In Fig. 6 ist von diesem Korn die Aleuronschicht mit dem angrenzenden Gewebe und in Fig. 7 die Pallisadenschicht des Schildchens mit den damit in Verbindung stehenden Zellen in stärkerer Vergrösserung wiedergegeben. Darnach enthalten die Aleuronzellen mehr oder minder Diastase und ebenso die Zellen des Schildchens. Wenig Ferment findet sich in den primären Nährzellen, auf der ventralen Seite des Endosperms. Die secundären Nährzellen, welche den harten, hornigen Theil des Endosperms ausmachen, sind völlig frei von Diastase.

Wir entfernen von einem trockenen Maiskorn vorsichtig das Schildchen und lassen nun dieses Korn gleichzeitig mit einem intacten drei Tage in Wasser liegen. Ebenso lange verbleibt ein Maiskorn, dessen Schildchen entfernt ist, in Diastaselösung. Die drei Körner werden danach durchschnitten und mit Guajak-Wasserstoffsuperoxyd behandelt, und zwar alle in derselben Weise. Die Querschnitte sind in den Figuren 10, 11, 12 dargestellt. In der ersten Figur sehen wir das Endosperm mit Diastase infiltrirt, wogegen in Fig. 11 die ventrale Seite des Endosperms nur wenig Ferment enthält. An allen drei Körnern hat sich aus den Aleuronzellen eine kleine Diastasefluth erhoben, desgleichen stärker aus den Pallisadenzellen des intacten Korns in Fig. 12. Von gleichliegenden Stellen (angedeutet durch die Stelle x in Fig. 10, 11 und 12) wurden mikroskopische Schnitte gemacht, welche in den Figuren 13, 14 und 15 abgebildet sind. Wie Fig. 15 zeigt, hat sich aus den Pallisadenzellen des Schildchens vom intacten Maiskorn eine Diastasefluth erhoben und ist in die dem Schildchen an-

grenzenden Endospermzellen eingedrungen. Der Schnitt, den Fig. 14 darstellt, zeigt, dass diese Zellen an und für sich nur wenig Ferment enthalten; schliesslich ist aus Fig. 13 zu ersehen, wie die Diastase in das Gewebe eindringt. In der Mitte des oberen Theiles sind aus einer Zelle die Stärkekörner beim Durchschneiden herausgefallen.

Um zu zeigen, wie sich auch aus den Aleuronzellen eine Diastasefluth erhebt, trennen wir von einem trockenen Maiskorn das Schildchen ab und schneiden aus der dorsalen Seite des Endosperms ein kreisrundes Stück durch einen tangential geführten Schnitt heraus (siehe Fig. 8). Dadurch wird also von dem Endosperm ein Theil der Aleuronschicht samt einigen angrenzenden Endospermzellen entfernt. Das so präparirte Korn bleibt drei Tage im Wasser liegen und wird dann auf Diastase untersucht. Wir sehen, wie sich die Aleuronzellen lebhaft bläuen, wie diese Färbung nach der Mitte der kreisförmigen Fläche hin abnimmt, welche hier ungefärbt ist. In Fig. 9 ist ein Stück von jener ringförmigen Zone bei mikroskopischer Betrachtung dargestellt. Die äusserste Schicht ist die Samenschale, deren Zellen theilweise von oben gesehen sind; wir sehen, wie sich von den Aleuronzellen aus eine in die Endospermzellen sich vertheilende Diastasefluth erhebt.

Für die Ansicht, dass die Aleuronzellen Diastase erzeugen und secerniren, bestehen somit drei Beweise:

1. In einer früheren Schrift¹⁾ führte ich folgende Analyse an:

Von 20 Keimpflanzen von *Zea Mays* wurden von keimenden Samenkörnern die Schildchen, die Endosperme und die Aleuronschichten abpräparirt. Die Extracte dieser drei Theile, mit Stärkekleister behandelt und dann mit FEHLING'scher Lösung untersucht, lieferten folgendes Resultat:

Extracte der Schildchen	0,177 g CuO oder 0,122 g Maltose
" " Aleuronschichten . .	0,084 " CuO " 0,063 " "
" " Endosperme	0,090 " CuO " 0,073 " "

wobei zu bemerken ist, dass die Masse der Endosperme bedeutend grösser ist als die der Aleuronschichten.

2. HABERLANDT zeigte, dass kleine Stückchen der Aleuronschicht in einem steifen Stärkekleister untersinken, indem sie Diastase ausscheiden, welche den Kleister verflüssigt.

3. Durch die Guajak-Wasserstoffsuperoxyd-Reaction mache ich sichtbar, dass sich in Endospermstücken, deren Schildchen entfernt sind und welche etwa drei Tage in Wasser liegen, aus den Aleuronzellen eine Diastasefluth erhebt, welche in die Endospermzellen eindringt.

1) J. GRÜSS, Ueber den Eintritt der Diastase in das Endosperm. (Ber. der Deutsch. Bot. Ges. 1893.)

Damit dürfte wohl die HABERLANDT'sche Theorie verificirt sein.

Wir sind nun noch in der Lage, die von BROWN und MORRIS gemachten Angriffe auf die HABERLANDT'sche Theorie abwehren zu können. Von diesen Forschern wurden die Aleuronenschichten und die Pallisadenschichten des Schildchens mit Chloroformdampf getödtet. Die Pallisadenzellen konnten nun keine Stärkekörner mehr corrodiren, wogegen die Aleuronenschichten durch Absonderung von Diastase fortfuhren, auf die Stärkekörner einzuwirken. Durch meine mikrochemische Reaction liess sich leicht zeigen, dass die Aleuronenschicht, an welcher beim Loslösen immer noch einige Endospermzellen haften bleiben, in toto mehr Diastase enthalten als die Pallisadenschicht, die sich von den Endospermzellen leicht abtrennen lässt. Jene geben daher, nachdem das Plasma getödtet ist, auch mehr Diastase aus.

In letzter Zeit findet PFEFFER¹⁾), dass es „keiner Einwirkung durch Secrete oder auf andere Weise, von Seiten des Embryos, bedarf, um die volle Entleerung des Endosperms zu erzielen“.

Von HANSTEEN²⁾ wird darüber Folgendes gesagt: „Ob bei normaler Entleerung überhaupt ein diastatisches Ferment mitspielt, oder ob die Endosperme ohne ein solches arbeiten, müssen ferner Untersuchungen entscheiden. Die Abhängigkeit des Stoffumsatzes von der Entfernung der Producte ist mit und ohne Fermentwirkung möglich.“

Man müsste nun eigentlich eine Entleerung der Endosperme erwarten unter der Bedingung, dass man Maiskörner, deren Schildchen entfernt sind, in Wasser liegen lässt, welches man täglich erneuert, und wobei man ausserdem die Endosperme täglich mittelst einer Spritzflasche abspritzt. Dann treten nach längerer Zeit wohl Corrosionen an den Stärkekörnern einzelner Zellen ein, und zwar in denjenigen, welche ich primäre Nährzellen genannt habe. Jedoch hatte sich selbst nach vier Wochen bei solcher Behandlung kein Endosperm entleert. Ich stellte mir die Aufgabe, den Grund zu finden, weshalb unter der erwähnten Bedingung im Gegensatze zu derjenigen, welche HANSTEEN durch Ansetzen der Endosperme an eine Gypssäule anwandte, die prompte Entleerung ausblieb.

Durch die Untersuchungen EFFRONT's³⁾ wurde ich zu der Frage geführt, wie sich der Gyps bei der diastatischen Einwirkung verhält. Nach EFFRONT vermag Calciumphosphat und Aluminiumsulfat die Diastasewirkung um das Zehnfache zu steigern; ferner vermögen diese Salze, wie auch andere Mineralsalze, in der Zelle Zwischenproducte mit organischen

1) Prof. PFEFFER, Ueber die Ursachen der Entleerung der Reservestoffe aus Samen. (Ber. der Königl. Sächs. Ges. der Wissensch., Leipzig 1893.)

2) B. HANSTEEN, Ueber die Ursachen der Entleerung der Reservestoffe aus Samen. (Flora 1894, Ergänzungsband.)

3) J. EFFRONT, Sur les conditions chimiques de l'action des diastases. (Comptes rend. t. CXV, 1892, p. 1324.)

Körpern zu bilden, wodurch die Diastasewirkung begünstigt wird. Die Ansicht EFFRONT's bestätigt sich auch für das Calciumsulfat, wenn dieses in gewissen Concentrationen angewandt wird. Ich liess die Diastase auf Stärkekörner und lösliche Stärke einwirken und fand auf zwei verschiedenen Wegen, dass das Calciumsulfat die Hydrolyse beschleunigt. Die genaueren Angaben hierüber werde ich noch in einer ausführlicheren Schrift mittheilen.

Damit hätten wir eine der Erklärungen für die prompte Entleerung der Endosperme, wenn diese sich auf einem Gypssäulchen im Wasser befinden. Ausserdem will ich noch erwähnen, dass sich in diesem Falle keine Zuckerart, sondern ein Saccharat bildet. Von HANSTEEN ist andererseits sehr richtig gezeigt worden, dass die Entstehungsproducte die Entleerung der Endosperme in der von ihm geschilderten Weise beeinflussen. Durch eine Reihe von Versuchen konnte ich feststellen, dass die Entstehungsproducte die Thätigkeit der Diastase zum Stillstand bringen. Diese Versuche führten mich zu der oben angegebenen hydrolytischen Gleichung. Die Ansicht, dass die bei der Hydrolyse entstehenden Spaltungsproducte das wirksame Ferment in eine unwirkliche Modification umwandeln, ist schon früher ganz allgemein von TAMMANN ausgesprochen worden¹⁾). Dass nun bei der HANSTEEN'schen Versuchsanordnung die Endosperme nicht ohne Diastase arbeiten, zeigt die Fig. 1. Durch ein Endosperm, dessen Schildchen entfernt war und welches mit einem Gypsfuss längere Zeit im Wasser stand, wurde ein Schnitt nach unserer Methode gemacht. Wir sehen, dass sich aus den Aleuronzellen, deren Inhalt beim Schneiden zum grössten Theil herausgefallen ist, eine Diastasefluth erhoben hat. Jede Zelle, in der sich corrodirte Körner befanden, enthielt Diastase.

Es bleibt nun aber die wichtige Frage offen, ob auch die Endospermzellen Diastase zu erzeugen vermögen. Ich verfuhr folgendermassen: Von Samenkörnern (*Zea Mays*) wurden die Schildchen entfernt und dann mittelst einer Feile die Aleuronschichten abgefeilt. Die so zubereiteten Endospermstücke liess ich unter geeigneten Sterilisationsvorrichtungen auf feuchtem Sand in einem in Wasser stehenden Thonbecher weiter vegetiren. An einem so behandelten Endospermstücke zeigte sich nun durch die mikrochemische Reaction, dass sich in den Zellen der Oberfläche und besonders da, wo das Endosperm auf der ventralen Seite gefurcht ist, Diastase gebildet hatte. Die Zellen enthielten auch theilweise corrodirte Stärkekörner, und an der Furche waren einige Zellen halb entleert. In Fig. 4 ist das Endosperm abgebildet, Fig. 3 giebt die Zellen der Randpartie und Fig. 2 ein Gewebestück, welches der Furche entnommen ist.

1) G. TAMMANN, Die Reactionen der ungeformten Fermente. (Zeitschr. für physiolog. Chemie, XVI, p. 271.)

Erwähnenswerth ist, dass die in den Randzellen auf der dorsalen Seite des Endosperms entstandene Diastase viel geringer an Menge ist als wie diejenige Diastasemenge, welche schon nach drei Tagen von den Aleuronzellen abgeschieden wird (vergl. Fig. 3 und 9). Aus diesem Versuch geht also hervor, dass unter gewissen Umständen die Endospermzellen Diastase bilden können, und wenn die Hydrolyse nicht durch Kalksalze beschleunigt wird, die Entleerung sehr langsam erfolgt.

Die Diastase entsteht hier dadurch, dass der freie Sauerstoff leicht auf das Protoplasma der Endospermzellen einwirkt, worüber ich auch andere zu gleichem Resultate führende Versuche angestellt habe, über die ich noch berichten werde. Bei der normalen Entleerung dürfte eine solche Entstehung der Diastase in den Endospermzellen wohl wahrscheinlich nicht stattfinden, da ihnen zu wenig Sauerstoff zugeführt wird.

Dass die Diastase ein Oxydationsproduct der Eiweisskörper ist, wurde von DETMER negativ nachgewiesen: wo der freie Sauerstoff fehlt, entsteht keine Diastase. Auch LINTNER¹⁾ gelangt auf anderem Wege zu dieser Ansicht: „Die nächstliegende Annahme war daher, dass die Diastase, wie das HÜFNER bereits für die Pankreasdiastase ausgesprochen, ein Oxydationsproduct gewisser Eiweisskörper darstelle.“

Wie die Diastase bei der normalen Keimung allmählich das Endosperm weiter und weiter ergreift, soll in der ausführlichen Arbeit noch gezeigt werden.

Was die Keimung der Leguminosensamen anbetrifft, so habe ich schon in einer früheren Schrift das Verhalten der Diastase dabei auf makrochemischem Wege nachgewiesen: von der Plumula aus rückt ein Diastasebildungsherd in das Innere der Cotyledonen vor. Diesem Herd folgt ein Maximum an Diastase, welches dann allmählich wieder abnimmt. Auch in der ruhenden Bohne wurde makrochemisch ein geringer Diastasegehalt constatirt. Wie die mikrochemische Reaction anzeigt, ist die geringe Fermentmenge in den einzelnen Elementen der primordialen Gefässbündel enthalten. Bei der Keimung vermehrt sich hier die Diastase, und ausser dem erwähnten Hauptbildungsherd an der Plumula kann auch am distalen Ende ein Bildungsherd auftreten. Ausserdem entwickeln auch die Epidermiszellen und das subepidermale Gewebe schon mehr und mehr Diastase, wenn die Keimwurzel eine Länge von etwa 4 cm erreicht.

Ein Diastasemaximum (auf makrochemischem Wege gefunden) findet sich, wie die mikrochemische Reaction zeigt, in der Wurzel, und zwar in der Streckungszone. Die Zellenpartie hinter dem Vegetations-

1) C. J. LINTNER, Ueber die chemische Natur der vegetabilischen Diastase. (Archiv für die ges. Phys., Bd. XL.)

punkt ist frei von Diastase. Mit Hülfe der Guajak-*Reaction* konnte ich das Anwachsen und Abnehmen des Ferments in den Cotyledonen der keimenden Bohne leicht nachweisen.

Bei allgemeiner Anwendung der *Reaction* ist jedoch Vorsicht geboten, da es Körper giebt, welche die Sauerstoff-Uebertragung in erhöhterem Masse als die gewöhnliche Diastase bewirken. Ich führe hierfür nur ein Beispiel an. Wir bringen eine dünne Scheibe aus einer ruhenden Kartoffelknolle in Guajaklösung. Noch in derselben und nach kurzer Zeit färbt sich das Knospengewebe und die der Korkschicht angrenzenden Zellen blau. Daraus folgt, dass in diesem Gewebe freier oder leicht gebundener Sauerstoff vorhanden ist. Aehnliches fand ich auch in gewissen Zellen von Blättern und Sprossachsen von Keimlingen. Wahrscheinlich bildet dieser Sauerstoff einen wesentlichen Factor der Athmung bei Abwesenheit von Sauerstoff, sowie bei der Entstehung der Diastase.

Die mit Guajak durchtränkte Kartoffelscheibe legen wir auf eine Glasplatte. Nach einiger Zeit färbt sich die mit der Luft in Berührung stehende Oberfläche intensiv blau, die auf der Platte ruhende Seite bleibt fast farblos. Es findet sich also im parenchymatischen Gewebe der Kartoffelknolle ein Sauerstoffüberträger, welcher den Sauerstoff der Luft auf das Guajak zu übertragen vermag, durch Siedehitze diese Fähigkeit aber verliert und dann auch nicht aus Wasserstoffsuperoxyd den Sauerstoff auf Guajak übertragen kann, d. h. zerstört wird. Der Sauerstoff übertragende Körper ist in Wasser löslich und zeigt dann dieselben Eigenschaften. Wir bringen den Saft ruhender Kartoffelknollen in einen mit Sauerstoff erfüllten Raum über Quecksilber. Die Contactfläche der Lösung gegen Sauerstoff bräunt sich alsbald, und die Färbung nimmt nach unten hin gegen das Quecksilber ab, welches nach einiger Zeit ein wenig steigt. Der Sauerstoff übertragende Körper nimmt also aus der Luft Sauerstoff auf und vermag ihn leicht an Guajak, Wasserstoff in *statu nascendi* etc. wieder abzugeben.

Dass ruhende Kartoffelknollen Diastase enthalten, habe ich bereits an anderer Stelle nachgewiesen¹⁾). Ob diese Diastase mit dem Sauerstoff übertragenden Körper identisch ist, werde ich noch durch weiter eingehende Untersuchungen zu ermitteln suchen.

Derartige schon SCHÖNBEIN bekannte Sauerstoffüberträger fand ich noch in verschiedenen anderen Gewebsteilen, und bei der Diastase-Untersuchung mittelst Guajak und Wasserstoffsuperoxyd ist auf jene Körper besonders Rücksicht zu nehmen.

Wie mir schon jetzt wahrscheinlich ist, ist die hydrolytische und katalytische Kraft des Fermentmoleküls an verschiedene Atomgruppen

1) J. GRÜSS, Ueber das Verhalten des diastatischen Enzyms in der Keimpflanze. (PRINGSHEIM's Jahrb. für wissensch. Bot., Bd. XXVI.)

gebunden; eine kann zerstört werden, ohne dass die andere Gruppe mit zerfällt, oder eine kann ohne die andere bestehen. Zu ähnlichen Ansichten gelangt auch JAKOBSON¹), welcher zu dem Schlusse kommt, „dass Verlust des Vermögens, Wasserstoffsuperoxyd zu katalysiren, durchaus nicht den Verlust der specifischen Fermentwirkung bedingt. Beide Eigenschaften sind trennbar, gehen und verschwinden also nicht zusammen“.

Derselbe Vorgang wie bei der Keimung des Maiskorns findet auch bei der Keimung der Dattel statt. Die Diastase entsteht in grosser Menge im Keimling und dringt, von diesem ausgehend, in die aus Reservecellulose (Galaktomannan) bestehende Wandmasse. Die hyaline Zone, welche auch leicht alkalisches Alizarin aufnimmt, kann mit der mikrochemischen Reaction blau gefärbt werden. Wahrscheinlich wird das Mannan früher als das Galaktan hydrolytisch gespalten. Hat der Keimling eine Länge von 4 cm erreicht, so entsteht auch, distal vom Scutellum, Diastase im Gewebe. Besonders sind die epidermalen und subepidermalen Zellen solche distalen Bildungsherde für das Ferment.

In den Porenkanälen der corrodirten Stärkekörner findet sich Diastase, und zwar verhält sich die Stärkemasse in ähnlicher Weise wie die Reservecellulose. Die Wandbekleidung der Porenkanäle kann durch eine geeignete Behandlung, wie ich in der ausführlichen Schrift zeigen werde, blau gefärbt werden. Die blaue Zone ist hier (im Gegensatz zu derjenigen der Reservecellulose) sehr fein, da die durch Hydrolyse veränderten Stärkemoleküle sich alsbald ablösen. Durch Einbettung solcher Stärkekörner in Canadabalsam, flüssiges Paraffin etc. lässt sich zeigen, dass die übrige Stärkemasse intact resp. nicht vom Ferment durchdrungen ist (siehe Fig. 16 und 17).

Es macht sich im Pflanzenkörper eine grosse Uebereinstimmung geltend. In allen Stärke führenden Reservebehältern findet sich der Hauptbildungsherd der Diastase da, wo im Allgemeinen zuerst die Stärke gelöst werden soll. Da die Diastase sehr langsam diffundirt, sind noch gewisse Hülfszellen für die Fermentbildung vorhanden. Unter günstigen Umständen kann jede Plasma führende Zelle zu einem secundären Bildungsherd werden. Den BROWN-MORRIS'schen Untersuchungen an den Pallisadenzellen des Scutellums gemäss würde die secretorische Thätigkeit des Plasmas sämmtlicher Zellen auch durch die gebildete Zuckermenge regulirt werden. Die Bildung hängt natürlich auch von der Gegenwart freien Sauerstoffs ab.

Für die Reservestoffbehälter der Bäume ist das Cambium und die Markkrone der Hauptbildungsherd für Diastase.

Von den vielen makrochemischen Untersuchungen mittelst *CuO*,

1) J. JACOBSON, Untersuchungen über lösliche Fermente. (Zeitschr. für physiologische Chemie, Bd. 16.)

die ich darüber geführt habe, will ich ein Beispiel anführen: Die Untersuchung wurde an Zweigen der Platane geführt, deren Knospen sich zu regen begannen. Im vorderen Theil der Markstrahlen war der Stärkelösungsprocess eingetreten. Das Mark war noch ganz mit Stärke angefüllt.

Von acht Internodien wurde der Bast und das Jungholz abgeschabt und zerkleinert in 20 *ccm* Glycerin gebracht. Aus denselben Stengelstücken wurde auch das Mark herausgeschält und zerquetscht gleichfalls in 20 *ccm* Glycerin gelegt. Nach längerer Extractionsdauer wurden 15 *ccm* von jeder Lösung zu 1 prozentigem Stärkekleister gegeben und die Flüssigkeiten nach einigen Stunden gleichzeitig mit FEHLING'scher Lösung untersucht.

Die Diastase aus dem Bast lieferte	0,051 <i>g CuO</i> ,
Die Diastase aus dem Mark lieferte	0,013 „ <i>CuO</i> .

Für diesen Fall betrug also die Diastase im Mark ungefähr den vierten Theil von derjenigen im Bast. Eine schöne Bestätigung ergab die mikrochemische Reaction an ähnlichen Stengelstücken. Ein Ferment findet sich in den meisten Phloëmzellen, im Siebtheil, in den Holzparenchymzellen und in dem Saft der grossen Gefäße der jüngsten Jahresringe. Andererseits findet es sich in den Zellen der Markkrone; dagegen sind die ruhenden Markstrahlen und das ruhende Mark gewöhnlich frei von Diastase. Wir haben hier dasselbe Princip wie in den Reservebehältern der Samen.

Dass die Diastase sich im Gewebe bewegt, zeigt sich auch daran, dass der Blutungssaft der Birke im Frühjahr etwas Diastase enthält. Steigt in einer Zelle, in welcher Diastase und Stärke vorhanden sind, der Glycosegehalt bis zu einem gewissen Grade, so wird die wirkende Diastase ausser Thätigkeit gesetzt oder nach TAMMANN in die unwirkbare Modification übergeführt. Die hydrolytische Thätigkeit hebt erst wieder an, sobald die Glycose abgeleitet ist.

Genau dieselben Umstände kommen bei der diastatischen Thätigkeit in den Chlorophyllzellen der Blätter in Betracht. Die Diastase findet sich in den chlorophyllhaltigen Zellen (*Latania, Dracaena, Carex, Zea*), ferner im Gefässbündel in den meisten Phloëmelementen, in den Holzparenchymzellen und zum Theil in den Gefässen. Häufig ist der Bastbelag mit Diastasewegen durchsetzt, worüber ich mir noch nähere Mittheilungen vorbehalte. Bei einem Blatt (von *Cyclamen europaeum*) konnte ich keine Diastase in den chlorophyllhaltigen Zellen und auch nur sehr unbedeutend in den Gefässbündeln nachweisen. Hier sind Stoffe vorhanden, welche wie die Gerbstoffe die Reaction verhindern: zu einem alkoholischen Auszuge der Blätter wurde Diastase hinzugesetzt, aber durch Guajak-Wasserstoffsuperoxyd trat keine Bläuung ein.

Darnach stelle ich folgende Theorie auf: Bei der Assimilation ent-

steht in der chlorophyllhaltigen Zelle als das primäre Product (d. h. das der Stärke vorangehende) die Dextrose $C_6 H_{12} O_6$, $H_2 O$. Welche Atomgruppen vorausgehen und diesen Körper zusammensetzen, ob Aldehyde oder Ketone, kommt hier nicht in Betracht. Steigt nun der Dextrosegehalt in der Zellflüssigkeit, so wird die hydrolytische Kraft der Diastase unwirksam. Bei weiterer Assimilation, wenn die Dextrose weniger schnell abgeleitet als sie gebildet wird, erfolgt in den Chlorophyllkörnern eine Art von Polymerisation der Dextrosemoleküle unter Abgabe von Wasser. Zunächst würde aus zwei Molekülen ein Maltosemolekül hervorgehen: $2C_6 H_{12} O_6$, $H_2 O = C_{12} H_{22} O_{11}$, $H_2 O + 2H_2 O$. Dieser Process geht weiter bis das Stärkemolekül entsteht. Die anwesende Diastase kann auf dasselbe nicht wirken, da sie ihre hydrolytische Kraft wegen des hohen Zuckergehalts nicht äussern kann. Erfolgt keine Assimilation mehr, so sinkt in Folge der Ableitung der Zuckergehalt, und schliesslich stellt sich die Bedingung ein, unter welcher die Diastase wirken kann. Nun wird die hydrolytische Kraft derselben frei, die Stärkekörner werden angegriffen und durch die entgegengesetzte Stufenfolge wie bei ihrer Entstehung zu Dextrose übergeführt.

Bei der Ableitung der Dextrose wird auch in geringerem Masse etwas Diastase fortgeführt. Diese wird durch Neubildung im Plasma ersetzt oder aber, wenn der Diastasegehalt trotzdem zu gering ist, erfolgt eine Ausgabe von Ferment von Seiten des Gefässbündels her. Aus den dort befindlichen Vorrathskammern wandert dann die Diastase auf besonderen Wegen, theilweise durch den Bsatbelag, nach den Chlorophyllzellen hin, so dass auf diese Weise der Ausgleich erfolgt.

Die Wirksamkeit der Diastase wird durch die Salze der Alkalien und alkalischen Erden, durch Asparagin etc. erhöht.

In der vorliegenden Schrift habe ich in kurzen Zügen die Hauptresultate meiner Arbeiten gegeben. Eine umfassendere Darstellung werde ich in einem grösseren Werke über die diastatischen Fermente liefern, in welchem auch die chemischen und botanischen Schriften anderer berücksichtigt werden sollen.

Erklärung der Abbildungen.

Sämmtliche Figuren beziehen sich auf *Zea Mays*. Die Diastase ist in allen Figuren durch die Guajak-Wasserstoffsuperoxyd-Reaction blau gefärbt.

- Fig. 1. Schnitt durch die Aleuronschicht und die angrenzenden Endospermzellen von einem Korn, welches nach Entfernung des Schildchens mit einem Gypsifuss längere Zeit in Wasser stand.
- „ 2. Schnitt durch die Endospermzellen an der Furche auf der ventralen Seite. Das Maiskorn ist in Fig. 4 abgebildet; dasselbe befand sich, nachdem die

Aleuronschicht und das Schildchen entfernt worden war, 12 Tage in feuchtem Sand in einem Thonbecher, welcher bei geeigneter Sterilisirung im Wasser stand.


- Fig. 3. Schnitt durch die Randzellen auf der dorsalen Seite desselben Korns.
- „ 4. Das Maiskorn resp. das Endosperm, von welchem die Schnitte gemacht wurden, welche in Fig. 2 und 3 dargestellt sind.
- „ 5. Ein intactes trockenes Maiskorn durchschnitten und mit Guajak-Wasserstoffsuperoxyd behandelt.
- „ 6. Schnitt durch die Aleuronschicht dieses Kornes.
- „ 7. Schnitt durch die Pallisadenschicht des Schildchens desselben Kornes.
- „ 8. Ein Maiskorn, dessen Schildchen abgetrennt worden war und an welchen auf der dorsalen Seite durch einen tangentialen Schnitt ein kreisrundes Stück herausgeschnitten wurde. Dasselbe befand sich dann drei Tage im Wasser, worauf die Diastase sichtbar gemacht wurde.
- „ 9. Ein Stück von der kreisförmigen Fläche bei stärkerer Vergrösserung. *s* Samenschale, *a* Aleuronschicht, *e* Endospermzellen.
- „ 10. Ein Maiskorn, von welchem das Schildchen entfernt worden war und drei Tage in Diastaselösung gelegen hatte, durchschnitten und die Diastase sichtbar gemacht.
- „ 11. Ein Korn, von welchem das Schildchen entfernt worden war und welches drei Tage im Wasser gelegen hatte, durchschnitten.
- „ 12. Ein intactes Korn, welches drei Tage im Wasser gelegen hatte, durchschnitten und die Diastase sichtbar gemacht. Die Behandlung der drei Körner, um den blauen Niederschlag hervorzurufen, war die gleiche.
- „ 13. Schnitt durch die Stelle *x* des in Fig. 10 abgebildeten Kornes.
- „ 14. Schnitt durch die Stelle *x* des in Fig. 11 abgebildeten Kornes.
- „ 15. Schnitt durch die Stelle *x* des in Fig. 12 abgebildeten Kornes.
- „ 16. Corrodirtes Stärkekorn, mit Guajak-Wasserstoffsuperoxyd behandelt, getrocknet und in Paraffinöl eingebettet. Vergr. ca. 800.
- „ 17. Ein ähnliches Korn in Canadabalsam eingebettet. Vergr. ca. 800.

2. S. Tretjakow: Die Beteiligung der Antipoden in Fällen der Polyembryonie bei *Allium odorum* L.

Mit Tafel II.

Eingegangen am 8. Januar 1895.

Aus der normal gebauten Samenknospe der Angiospermen entwickelt sich nach der Befruchtung gewöhnlich ein Same mit einem Eiembryo; jedoch kommt es auch nicht selten vor, dass sich zwei oder mehrere Embryonen innerhalb eines Samens entwickeln. Dergleichen Fälle (Anlage von mehreren Embryonen) sind im Pflanzenreich unter



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1895

Band/Volume: [13](#)

Autor(en)/Author(s): Grüss(Grüß) J.

Artikel/Article: [Die Diastase im Pflanzenkörper 2-13](#)