

## 50. K. Puriewitsch: Ueber die Spaltung der Glycoside durch die Schimmelpilze.

Eingegangen am 14. December 1898.

Die Schimmelpilze vegetiren bekanntlich auf den verschiedensten Substraten und erhalten hierbei den organischen Nährstoff sowohl in Gestalt einfacherer Verbindungen, wie z. B. der Dextrose, der Essigsäure etc., auch in Gestalt von Verbindungen, deren Molecüle weit complicirter gebaut sind, wie z. B. der Saccharose, Trehalose, Maltose, Stärke, dem Inulin etc. Man könnte denken, dass wie bei der Keimung der höheren Gewächse diese complicirteren Verbindungen auch bei der Ernährung der Schimmelpilze in die einfacheren übergehen, bevor sie in den Pilzorganismus hineintreten. In der That fand GAYON<sup>1)</sup> im Jahre 1878, dass *Aspergillus niger*, auf reiner Saccharoselösung cultivirt, diese letztere invertirt. DUCLAUX<sup>2)</sup> zeigte dann, dass das Mycelium von *Aspergillus niger* ausser dem Invertin noch ein anderes Ferment ausscheidet, das mit der Diastase der höheren Pflanzen identisch ist. Endlich fand BOURQUELOT<sup>3)</sup> bei *Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum* und anderen Pilzen mehrere Fermente, nämlich: die Diastase, Inulase, Trehalase, Maltase, das Invertin, Emulsin und ein peptonisirendes Ferment.

Es ist besonders bemerkenswerth, dass das Pilzmycelium alle diese Enzyme gleichzeitig enthält. BOURQUELOT liess die Sporen von *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum* auf der Nährlösung von RAULIN keimen, und nachdem ein gleichmässiges dünnes Mycelium sich entwickelt hatte, ersetzte er die RAULIN'sche Lösung durch destillirtes Wasser. Nach 24—48 Stunden konnte man in diesem Wasser mehrere Enzyme entdecken, die alle wie BOURQUELOT meint, aus den zerrissenen und abgestorbenen Myceltheilen ausgetreten waren. Dieses Wasser zu reiner Saccharoselösung hinzugefügt, invertirte dieselbe; ebenso verwandelte es die Stärke in Maltose, das Inulin in Lävulose, spaltete das Amygdalin in Glykose, Benzaldehyd und Blausäure und peptonisirte in manchen Fällen das Eiweiss.

Diese hydrolytischen Spaltungen finden auch dann statt, wenn sich ein lebendes Mycelium auf den Lösungen von obengenannten Stoffen

1) Comptes rendus, t. 86, 1878, p. 52.

2) Chimie biologique, 1883, pp. 142 und 164.

3) Comptes rendus, 1883, Décembre und 1893; Comptes rendus des séances de la Société de biologie, 1893, p. 481; Bull. de la Société mycologique de France t. IX, 1893, p. 230; ibidem t. X, 1894, p. 49; ibidem, t. XI, 1895, p. 499.

befindet. Es schien mir nun von Interesse, die Spaltung der Glycoside durch Schimmelpilze näher zu untersuchen.

Die Glycoside sind bekanntlich esterartige Verbindungen der Glycose mit verschiedenen Phenolderivaten. Die Säuren und das Emulsin zerspalten sie in die Glycose und ein Phenolderivat. Die Glycose kann also bei Spaltung der Glycoside durch Schimmelpilze als Nährstoff für diese letzteren dienen; welche Rolle aber dabei das Phenolderivat spielt und ob dieser Vorgang intracellulär oder extracellulär ist, das ist bisher noch unaufgeklärt.

Wenn man die Sporen von *Aspergillus niger* auf der RAULIN'schen Nährlösung aussät, so erscheint nach 24—48 Stunden ein schönes, weisses, ziemlich starkes Mycelium, das die ganze Oberfläche der Culturflüssigkeit bedeckt. Die Nährlösung ersetzt man zwei- oder dreimal durch destillirtes Wasser und zuletzt durch eine Lösung von Salicin. Schon nach 15—20 Stunden kann man die Spaltung des Salicins constatiren. Dieses Glycosid wird, wie bekannt, durch verdünnte Säuren und Emulsin in Glycose und Saligenin gespalten. Das letztere färbt sich bei Zusatz einer Lösung von  $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$  intensiv blau. Diese Reaction ist sehr empfindlich. Ich konnte mich bei meinen Versuchen überzeugen, dass sich eine 0,005procentige Lösung von Saligenin mit diesem Reagens ganz deutlich blau färbte. Nach längerer Zeit wird die Färbung der Culturflüssigkeit intensiver, was die Anhäufung von Saligenin beweist. Die Culturflüssigkeit reducirt die FEHLING'sche Lösung nicht, und manchmal kann man sehr winzige Körnchen von Kupferoxydul bemerken.

Aus dieser Thatsache geht hervor, dass die ganze Glycosemenge, welche bei Spaltung des Salicins entsteht, vom Mycelium aufgenommen wird.

Die ganze Menge des vorhandenen Salicins wird durch das Mycelium gespalten und dieser Process erfordert verschiedene Zeit, die von der Menge des Salicins, der Grösse des Myceliums und der Temperatur abhängt. Ein Mycelium, das eine Fläche von 216 *qcm* bedeckte und 1,85 *g* Trockensubstanz lieferte, spaltete 1 *g* Salicin bei 21—22° in circa 36—40 Stunden. Um die Anwesenheit von unzersetztem Salicin in der Flüssigkeit nachzuweisen, fügte ich zu einer kleinen Probe dieser Flüssigkeit eine Lösung von Emulsin hinzu, das aus Mandeln bereitet worden war. Das Emulsin wurde möglichst gereinigt, so dass es die FEHLING'sche Lösung nicht reducirte. Nachdem die Flüssigkeitsprobe mit Emulsin 8—10 Stunden bei 35° gestanden hatte, prüfte ich dieselbe mit FEHLING'scher Lösung.

Ganz derselben Spaltung wie durch das Emulsin unterliegen andere Glycoside, wie z. B. das Helicin, Arbutin, Coniferin, Aesculin, Phloridzin und Hesperidin, wenn ihre Lösungen mit den Mycelien von *Aspergillus niger* bedeckt sind. Leider kann man nur für das Arbutin und Helicin durch die Reactionen ihre Spaltung direct nachweisen.

Das Arbutin zerfällt unter der Einwirkung von Emulsin in Glycose und Hydrochinon; das letztere reducirt die Ammoniaksilberoxydlösung. Ausserdem färbt sich die Lösung von Arbutin bei Zusatz von  $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$  roth-violett. Wenn diese Färbung unterbleibt, so ist alles Arbutin gespalten. Was aber das Helicin betrifft, so ist seine Spaltung leicht nachweisbar, weil dabei ein charakteristischer Geruch von Salicylaldehyd wahrnehmbar ist; das Salicylaldehyd giebt noch eine blau-violette Färbung mit  $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$ . Dieselbe Spaltung des Helicins erfolgt, wenn sich auf seiner Lösung ein lebendes Mycelium von *Aspergillus niger* findet. Während aber auf den Lösungen von allen anderen Glycosiden die Mycelien von *Aspergillus niger* ihre Dimensionen vergrössern und Conidien bilden, erfolgt bei Spaltung des Helicins Absterben des Myceliums. Das letztere ändert nicht seine Dimensionen, seine Farbe bleibt weiss (d. h. es bildet keine Conidien), es verliert seine Turgescenz und wird weich und welk. Die Bestimmung der Trockensubstanz solcher Mycelien ergab keine Vermehrung seines Gewichts, wie das der unten angeführte Versuch beweist.

Die Sporen von *Aspergillus niger* wurden in ganz gleich grossen Glasschalen ausgesät. Jede Schale enthielt 100 *ccm* RAULIN'scher Lösung. Nach 48 Stunden wurde die RAULIN'sche Lösung ersetzt: in der ersten Schale durch 100 *ccm* einprocentiger Helicinlösung, in der zweiten durch 100 *ccm* einprocentiger Arbutinlösung und in der dritten durch 100 *ccm* destillirten Wassers. Alle drei Mycelien sind noch weiss, aber beginnen schon Conidien zu bilden. Diese Culturen wurden bei 21—22° stehen gelassen. Schon nach 75 Minuten roch die Helicinlösung ziemlich stark nach Salicylaldehyd. Nach 42 Stunden waren die Mycelien auf den Lösungen von Helicin und Arbutin noch weiss, dagegen hatte das Mycelium auf dem Wasser zahlreiche Conidien gebildet. Das Mycelium auf der Helicinlösung war augenscheinlich abgestorben. Alle drei Mycelien wurden von den Lösungen entfernt, mit Wasser sorgfältig gespült und bei 105° getrocknet. Die Trockensubstanz der Mycelien betrug:

Das Mycelium auf Wasser . . . . .	0,79 g
„ „ auf Arbutinlösung . . . . .	1,05 „
„ „ auf Helicinlösung . . . . .	0,69 „

Dass die Spaltung des Helicins durch das Mycelium von *Aspergillus niger* dessen Tod verursacht, beweisen noch folgende Versuche:

a) In zwei Culturen, die noch weiss waren, wurde die RAULIN'sche Lösung durch destillirtes Wasser in der einen und durch eine einprocentige Helicinlösung in der anderen ersetzt. Beide Culturen wurden dann bei 21—22° stehen gelassen. Nach 24 Stunden roch die Helicinlösung ziemlich stark nach Salicylaldehyd; das Mycelium sah angewelkt aus und war gelblich gefärbt. Das Mycelium auf destillirtem Wasser

bildete Conidien. Dann wurden Wasser und Helicinlösung wieder durch RAULIN'sche Lösung ersetzt. Nach 24 Stunden entwickelte sich das Mycelium, das sich auf dem Wasser fand, noch üppiger, während das andere Mycelium, welches die Salicinlösung bedeckte, keine weitere Entwicklung aufwies.

b) Bei einem anderen Versuche bestimmte ich die Athmungsenergie des Myceliums von *Aspergillus niger*, welches sich zunächst auf RAULIN'scher Lösung und dann auf einprocentiger Helicinlösung befand. Auf der RAULIN'schen Lösung hatte das Mycelium binnen 24 Stunden 39,5 mg CO<sub>2</sub> ausgehaucht. Dann wurde die RAULIN'sche Lösung durch Helicinlösung ersetzt. In den ersten 2 Stunden hatte das Mycelium 23,0 mg CO<sub>2</sub>, in weiteren 2 Stunden nur noch 4,0 mg CO<sub>2</sub> und in der letzten Stunde 1,0 mg CO<sub>2</sub> ausgehaucht. Aus diesen Angaben geht unzweifelhaft hervor, dass die Athmung des Myceliums zum Stillstand gekommen war.

Die Spaltung des Helicins bietet somit ein interessantes Beispiel für die physiologische Thätigkeit der Pflanze, deren Folge der Tod des Organismus ist.

Ganz ebenso wie von *Aspergillus niger* werden die obengenannten Glycoside durch das Mycelium von *Aspergillus glaucus* und *Penicillium glaucum* gespalten.

Die Spaltung des Amygdalins stellt einen anderen interessanten Process vor. Während das Emulsin und das Extract aus den drei obengenannten Schimmelpilzen das Amygdalin in Glycose, Benzaldehyd und Blausäure zerspalten, wirken die lebenden Mycelien auf dasselbe ganz anders ein: es bildet sich dabei kein Benzaldehyd und keine Blausäure, und die Amygdalinlösung reducirt die FEHLING'sche Lösung nicht. Wenn man aber zu einer Amygdalinlösung, auf der sich das Pilzmycelium befindet und die noch ungespaltenes Amygdalin enthält, das Extract aus dem Pilzmycelium hinzufügt, so kann man nach mehreren Stunden ganz deutlich den Geruch von Benzaldehyd wahrnehmen. Dass aber das Mycelium wirklich das Amygdalin aufnimmt und verarbeitet, beweist erstens die sichtbare Vergrößerung der Myceliumsmasse und dann das allmähliche Verschwinden des Amygdalins in der Culturflüssigkeit. So z. B. nahm das Mycelium, dessen Trockensubstanz 1,24 g betrug, bei 22--23° in 40 Stunden 0,92 g Amygdalin auf. Mit dem Verschwinden des Amygdalins in der Lösung geht die Anhäufung von Ammoniak in derselben Hand in Hand, das mit dem Reagens von NESSLER eine gelblich-rothe Färbung giebt. Diese Erscheinung kann man, wie oben bemerkt, bei allen drei oben genannten Schimmelpilzen beobachten. Dasselbe beobachtete auch PFEFFER<sup>1)</sup>, als er *Penicillium glaucum* auf einprocentiger Amygdalinlösung erzog.

1) Pflanzenphysiologie. II. Aufl. Bd. 1. S. 495.

Welches ist aber die Ursache solcher Spaltung des Amygdalins durch das Pilzmycelium? Man könnte freilich denken, dass das Amygdalin durch den Schimmelpilz ohne vorhergehende Zerspaltung in weniger complicirte Verbindungen verarbeitet wird. Eine solche Vermuthung ist aber kaum haltbar, weil andere Stoffe von grösserem Moleculargewicht noch vor ihrem Eintreten in den pflanzlichen Organismus einer Umwandlung in weniger complicirte Verbindungen unterliegen. Ausserdem weisen alle anderen bisher untersuchten Glycoside bei der Ernährung der Schimmelpilze vorhergehende Spaltungen auf. Es giebt aber Schimmelpilze, die das Amygdalin in Glycose, Benzaldehyd und Blausäure spalten können. So fand LABORDE<sup>1)</sup> dieses beim Cultiviren von *Eurotiosis Gayoni* auf den Lösungen von Amygdalin.

Es sind uns zwei Fälle von Spaltung des Amygdalins ohne Bildung von Benzaldehyd und Blausäure bekannt: nämlich bei der Einwirkung von Invertin und von Alkalien. In beiden Fällen wird das Amygdalin in Glycose und Amygdalinsäure gespalten, und die letztere zerfällt dann ihrerseits in Glycose und Mandelsäure.

Die Annahme, dass der Schimmelpilz die Bildung von Blausäure vermeidet, dürfte schwerlich begründet sein, weil diese sich bekanntlich in pflanzlichen Geweben bildet, ohne den Tod der Pflanze zu verursachen. Endlich, wie unten gezeigt werden wird, bleibt das Mycelium lebend, wenn es sich auf einer Lösung von Amygdalin befindet, welches durch Emulsin gespalten ist. Ausserdem beweist die Spaltung des Helicins durch das lebende Mycelium, dass die hierbei gebildeten Stoffe, welche für den Pilzorganismus schädlich sind, kein Hinderniss für die Zerspaltung der Glycoside sind. Man könnte denken, dass die Ursache des besonderen Verhaltens von Amygdalin bei der Ernährung der Schimmelpilze in dem Bestreben des Organismus begründet ist, nach Möglichkeit die ganze Menge von Nährmaterial auszunutzen, die das Amygdalin liefern kann.

Während die Amygdalinsäure, sowie die Mandelsäure Nährstoffe von besserem Nährwerth sind, scheint das Benzaldehyd von Schimmelpilzen fast gar nicht verarbeitet zu werden. So liess ich z. B. die Mycelien von *Aspergillus niger* auf 0,5procentiger Lösung von Benzaldehyd vegetiren und konnte sogar nach 12—14 Tagen keine Abschwächung des Geruchs dieses Stoffes bemerken.

Es scheint mir daher einfacher und wahrscheinlicher, die beobachtete Spaltung des Amygdalins der Einwirkung des Invertins zuzuschreiben, das sich bekanntlich in der Reihe von Enzymen findet, welche von den Schimmelpilzen ausgeschieden werden.

Aus dem oben Angeführten geht hervor, dass sich die Spaltung

1) Recherches physiologiques sur une moisissure nouvelle, l'*Eurotiosis Gayoni*, 1896, p. 53.

der Glycoside in der Weise vollzieht, dass als das eine Spaltungsproduct Glycose erscheint, welche vom Pilzorganismus aufgenommen wird, und als das andere — das Benzolderivat, welches anfangs keine Veränderung erleidet, wie das z. B. die allmähliche Anhäufung von Saligenin in einer Culturflüssigkeit, die Salicin enthält, beweist. Später aber wird das zweite Product auch vom Mycelium aufgenommen, nachdem die ganze Menge von Glycosid gespalten und die Glycose verschwunden ist. In dieser Erscheinung haben wir ein neues Beispiel jenes allgemeinen Satzes, dass von zwei Nährstoffen, welche ungleichen Nährwerth haben, der Pflanzenorganismus zuerst den Stoff von höherem Nährwerth aufnimmt und erst, nachdem dieser verschwunden ist, den Stoff von schlechterem Nährwerth aufzunehmen anfängt. Aber, wie zu erwarten, verschwindet das Benzolderivat weit langsamer, als Glycose. So z. B. hörte in einer Cultur auf einprocentiger Salicinlösung die Flüssigkeit erst 8 Tage nach Beginn des Versuches auf, sich nach Zusatz von  $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$  zu färben. Es ist kein Grund vorhanden, anzunehmen, dass noch nach 8 Tagen das ungespaltene Salicin in der Lösung geblieben war, weil durch eine ganze Reihe anderer Versuche festgestellt worden ist, dass eine solche Menge von Salicin, wie die Lösung sie enthielt (1,1 g), nach 28—34 Stunden zerspalten wird. Ebenso prüfte ich bei Spaltung von Arbutin durch das Mycelium von *Aspergillus niger* die Lösung von Zeit zu Zeit mit Ammoniaksilberoxydlösung und beobachtete nach 5—7 Tagen keine Silberreduction mehr; die Flüssigkeit liess nach dem Verdunsten fast keinen Rest übrig.

Aus den uns bekannten Thatsachen geht hervor, dass, wenn die Culturflüssigkeit neben einem Glycosid noch einen anderen Nährstoff enthält, welcher für die Ernährung des Schimmelpilzes geeigneter ist, als das Glycosid, und sich in viel grösserer Menge als dies letztere vorfindet, dass in diesem Falle das Mycelium nur diesen Nährstoff verarbeitet und das Glycosid keiner Spaltung durch das Mycelium unterliegt, solange noch eine bestimmte Menge von diesem besseren Nährstoff in der Flüssigkeit ist. Erst nachdem diese Menge bis zu einem gewissen Quantum vermindert worden ist, beginnt die Spaltung des Glycosids, die dem Verschwinden des anderen Nährstoffes parallel vorschreitet.

Um die Grenzmenge verschiedener Nährstoffe, welche die Spaltung des Glycosids unterdrücken, etwas näher zu bestimmen, habe ich einige Versuche mit Dextrose, Saccharose und Stärke angestellt, die folgende Resultate ergaben.

Das Salicin bleibt ungespalten, wenn die Culturflüssigkeit eine 6fache Menge Dextrose, 12—13fache Menge Saccharose und 14—16fache Menge Stärke enthält.

Das Helicin wird nicht gespalten bei Gegenwart einer 7fachen Menge Dextrose, 12—13fachen Menge Saccharose und 15—16fachen Menge Stärke.

Das Arbutin erleidet keine Spaltung, wenn die Culturflüssigkeit die 11—12fache Menge Saccharose und die 15—16fache Menge Stärke enthält.

Befinden sich in der Culturflüssigkeit zwei Glycoside in gleichen oder verschiedenen Mengen, so ist kein Unterschied in der Spaltungsenergie beider Glycoside zu bemerken. Die Lösung, welche 1 g Salicin und 5 g Amygdalin enthielt, zeigte nach 12 Stunden eine ebenso starke Färbung mit  $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$  wie die Salicinlösung von derselben Concentration allein.

Auf diese Weise geht die Spaltung der Glycoside durch lebende Mycelien ganz in derselben Weise vor sich, wie durch Emulsin. Eine Ausnahme bildet das Amygdalin, welches dabei etwas anders zerfällt und zwar ähnlich der Spaltung durch Alkalien oder mittelst Invertins. Wenn aber die Cultur auf der Amygdalinlösung in Aether- oder Chloroformdämpfe enthaltender Luft oder in einer Wasserstoffatmosphäre sich befindet, so kann man schon nach 5—6 Stunden den Geruch von Benzaldehyd ganz deutlich wahrnehmen. Die Versuche in Wasserstoffatmosphäre dauerten gewöhnlich nicht länger als 8—10 Stunden, und nach dieser Zeit waren die Mycelien lebend, athmeten, vergrösserten ihre Myceliummasse und bildeten Conidien, nachdem die Amygdalinlösung durch RAULIN'sche Nährlösung ersetzt worden war. Die Versuche mit den anästhesirten Mycelien dauerten 16—18 Stunden, die Mycelien blieben dabei lebend. Lässt man aber solche anästhesirte Mycelien nach dem Versuch auf derselben Amygdalinlösung liegen, so entwickeln sie sich weiter, aber der Geruch des Benzaldehyds verliert sich erst nach ziemlich langer Zeit (8—10 Tagen).

Wenn sich das Mycelium auf einer Salicin- oder Coniferinlösung in der Aetherdämpfe enthaltenden Luft befindet, geht die Spaltung dieser Glycoside in gewöhnlicher Weise vor sich, aber die dabei gebildete Glycose bleibt in der Culturflüssigkeit. Diese Erscheinung bietet aber nichts Besonderes, da bei der Anästhesie die weitere Entwicklung des Myceliums und die Synthese der organischen Substanz im Protoplasma still steht und in Folge dessen jeder Zufluss von Nährstoffen überflüssig ist.

Am wahrscheinlichsten ist es, eine intracellulare Spaltung des Salicins, Arbutins etc. zeigt, dass nach Massgabe des Vorschreitens der Spaltung sich eine immer grössere Menge von Saligenin, Hydrochinon etc. in der Lösung anhäuft. Nimmt man eine intracellulare Spaltung des Salicins an, so folgt daraus nothwendig, dass das Saligenin nach seiner Bildung aus dem Mycelium in die umgebende Flüssigkeit hinübertritt. Da sich aber die Menge des Saligenins in dieser Flüssigkeit vergrössert, so muss auch die Concentration der Saligeninlösung innerhalb des Myceliums steigen, und darum kann, dank der Empfindlichkeit der Reaction mit  $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$ , die Anwesenheit von Saligenin constatirt

werden. Um diese Frage zu lösen, habe ich den folgenden Versuch gemacht. Nachdem sich auf der RAULIN'schen Lösung ein ziemlich starres, aber noch weisses Mycelium von *Aspergillus niger* entwickelt hatte, ersetzte ich die RAULIN'sche Nährlösung durch 1,5procentige Salicidlösung. Das Mycelium befand sich in einer viereckigen Porcellanwanne, und seine Fläche betrug  $18 \times 12 = 216 \text{ qm}$ . Nach 14 Stunden färbte sich die Salicidlösung bei Zusatz von  $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$  stark blau und ergab mit FEHLING'scher Lösung nur Spuren von Kupferoxydul. Das Mycelium wurde von der Lösung entfernt, seine untere Seite wurde mit destillirtem Wasser sorgfältig und rasch abgespült, und dann wurde es mit heissem Wasser und reinem Quarzsand im Mörser zerrieben. Die Flüssigkeit wurde sodann abfiltrirt, auf ein kleines Volumen eingeeengt und nochmals filtrirt. Die Flüssigkeit gab aber mit  $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$  keine Färbung. Dann wurde die Emulsinlösung und wenige Tropfen Chloroform zur Flüssigkeit hinzugefügt, und alles wurde bei  $30^\circ$  stehen gelassen. Nach 16 Stunden wurde die Flüssigkeit durch  $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$  wiederum nicht gefärbt. Ich habe mehrere solche Versuche mit den Mycelien von *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum* angestellt, und alle diese Versuche ergaben dieselben Resultate. Daraus geht hervor, dass die Spaltung des Salicins extracellular ist, da, dank der Empfindlichkeit der Reaction mit  $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$ , die Anwesenheit von Saligenin innerhalb des Myceliums sich hätte nachweisen lassen müssen, wenn sich dasselbe dort gebildet hätte.

Die Schimmelpilze können die Glycoside spalten, nicht nur wenn sie schon ganz entwickelte Mycelien vorstellen, sondern auch bei der Keimung ihrer Sporen. In gleichen Volumina der Minerallösung von RAULIN (d. h. ohne Zucker und Weinsäure) wurden die gleichen Quantitäten von Saccharose und Glycosiden: Amygdalin, Salicin, Helicin, Arbutin und Coniferin gelöst. Jede dieser Lösungen wurde dann mit einer gleichen minimalen Sporenmenge von *Aspergillus niger* besäet und alle bei  $30^\circ$  stehen gelassen. Nach 3 Tagen keimten die Sporen auf allen Lösungen und bildeten Mycelien. Diese letzteren wurden entfernt, getrocknet und gewogen. Die Gewichte der Trockensubstanz dieser Mycelien waren folgende:

Auf der Saccharinlösung . . . . .	0,859 g
„ „ Amygdalinlösung . . . . .	0,820 „
„ „ Helicinlösung . . . . .	0,770 „
„ „ Arbutinlösung . . . . .	0,762 „
„ „ Salicidlösung . . . . .	0,721 „
„ „ Coniferinlösung . . . . .	0,612 „

Wie man erwarten konnte, entspricht diese ihrem Nährwerthe nach aufgestellte Reihenfolge der Glycoside der Menge der bei der Glycosidspaltung gebildeten Glycose. Es ist bemerkenswerth, dass die Sporen

auf der Helicinlösung keimten und Mycelien bildeten, wobei ich weder den Geruch von Salicylaldehyd wahrnehmen, noch auch eine Färbung mit  $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$  constatiren konnte.

Die Schimmelpilze spalten also die Glycoside, die ihnen als Nahrung dienen, in Glycose und Benzolderivate. Die Glycose wird vom Mycelium aufgenommen, das Benzolderivat wird entweder auch aufgenommen oder bleibt in der Lösung, ohne eine weitere Umwandlung zu erfahren. Diese Spaltung vollzieht sich unter der Einwirkung von Emulsin. Dieses Enzym diosmirt aus dem Mycelium in die umgebende Flüssigkeit. Ob dabei andere Enzyme in die Glycosidlösung diosmiren, wie es der Fall ist, wenn das Mycelium sich auf Wasser befindet, bleibt noch unaufgeklärt. Ich theilte die Salicinlösung, auf der sich das Mycelium von *Aspergillus niger* 16 Stunden lang befunden hatte, in vier Portionen und fügte zu denselben kleine Mengen von Stärke-, Saccharose- und Inulinlösung hinzu, eine Portion aber liess ich ohne jede Zugabe. Alle Portionen wurden dann auf ein gleiches Volumen gebracht und bei  $30^\circ$  stehen gelassen. Nach 16 Stunden wurden sie auf ihren Glycosegehalt geprüft. Nur die Portion, die Saccharose enthielt, reducirte FEHLING'sche Lösung stärker, als die anderen. Daraus konnte man schliessen, dass die untersuchte Salicinlösung auch ein invertirendes Enzym enthielt. Ob das aber ein mit dem Invertin identisches Enzym ist, oder ein anderes — bleibt unaufgeklärt. Die Anwesenheit des invertirenden Enzyms macht den Vorgang der Spaltung des Amygdalins durch das lebende Mycelium begreiflich. E. FISCHER<sup>1)</sup> fand, dass das Invertin der Presshefe die Glycose von Amygdalin abspaltet. Fügt man zu einer Salicinlösung Presshefe hinzu, so kann man nach 3—4 Tagen (bei  $20$ — $21^\circ$ ) dieselbe Spaltung des Salicins nachweisen, wie bei Einwirkung von Emulsin; die Lösung färbt sich bei Zusatz von  $\text{Fe}_2\text{Cl}_6$  blau und reducirt FEHLING'sche Lösung sehr wenig. Nach E. FISCHER steht die Hydrolyse mit dem geometrischen Bau des wirkenden Enzyms und der betreffenden Stoffe in engstem Zusammenhang. Von den Enzymen wirken nur diejenigen auf die Polysaccharide (darunter auch Glycoside) ein, welche mit diesen verwandte Configuration besitzen. Bei diesem Verhalten haben das Invertin und das Emulsin viel Gemeinsames, um so mehr, als es mehrere Invertine giebt, die sich von einander unterscheiden. So z. B. spaltet das von *Saccharomyces cerevisiae* producirt Invertin die Saccharose in Dextrose und Laevulose und lässt den Milchzucker intact, während das Invertin von *Saccharomyces kefir* den Milchzucker und ebenso die Saccharose spaltet. Ausser der Wirkungsweise unterscheiden sich die Invertine auch hinsichtlich ihrer Fähigkeit durch die Zellmembranen zu diosmiren. *Saccharomyces cerevisiae* enthält ausser dem

1) Berichte der Deutsch. chem. Gesellschaft, 27, S. 2985.

gewöhnlichen, leicht diosmirenden Invertin noch ein anderes, das nur schwer ausziehbar ist und ausserdem Maltose spaltet. Man kann daher wohl annehmen, dass das Emulsin und das Invertin, die in ihren Eigenschaften viel Gemeinsames haben, auch ihrer Entstehung nach einander sehr nahe stehen. Auf diese Verwandtschaft hinsichtlich ihrer Entstehung weisen sowohl die Spaltung des Amygdalins unter gewöhnlichen Bedingungen und durch das anästhesirte Mycelium, als auch die Spaltung des Salicins durch die Hefe, in welcher Emulsin nicht gefunden worden ist. Das sind aber noch ganz unaufgeklärte Fragen, die weitere Bearbeitung fordern, und in dieser Hinsicht halte ich meine Untersuchungen noch nicht für abgeschlossen.

Kiew, Botanisches Institut.

## 51. P. Magnus: Ueber die Beziehungen zweier auf *Stachys* auftretenden Puccinien zu einander.

Mit Tafel XXIV.

Eingegangen am 26. December 1898.

Unter den von Herrn J. BORNMÜLLER auf seinem Iter Persico-turcicum 1892—1893 gesammelten Pilzen erregte mir ein grosses Interesse eine auf *Stachys setifera* C. A. M. in der Provinz Kerman an Büschen und Hecken bei Rahbur in der Höhe von 2600 *m* gesammelte Puccinia. Herr BORNMÜLLER hatte dieselbe Art schon 1890 in Anatolien an Gräben auf dem Berge Sana-dagh in 1000 *m* Höhe gesammelt. In meiner in ENGLER's Botanischen Jahrbüchern Bd. XIV. erschienenen Bearbeitung dieser Sammlung hatte ich sie S. 489 als *Puccinia Vossii* Körn. bestimmt. Ich bemerkte aber schon damals l c., dass sie zwar in dem Charakter der Teleutosporen mit *Puccinia Vossii* Körn. gut übereinstimmt, „aber dadurch sehr abweicht, dass die Häufchen einzeln zerstreut stehen, nicht über die ganze Fläche aller Blätter des ergriffenen Sprosses gleichmässig ausgebreitet sind“, wie das bei *Puccinia Vossii* Körn. der Fall ist. Ich wagte damals nicht darauf eine neue Art zu unterscheiden, da, wie ich selbst nachgewiesen habe, zu einigen *Puccinia*- oder *Uromyces*-Arten zweierlei verschiedene Teleutosporen bildende Mycelien gehören, nämlich die ganzen Sprosse durchziehende Mycelien und andere auf den Ort des Eindringens beschränkt bleibende Mycelien. So wies ich es z. B. bei *Uromyces Gly-*

# 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: 1898

Band/Volume: [16](#)

Autor(en)/Author(s): Puriewitsch K.

Artikel/Article: [Ueber die Spaltung der Glycoside durch die Schimmelpilze 368-377](#)