

# Beiträge zur Kenntnis der Entstehungsbedingungen diastatischer Enzyme in höheren Pflanzen.

Von Elfriede Eisenberg.

## Einleitung.

Die Untersuchungen über die diastatischen Enzyme haben ein großes Tatsachenmaterial mit vielen wertvollen Ergebnissen gefördert. Naturgemäß hat sich die Forschung zuerst den am leichtesten zugänglichen Problemen gewidmet: der Wirkungsweise der Diastase, und diese ist von physiologischer wie chemischer Seite in ausgedehntem Maße untersucht worden.

Der nächste Schritt mußte sein, die Entstehungsbedingungen der Diastase zu prüfen. Auf diesem Gebiet sind noch keine einheitlichen Ergebnisse erzielt worden, und es soll die Aufgabe der folgenden Untersuchungen sein, die hier in Betracht kommenden Fragen zusammenzustellen, die bisher gewonnenen Erkenntnisse zu erweitern und manche der bestehenden Widersprüche lösen zu helfen.

Die viel umstrittene Frage nach der Natur der Diastase soll hier nicht weiter erörtert werden. Wir verstehen unter Diastase, wie es zumeist üblich ist, einen Stoff aus der Gruppe der Enzyme, die als Katalysatoren angesehen werden, welche von Organismen gebildet worden sind. Die Diastase kann aus den Pflanzen durch geeignete Extraktionsmethoden isoliert werden. Sie besitzt die Fähigkeit, das sehr kompliziert gebaute Polysaccharid der Stärke in einfachere Kohlehydrate (Dextrin- und Zuckerarten) umzuwandeln.

Nach den neueren Untersuchungen gibt es sicher verschiedene Diastaseformen, von denen namentlich die Sekretions- und die Translokationsdiastase zu unterscheiden sind. Green, einer der besten Kenner der Enzyme, gibt für sie folgende Merkmale an (1901, S. 18 u. 32): Die Sekretionsdiastase korrodiert Stärkekörner, verflüssigt Stärkekleister rasch und wirkt am besten bei einer Temperatur von 50—55° C. Sie ist, wahrscheinlich ausschließlich, auf keimende Samen beschränkt, hauptsächlich die der Gräser, und wird bei diesen in erster Linie vom Skutellum sezerniert. Die Translokationsdiastase löst Stärkekörner ohne Korrosion und hat eine sehr langsame Einwirkung auf Stärkekleister, obwohl sie lösliche Stärke leicht umbildet. Sie wirkt am besten bei einer Temperatur von 45—50° C und ist bei niedriger

Temperatur wirksamer als die Sekretionsdiastase. Sie wird hauptsächlich in den Vegetationsorganen der ausgebildeten Pflanze angetroffen.

Von besonderer Wichtigkeit war es, Aufschluß darüber zu erlangen, ob die Diastasebildung regulatorisch erfolgt, d. h. dem Bedürfnis der Pflanze entsprechend. Wortmann (1882) hat bei einem Mikroorganismus Hungerreiz als Ursache zur Diastaseausscheidung beobachtet. Brown und Morris (1890) nehmen ebenfalls Hungerreiz als Ursache für die Diastasesekretion beim Schildchenepithel der Gerstenembryonen an. Pfeffer (1896) und Katz (1898) haben regulatorische Diastasebildung für Schimmelpilze nachgewiesen, und ersterer schloß, von solchen Erfahrungen ausgehend, auf dieselbe Entstehungsweise auch bei höheren Pflanzen. Krabbe (1890) und Went (1901) kommen zu dem entgegengesetzten Ergebnis, daß um so mehr Enzym produziert werde, je besser die Zellen ernährt seien. Eine ausführlichere historische Übersicht in bezug auf dieses Gebiet findet sich bei Went (1901): „Über den Einfluß der Nahrung auf die Enzyymbildung durch *Monilia Sitophila*.“

Das Problem der regulatorischen Diastaseproduktion bildete den Ausgangspunkt zu allen Untersuchungen dieser Arbeit. Die Gliederung des Stoffes ist folgende:

- I. Untersuchungsmethode.
- II. Das Wachstum und die Entstehung der Diastase.
- III. Der Einfluß der Temperaturverhältnisse auf die Diastasebildung.
- IV. Der Einfluß des Sauerstoffs auf die Diastasebildung.
- V. Die Wirkung des Äthers auf die Diastasebildung.
- VI. Die Wirkung von Säure auf die Diastase.
- VII. Die Diastase der Laubblätter.
- VIII. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Bezüglich der Literaturangaben ist der Schluß dieser Arbeit nachzusehen. Hier sei aber von vornherein auf diejenigen Werke hingewiesen, in denen die Fragen über die Enzyme in zusammenhängender Weise behandelt werden: Czapek: Biochemie der Pflanzen. Effront-Bücheler: Die Diastasen. Green-Windisch: Die Enzyme. Höber: Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Jost: Pflanzenphysiologie. Loeb: Dynamik der Lebenserscheinungen. Adolf Mayer: Die Lehre von den chemischen Enzymen. Oppenheimer: Die Fermente. Pfeffer: Pflanzenphysiologie. Schleichert: Die diastatischen Fermente der Pflanze.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden während der Jahre 1905 und 1906 im botanischen Institute der Universität Jena unter

der Leitung von Herrn Hofrat Professor Dr. Detmer ausgeführt. Ich erlaube mir, meinem hochverehrten Lehrer für seine reichen Anregungen und sein unermüdliches Interesse meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen. Ebenso danke ich dem hochverehrten Direktor des botanischen Institutes, Herrn Professor Dr. Stahl, aufs herzlichste für sein mir stets bewiesenes freundliches Entgegenkommen.

## I. Abschnitt.

### Untersuchungsmethode.

Das erste Erfordernis bei allen Experimenten war, die Diastase aus den betreffenden Pflanzenteilen zu isolieren. Zu diesem Zweck wurden die Untersuchungsobjekte, soweit es sich nicht durch die Fragestellung verbot, getrocknet, und zwar im Thermostaten bei einer Temperatur von höchstens  $42^{\circ}$  C, damit das Enzym nicht geschädigt würde. Das Trocknen der Pflanzenteile war notwendig, um die mechanische Zertrümmerung der Zellen und die Extraktion der Diastase zu erleichtern. Die trockne Substanz wurde sodann im Mörser gepulvert und durch ein Haarsieb getrieben, um möglichste Gleichmäßigkeit des Materials zu erzielen. Ein bestimmtes Quantum Wasser, das für jeden einzelnen Fall festzustellen war, entzog diesem Pulver die Diastase. Die Dauer der Extraktion betrug meist zwei Stunden, während dieser Zeit wurden die Flüssigkeiten oft umgeschüttelt. Darauf erfolgte die Filtration der Extrakte, und zwar so oft, bis die Filtrate nach Möglichkeit klar geworden waren. Als Maß für die darin enthaltene Diastasemenge diente die Zeitdauer, in der eine bestimmte Quantität von Stärkekleister umgewandelt worden war. Dieser Stärkekleister war stets 1% ig und am Tage des Versuchs frisch bereitet. Er wurde aus sogenannter löslicher Stärke hergestellt, da sich gewöhnlicher Stärkekleister nach Wortmanns Untersuchungen als ungeeignet bei Experimenten über Diastasewirkung herausgestellt hat. Das günstigste Mengenverhältnis zwischen Pflanzenextrakt und Stärkekleister mußte für jeden Fall durch Versuche festgestellt werden.

Zum Nachweis der Diastasewirkung lassen sich verschiedene Methoden verwenden. Handelt es sich um die Gewinnung absoluter Werte, so muß natürlich der in bestimmter Zeit durch das Ferment aus der Stärke gebildete Zucker quantitativ bestimmt werden. Die relativ besten Methoden für solche Untersuchungen sind von Kjeldahl (1879) und Lintner (1886) ausgearbeitet worden. Abgesehen davon, laß von guten Kennern dieser Methoden noch mancherlei Bedenken

gegen ihre Genauigkeit geltend gemacht werden, waren sie für mich schon deshalb unbrauchbar, weil überaus zahlreiche Einzelbeobachtungen angestellt werden mußten und es undurchführbar gewesen wäre, jene zeitraubenden Methoden dabei in Anwendung zu bringen. Ich mußte mich durchaus auf die Benutzung der bekannten Methode der Jodreaktion beschränken, und es war dies auch statthaft, da es sich für mich nur um vergleichende Beobachtungen handelte.

Die Jodreaktion wird zwar von verschiedenen, so von Lintner und Grüß, als unsicher bezeichnet, weil sie bei zu kleinen und bei zu wenig verschiedenen Diastasemengen unzuverlässige Resultate gebe, doch wird sie von Wortmann empfohlen, und Pfeffer (1896, S. 514) sagt, daß es für vergleichende Untersuchungen genüge, mit Hilfe der Jodreaktion zu verfolgen, ob und in welcher Zeit die kleine und gleiche Menge der zugefügten Stärke zum Verschwinden kommt. Ähnlich spricht sich Green aus, und damit stimmen meine Erfahrungen überein. Auch in unserm Fall handelt es sich ja, wie gesagt, nur um vergleichende Untersuchungen, und es wurden stets nur aus solchen Resultaten Schlüsse gezogen, die ziemlich beträchtliche und zu wiederholten Malen gleiche Differenzen in der Reaktion ergaben.

Wortmann (1890) führt verschiedene Vorsichtsmaßregeln an, um bei der Verwendung des Stärkekleisters und der Jodreaktion Trugschlüsse zu vermeiden. Diese fanden alle Berücksichtigung.

Um gewissen, von Wortmann hervorgehobenen Irrtümern zu entgehen, wurden oft zur Kontrolle die Flüssigkeitsgemische gekocht und nach Abkühlen mit Jod versetzt, wobei sich aber stets dieselbe Färbung ergab wie bei den ungekochten Lösungen.

Ferner wurden die Gemische aus Pflanzenextrakt und Stärkelösung vor jeder Prüfung mit Jod kräftig umgeschüttelt, sodaß die etwa gebildeten Niederschläge sich in der ganzen Flüssigkeit verteilten.

Zum Schutz vor irreführender Einwirkung der Bakterien erhielten die Extrakte, sobald sie über Nacht stehen mußten, Toluol zugesetzt, das sich als gutes, die Diastase nicht beeinflussendes Sterilisierungsmittel erwiesen hat.

Sehr empfehlenswert ist es auch, neben dem eigentlichen Versuch eine ihm parallelgehende Beobachtung anzustellen, bei deren Ausführung man den Pflanzenextrakt zuerst kocht, um das Ferment zu vernichten, abkühlt und mit Stärkelösung versetzt. In diesem letzteren Gemisch darf dann keine Stärkeumbildung eintreten, und eine Probe davon muß sich auf Jodzusatz noch blau färben, während Proben der Mischung von ungekochten diastasehaltigen Extrakten und löslicher Stärke bereits eine andere Reaktion zeigen.

An einem Beispiel sei nun der Gang der Reaktion erläutert: 4 g Blattpulver von *Pisum sativum* wurden mit 100 ccm destillierten Wassers extrahiert und abfiltriert. 70 ccm des fast klaren, schwach sauren Extraktes erhielten einen Zusatz von 28 ccm Stärkekleister, und zur Kontrolle wurde gekochter Extrakt im gleichen Verhältnis mit Stärkekleister vermischt. Zur Prüfung entnahm ich nach bestimmten Zeitabständen jedem Gemisch ungefähr  $\frac{1}{2}$  ccm und fügte mittelst eines Glasstabes einen kleinen Tropfen Jodjodkaliumlösung hinzu. Die nacheinander durch die Wirkung des Enzyms entstehenden Dextrinarten zeigten beim Zusatz von Jod bestimmte Farben, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht:

|                         | Ungekochter Extrakt | Gekochter Extrakt |
|-------------------------|---------------------|-------------------|
| sofort                  | blau                | —                 |
| nach $\frac{1}{2}$ Std. | schwach violett     | blau              |
| „ 1 „                   | violett             | blau              |
| „ $1\frac{1}{4}$ „      | rot                 | blau              |
| „ $1\frac{3}{4}$ „      | braunrot            | —                 |
| „ 2 „                   | rotbraun            | blau              |
| „ 3 „                   | braun               | blau              |
| „ 5 „                   | braungelb           | —                 |
| „ 6 „                   | gelb                | blau              |

Die Gelbfärbung bezeichnet den Schluß der Umwandlung, soweit sie durch Diastase möglich ist.

Es sei hier noch ein für allemal bemerkt, daß bei Versuchen mit Erbsen stets Blätter von älteren Pflanzen zu verwenden sind, da bei Benutzung jüngeren Materials die Jodreaktion nicht scharf ist.

Bei allen Untersuchungen diastasehaltiger Pflanzenextrakte ist folgendes sehr zu beachten: Die Diastase ist in der Pflanze nicht gleichmäßig in den Zellen verteilt, sondern sie ist, wie man sicher annehmen darf, im Protoplasma vorhanden, das sie erzeugt hat. Bei der Extraktion der getrockneten und gepulverten Pflanzenteile durch Wasser erzielt man nun eine Flüssigkeit, die zwar Diastase enthält, daneben aber viele Stoffe, die im Zellsaft der lebenden Pflanze enthalten waren und infolge der Semipermeabilität des Protoplasmas (die freilich unter Umständen regulatorisch beschränkt oder aufgehoben werden kann) nie mit der Diastase in Berührung kamen. Als solche Substanzen kommen z. B. organische Säuren und Gerbstoffe in Betracht, und auf diese Körper ist in den vorliegenden Untersuchungen stets besondere Rücksicht genommen worden, da sie allgemein verbreitet sind und nachgewiesenermaßen die Diastase in dieser oder jener Richtung hin beeinflussen.

Was die Säuren anbetrifft, so ist ihre Wirkung auf das Ferment in Abschnitt VI spezieller behandelt. Bei allen Versuchen ist die Reaktion der Pflanzenextrakte ermittelt worden, und es sind auch an geeigneter Stelle Kontrollversuche angegeben, um Fehlerquellen auszuschließen.

Mit Rücksicht auf die Gerbstoffe sei hier gleich auf die Erfahrung hingewiesen, daß ihre Gegenwart in den Extrakten (z. B. solchen aus Blättern) den Nachweis der Diastase in den Auszügen sehr erschweren kann oder ganz unmöglich macht. Das letztere lehrt z. B. der folgende Versuch:

1 g Blattpulver von *Fagus silvatica* wurde mit 25 ccm Wasser extrahiert und filtriert, desgleichen 10 g Gerstenmalzpulver mit 40 ccm Wasser. Der Blattextrakt gab mit Eisenchloridlösung eine grünliche Fällung (der Nachweis für Gerbstoff). Ich stellte drei Gemische her: I. 8 ccm Blattextrakt mit  $3\frac{1}{5}$  ccm Stärkekleister. II. 8 ccm Blattextrakt mit  $3\frac{1}{5}$  ccm Stärkekleister und 1 ccm Malzextrakt. III. 1 ccm Malzextrakt mit 7 ccm Wasser und  $3\frac{1}{5}$  ccm Stärkekleister. Die Prüfung mit Jod ergab, daß die beiden Gemische, die Blattextrakt enthielten, nach einer halben Stunde noch reine Blaufärbung aufwiesen, während das Gemisch aus Malz und Stärke nach dieser Zeit bereits braune Farbe zeigte. Nach 24 Stunden traten folgende Farben auf: I blau, II braunviolett, III gelb.

Ferner wurde reine Gerbsäure in verdünnter Lösung mit Malzextrakt vermischt und Stärkekleister hinzugefügt. Es trat darauf nur eine sehr langsame Umwandlung des Amylums ein.

Es ergibt sich also aus diesen Beobachtungen, daß die Gegenwart des Gerbstoffs die Wirksamkeit des Fermentes sehr bedeutend beeinträchtigt, und da die Extrakte der Buchenblätter, wie erwähnt, Gerbstoffe führen, so läßt sich infolgedessen gar nicht feststellen, ob sie diastasehaltig sind oder nicht.

## II. Abschnitt.

### Das Wachstum und die Entstehung der Diastase.

Die Beziehung zwischen Keimung und Diastaseproduktion ist bereits von Grüß (1896) untersucht worden, der eine Vermehrung des Ferments während der Keimung beobachtete.

Denselben Befund ergaben Versuchsreihen, durch die ich den Zusammenhang zwischen Wachstum und Diastasebildung vom Gesichtspunkt der regulatorischen Entstehung aus festzustellen suchte.

Ich ließ Weizenkörner 18 Stunden lang quellen und dann auf Filtrierpapier im Dunkeln bei einer Temperatur von 20° C keimen. Je 20 gequollene Körner, sowie Keimlinge von 1, 3 und 5 Tagen wurden getrocknet und zerrieben. Die Plumulae der Keimlinge hatten eine durchschnittliche Länge von 1, 30 und 70 mm, bei den letzteren war das erste Laubblatt bereits entfaltet. Die Keimlinge wurden mit je 20 ccm Wasser extrahiert und die Extrakte abfiltriert. Die Reaktion auf blaues Lackmuspapier gab einen mit dem Alter zunehmenden Säuregehalt der Keimlinge an. Die Extrakte erhielten die doppelte Menge Stärkekleister zugesetzt, darauf verlief die Umwandlung folgendermaßen:

| Alter der Keimlinge in Tagen: | 0          | 1       | 3          | 5         |
|-------------------------------|------------|---------|------------|-----------|
| nach 2 Minuten                | blau       | blau    | blau       | violett   |
| „ 6 „                         | blau       | blau    | rotviolett | braun     |
| „ 11 „                        | blau       | blau    | rotbraun   | braungelb |
| „ 20 „                        | blau       | blau    | braun      | gelb      |
| „ 45 „                        | violett    | violett | gelb       | —         |
| „ 25 Stunden                  | rotviolett | braun   | —          | —         |

Um zu erfahren, ob der Unterschied in der Säurereaktion den Verlauf der Umwandlung beeinflusse, wurde durch Hinzufügen von verdünnter Zitronensäure zu einem Teil der noch unvermischten Extrakte die Reaktion auf Lackmuspapier überall auf dieselbe Stufe gebracht. Die nachfolgende Untersuchung zeigte zumeist eine geringe Beschleunigung des Umwandlungsverlaufes im Vergleich zum vorhergehenden Versuch, doch unter sich standen die einzelnen Phasen der Umwandlung noch im gleichen Verhältnis.

Dieses Ergebnis lehrt wohl sicher, daß die Diastasebildung vom Wachstum abhängig ist, denn mit fortschreitendem Wachstum der Keimteile steigt auch die Menge des produzierten Enzyms.

Um noch spezieller zu zeigen, daß das Wachstum in seinem nachgewiesenen Einfluß auf die Erzeugung der Diastase als regulatorischer Faktor aufzufassen ist, diente folgender Versuch:

Weizenkörner wurden bei 20° 24 Stunden lang in Wasser eingequollen und dann auf Filtrierpapier in Glasschalen gelegt, die unter Blechzylindern standen. Nach 2 Tagen, als die Plumulae durchschnittlich 4 mm lang waren, schnitt ich von 40 Keimlingen Plumulae und Würzelchen mit dem Rasiermesser vorsichtig ab. 20 Körner gelangten sofort zum Trocknen in den Thermostaten (A), 20 wieder auf das Filtrierpapier (B).

Nach abermals 3 Tagen, während welcher die nachgewachsenen Organe der beschnittenen Keimlinge B wiederholt entfernt worden

waren, wurden diese ebenfalls getrocknet. Gleichzeitig sind noch 20 unverletzte Keimlinge mit durchschnittlich 43 mm langer Plumula beschnitten und getrocknet worden (C). In diesen Körnern war die Reservennahrung schon fast ganz verflüssigt. Die getrockneten Körner wurden gepulvert und mit je 20 ccm Wasser 2 Stunden lang extrahiert. Das Filtrat C war etwas stärker sauer als die beiden andern. Die Extrakte bekamen die vierfache Menge an Stärkekleister zugesetzt, darauf nahm die Umwandlung folgenden Verlauf:

|                | A       | B       | C     |
|----------------|---------|---------|-------|
| nach 5 Minuten | blau    | blau    | rot   |
| „ 10 „         | blau    | violett | braun |
| „ 15 „         | violett | rot     | gelb  |
| „ 45 „         | rot     | braun   | —     |
| „ 90 „         | braun   | gelb    | —     |

Aus diesen Beobachtungen können wir auf jeden Fall entnehmen, daß die Diastasebildung eine Hemmung erleidet, wenn das Wachstum beschränkt wird und daher der aus der Stärke durch die Diastase gebildete Zucker keine Ableitung und keinen Verbrauch erfährt. (Vergl. auch Hansteen 1894 und Puriewitsch 1897). Eine völlige Aufhebung des Wachstums war in unserm Versuche nicht erzielt; die Keimlinge wuchsen, wie angegeben worden ist, etwas nach, und daraus erklärt sich die geringe Zunahme des Enzyms in den 5 Tage alten beschnittenen Untersuchungsobjekten B.

Die angeführten Tatsachen sprechen überzeugend dafür, daß die Diastase zu ihrer Bildung einen Anreiz nötig hat, der durch das Wachstum ausgelöst wird.

### III. Abschnitt.

#### Der Einfluß der Temperaturverhältnisse auf die Diastasebildung.

Es finden sich in der Literatur genaue Angaben über den Einfluß der Temperatur auf die Wirkungsweise der Diastase. Über die Bedeutung der Temperatur für die Entstehung der Diastase scheint dagegen noch nichts bekannt zu sein.

Ich unternahm folgende Versuchsreihe: Es wurden Weizenkörner unter sonst gleichen Bedingungen bei  $14\frac{1}{2}^{\circ}$ ,  $25\frac{1}{2}^{\circ}$  und  $32^{\circ}$  C unter Lichtabschluß kultiviert und dann auf ihren Diastasegehalt untersucht. Die Temperatur von  $14\frac{1}{2}^{\circ}$  herrschte ziemlich konstant in einem ungeheizten Zimmer, die beiden andern Temperaturgrade ließen sich im Thermostaten herstellen.



Die Weizenkörner wurden zuerst ca. 14 Stunden lang in gekochtem filtrierten Regenwasser bei der bestimmten Temperatur eingequollen, dann  $3\frac{1}{2}$  Tage lang in Glasschalen auf Filtrierpapier, das bei einem Teil der Versuche zur größeren Vorsicht sterilisiert worden war, der Keimung überlassen. Nach dieser Zeit besaßen die bei  $14\frac{1}{2}^{\circ}$  gewachsenen Keimlinge eine Plumula von durchschnittlich 5 mm Länge, die bei  $25\frac{1}{2}^{\circ}$  gewachsenen von 40 mm und die bei  $32^{\circ}$  gewachsenen von  $17\frac{1}{2}$  mm Länge. Sie wurden bei ca.  $40^{\circ}$  getrocknet, zu Pulver zerrieben und je 1 g des Pulvers mit 25 ccm Wasser extrahiert. Die Filtrate zeigten schwach saure Reaktion, die bei dem Extrakt der Keimlinge von  $14\frac{1}{2}^{\circ}$  am schwächsten, bei dem von  $25\frac{1}{2}^{\circ}$  am stärksten war. Die Auszüge erhielten einen Zusatz von 1 prozent. Stärkekleister im Verhältnis 1:6, z. B. 5 ccm Extrakt mit 30 ccm Stärkekleister. Der Verlauf der Reaktion war folgender:

|                 | $14\frac{1}{2}^{\circ}$ | $32^{\circ}$     | $25\frac{1}{2}^{\circ}$ |
|-----------------|-------------------------|------------------|-------------------------|
| nach 20 Minuten | violett                 | violett          | rotbraun                |
| „ 30 „          | rotviolett              | bräunlichviolett | braun                   |
| „ 40 „          | rotbraun                | rotbraun         | braun                   |
| „ 50 „          | rotbraun                | fast braun       | hellbraun               |
| „ 60 „          | fast braun              | braun            | braungelb               |
| „ 75 „          | braun                   | braun            | gelb                    |

Diesen Versuch wiederholte ich in ganz gleicher Weise bei Temperaturen von  $14$ ,  $25\frac{1}{2}$  und  $33\frac{1}{2}^{\circ}$  C. Die Länge der Plumulae betrug entsprechend im Durchschnitt  $4$ ,  $42\frac{1}{2}$  und  $18\frac{1}{2}$  mm. Die getrockneten Keimlinge wurden diesmal nicht nach Gewicht, sondern der größeren Exaktheit wegen nach der Zahl angewendet, und zwar je 20 Stück auf 20 ccm Wasser. Der Verlauf der Reaktion nach Zusatz von Stärkekleister gestaltete sich folgendermaßen:

|                        | $14^{\circ}$ | $33\frac{1}{2}^{\circ}$ | $25\frac{1}{2}^{\circ}$ |
|------------------------|--------------|-------------------------|-------------------------|
| nach 20 Minuten        | blau         | blau                    | rotviolett              |
| „ 30 „                 | violett      | schwach violett         | rotbraun                |
| „ 40 „                 | rotviolett   | rotviolett              | braun                   |
| „ 50 „                 | braunviolett | rotviolett              | braun                   |
| „ $1\frac{1}{2}$ Stdn. | rotbraun     | rotbraun                | braungelb               |
| „ $2\frac{1}{2}$ „     | braungelb    | braungelb               | gelb                    |

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Temperatur von  $25\frac{1}{2}^{\circ}$ , die dem Optimum für das Wachstum der Weizenkeimlinge ( $29^{\circ}$ ) ziemlich nahe liegt, unter den gewählten Graden am günstigsten für die Diastasebildung ist. Das deutet auf eine Regulation ihrer Entstehung hin, insofern als bei den vorteilhaftesten Bedingungen für die Entwicklung des Embryo auch die größte Diastasemenge entsteht und

dadurch das größere Bedürfnis der Keimteile nach plastischem Material (Zucker) befriedigt werden kann.

Dieses Resultat war übrigens keineswegs von vornherein vorauszusehen. Es lag offenbar die Möglichkeit vor, daß mit der Steigerung der Temperatur über das Optimum für das Wachstum hinaus eine Mehrproduktion von diastatischem Enzym stattfände. Denn diese Enzymbildung gehört ja in die Gruppe der Stoffwechselprozesse, und der Stoffwechsel, wenigstens gemessen an der Atmungsgröße, hat keineswegs ein Optimum, welches mit demjenigen des Wachstums zusammenfällt, sondern es liegt das Optimum für den Stoffwechsel erheblich höher. Clausen konstatierte z. B. sicher, daß das Optimum für die Atmung der Weizenkeimlinge bei  $40^{\circ}$  liegt. Man hätte somit auch von vornherein eine Steigerung der Diastasebildung bei steigender Temperatur bis  $40^{\circ}$  erwarten können.

Übrigens muß hier betont werden, daß bis zu einem gewissen Grade ein selbständiger Einfluß der Temperaturverhältnisse auf die Diastasebildung besteht. Und zwar geht dies aus folgenden Resultaten der Beobachtungen hervor: Die Diastasemengen der bei  $14\frac{1}{2}$  und  $32^{\circ}$  resp. 14 und  $33\frac{1}{2}^{\circ}$  gewachsenen Keimlinge waren kaum merkbar verschieden, obgleich doch die Wachstumsgeschwindigkeit der Keimlinge bei den verschiedenen Temperaturen erhebliche Unterschiede zeigte.

Würde die Diastasebildung rein regulatorisch stattfinden, so hätten die bei  $32^{\circ}$  bzw.  $33\frac{1}{2}^{\circ}$  gewachsenen Keimlinge mit 17 und  $18\frac{1}{2}$  mm langer Plumula erheblich mehr Diastase enthalten müssen als die bei 14 oder  $14\frac{1}{2}^{\circ}$  gewachsenen Keimlinge mit nur 5 und 4 mm langer Plumula. Die relativ hohen Temperaturen von  $32$  und  $33\frac{1}{2}^{\circ}$ , die höher liegen als das Optimum für das Wachstum, aber niedriger als das Optimum für den Stoffwechsel (Atmung), haben also auf jeden Fall schädigend auf die Entstehung der Diastase eingewirkt, und es besteht daher keine volle Proportionalität mehr zwischen der Größe des Wachstums der Keimteile und derjenigen der Fermentbildung.

Es ist angeführt worden, daß die Extrakte der bei verschiedenen Temperaturen gewonnenen Keimlinge etwas abweichende Säurereaktion aufwiesen. Dazu sei noch bemerkt, daß in einem zweiten Versuch durch Hinzufügen sehr kleiner Mengen verdünnter Zitronensäure eine gleichmäßige Säurereaktion der Extrakte hergestellt wurde. Darauf ergab die Jodprobe im Verlauf der Stärkeumwandlung die gleichen Ergebnisse wie zuvor. Dieser Kontrollversuch zeigt, daß die Unterschiede im Säuregehalt die Diastasewirkung auf den Stärkekleister nicht wesentlich beeinflussen haben.

#### IV. Abschnitt.

##### Der Einfluß des Sauerstoffs auf die Diastasebildung.

Über die Bedeutung des Sauerstoffs für die Bildung der Diastase bestehen entgegengesetzte Meinungen. Seit Hüfner (1872) die Vermutung ausgesprochen hat, daß die Enzyme hauptsächlich durch Oxydation aus den Eiweißkörpern entstünden, ist diese Ansicht oft vertreten und durch Experimente unterstützt worden, so durch Wortmann (1882), Detmer (1883), Lintner (1886), Vines (1890/91), am ausgelehntesten durch Grüß (1896).

Dagegen findet sich in der Arbeit von Godlewsky und Polzeniusz „Über die intramolekulare Atmung von in Wasser gebrachten Samen und über die dabei stattfindende Alkoholbildung“ (1901) (S. 252) folgende Stelle: „Aus der eben besprochenen Identität der intramolekularen Atmung der Erbsensamen mit der alkoholischen Gärung ist der interessante Schluß zu ziehen, daß die Enzyymbildung bei den höheren Pflanzen auch ohne Sauerstoffzutritt möglich ist.“

Um den bestehenden Widerspruch zu beseitigen, wiederholte ich die von Detmer im Jahre 1883 angestellten Versuche, auf die sich auch Grüß in den oben erwähnten „Beiträgen zur Physiologie der Keimung“ bezieht. Zu diesem Zweck wurden Samen, die in luftfreiem Wasser gequollen waren, zwei Tage in einer Wasserstoffatmosphäre gehalten und dann zugleich mit Keimlingen, die sich unter sonst gleichen Bedingungen in Luft entwickelt hatten, und mit ungequollenen Samen auf ihren Diastasegehalt geprüft.

Im speziellen war die Ausführung der Versuche die folgende: Zur Aufnahme der Samen, die zur Entfernung der anhaftenden Luft mehrmals mit ausgekochtem Wasser geschüttelt worden waren, dienten zwei retortenartige Glasgefäße von 90 ccm Inhalt, in deren erweiterten Teil die Untersuchungsobjekte gelangten. Die Retorten wurden völlig mit luftfreiem filtriertem Regenwasser angefüllt und so aufgestellt, daß die Öffnung der Retortenröhren unter Quecksilber tauchte. Die Untersuchungsobjekte blieben bei der Umstülpung der Retorten in deren erweitertem Teile liegen. Nachdem die Samen ungefähr 15 Stunden der Quellung überlassen worden waren, wurde das Wasser des einen Kolbens durch Wasserstoffgas, das des andern durch Luft verdrängt, bis auf einen kleinen über dem Quecksilber stehenden Rest, um schädigende Wirkungen von Quecksilberdämpfen auf die Keimlinge auszuschließen.

Die Darstellung des Wasserstoffs erfolgte im Kippschen Apparat aus verdünnter Schwefelsäure (zwei Teile Schwefelsäure : 1 Teil Wasser) und Stangenzink von Kahlbaum, das die Bezeichnung „Zn I für forensische Zwecke“ führt, also vor allem arsenfrei ist. Zur Reinigung des Wasserstoffs dienten zwei Waschflaschen, von denen die erste eine Kaliumpermanganatlösung, die zweite eine Lösung von Pyrogallussäure in  $33\frac{1}{3}$  prozentiger Kalilauge enthielt. Beide Waschflaschen wurden nach höchstens zweimaliger Benutzung gereinigt und frisch gefüllt. Den Wasserstoff leitete ich stets erst in die Retorten ein, wenn der Kippsche Apparat mindestens  $\frac{3}{4}$  Stunden in Tätigkeit gewesen war, damit das Gas sicher keinen Sauerstoff mehr enthielt.

Nach dem Einleiten von Wasserstoff respektive Luft blieben die Retorten unter Blechzylindern im warmen Zimmer zwei Tage lang stehen, und dann erfolgte die Untersuchung. Von den Samen im Luft-raum hatte stets der größere Teil gekeimt, während im Wasserstoff die Samen natürlich nicht keimen. Es trat aber normale Keimung ein, wenn einige Samen aus der Wasserstoffatmosphäre auf feuchtes Filtrierpapier gelegt wurden, wie dies nach jedem Versuche geschah, um sicher zu sein, daß die Samen durch den Sauerstoffmangel nicht Schaden gelitten hatten.

Als Versuchsobjekte dienten zuerst Weizenkörner. Es wurden 20 ungequollene Körner, 20 aus der Wasserstoffatmosphäre und 20 Keimlinge mit bis 5 mm langer Plumula im Mörser mit je 20 ccm destilliertem Wasser kräftig zerquetscht. Die Körner zuerst zu trocknen ging nicht an, da sich dabei noch Diastase hätte bilden können. Nach zweistündiger Extraktion unter öfterem Umschütteln erfolgte die Filtration der Flüssigkeiten. Die Reaktion der Filtrate auf blaues Lackmuspapier erwies sich als eine schwach saure. Manchmal waren geringe Abstufungen zu bemerken, in der Weise, daß das Filtrat der ungequollenen Körner die schwächste, das der Keimlinge die stärkste Rötung zeigte.

Einige Kubikzentimeter der Filtrate wurden nun mit der gleichen oder der halben Menge eines einprozentigen Stärkekleisters und mit ein paar Tropfen Toluol vermischt und in gewissen Zeiträumen auf ihr Verhalten gegen Jodlösung geprüft. Dabei ergab sich bei drei von fünf Versuchen, daß die Körner, die in Wasserstoff verweilt hatten, genau so viel Diastase enthielten wie die ungequollenen Körner, während die von Luft umgebenen Körner: Keimlinge! eine bedeutende Zunahme an Diastase zeigten.

In zwei Fällen enthielten allerdings die mit Wasserstoff behandelten Körner etwas mehr Diastase als die ungequollenen. Da der Unterschied in der Jodreaktion aber erst am 2. bzw. 3. Tage auftrat, so lag die Vermutung nahe, daß die Diastasebildung von Bakterien verursacht sein könnte. Es wurden daher bei den nächsten Versuchen die Körner vor dem Einquellen 1 bis 2 Minuten lang in einer Lösung mit 1‰ Sublimatgehalt geschwenkt und damit auch die Retorten ausgespült. Darauf zeigte sich kein Unterschied mehr im Diastasegehalt der ungequollenen Körner und derjenigen aus Wasserstoffatmosphäre. Die Unschädlichkeit des Sterilisierungsverfahrens ergibt sich daraus, daß die mit Luft sowie die mit Wasserstoff behandelten Körner, die später auf Filtrierpapier gelegt wurden, völlig normal keimten.

Für eine der Beobachtungsreihen sei der Gang der Reaktion speziell angegeben:

|               | Ungequollene Körner | Wasserstoff-Körner | Keimlinge |
|---------------|---------------------|--------------------|-----------|
| nach 1 Stunde | violett             | violett            | braunrot  |
| „ 18 Stunden  | violett             | violett            | gelb      |
| „ 82 „        | braunrot            | braunrot           | gelb      |

Es ergibt sich also, daß die lufttrocknen Weizenkörner sehr wenig Diastase enthalten. Bei der Keimung in Luft wird viel Diastase produziert, während keine Diastasebildung eintritt, wenn die Untersuchungsobjekte in einer Wasserstoffatmosphäre verweilen. Dieses Resultat deckt sich völlig mit dem von Detmer 1883 erhaltenen.

Was die Deutung der tatsächlichen Beobachtungsergebnisse anbelangt, so kann sie eine verschiedene sein. Es ist möglich, daß die Enzyymbildung nur deshalb an die Sauerstoffgegenwart gekettet ist, weil die Diastase allein durch Oxydation anderer Körper entstehen kann. Ferner wäre denkbar, daß der Sauerstoff für die Diastasebildung nur formale Bedeutung besitzt. Am meisten Wahrscheinlichkeit hat aber wohl die Auffassung, nach welcher die Sauerstoffgegenwart zunächst das Wachstum anregt, während dieses dann die Diastaseproduktion regulatorisch auslöst. Es ist natürlich für diesen Fall nicht ausgeschlossen, daß das Enzym als Oxydationsprodukt anderer Körper entsteht.

Übrigens sei hier noch bemerkt, daß die gewonnenen Erfahrungen natürlich zunächst nur für Weizenkeimlinge gelten. Es kann kaum bezweifelt werden, daß sie ebenfalls für die meisten andern Gewächse Gültigkeit haben, aber sie dürfen selbstverständlich nicht auf die Enzyymbildung bei anaeroben Organismen übertragen werden.

Hier ist nun der Ort, auf die zu Anfang dieses Abschnittes erwähnte Angabe von Godlewsky und Polzeniusz zurückzukommen,

nach welcher Erbsensamen auch bei Sauerstoffabschluß Diastase bilden sollen. Diese Forscher haben ihre Meinung freilich nicht durch Experimente begründet, glauben sie aber durch den Hinweis auf die wochenlang andauernde intramolekulare Atmung ihrer Untersuchungsobjekte stützen zu müssen. Sie meinen (S. 251): „Entweder gab es von Haus aus in den gereiften ruhenden Erbsensamen soviel Diastase, daß dieselbe mehr als die Hälfte ihrer Reservestärke zu verzuckern imstande war, oder diese Diastase hat sich erst während des Versuches, also ohne Sauerstoffzutritt, gebildet. Da die erste dieser Voraussetzungen kaum möglich zu sein scheint, so muß die zweite angenommen werden. Man muß danach annehmen, daß die Diastase auch bei vollkommenem Luftabschluß in den Pflanzen sich bilden und ihre Wirkung auf die Stärke ausüben kann.“

Nach meinen Erfahrungen bei *Triticum* dürfte eine solche Schlußfolgerung kaum zulässig sein, und in der Tat enthalten ruhende Erbsensamen, wie Versuche lehrten, eine nicht unerhebliche Menge des Enzyms, sodaß mit Stärkelösung gemischte Extrakte der Samen bereits nach 2 $\frac{1}{2}$  Stunden eine schwache und nach längerer Zeit eine viel lebhaftere Wirkung geltend gemacht hatten. Es ist daher wahrscheinlich, daß die in den ruhenden Erbsensamen vorhandene Diastasemenge genügt, um die Hydrolyse des Amylums in den Untersuchungsobjekten zur Unterhaltung der intramolekularen Atmung zu ermöglichen.

Es wurden auch Versuche mit Erbsen angestellt, die im gequollenen Zustande im Wasserstoff verweilt hatten. Leider ließ sich aber der Diastasegehalt dieser Untersuchungsobjekte nicht genau feststellen, da sich die Jodreaktion in diesem speziellen Falle aus nicht näher ermittelten Gründen als unbrauchbar erwies.

Im Anschluß an die vorstehenden Versuche über den Einfluß der Sauerstoffentziehung auf die Enzymbildung sind noch Beobachtungen angestellt worden, welche die Frage behandeln, in welcher Weise reiner Sauerstoff auf jenen Prozeß einwirkt.

Auch hier gelangten Weizenkörner wieder in einem retortenartigen Gefäß zur Quellung in Berührung mit Wasser. Nach ca. 16 Stunden wurde das Wasser durch Sauerstoff verdrängt, der mittelst Kalilauge und Schwefelsäure sorgfältig gereinigt war. Die Kontrollkultur in Luft wurde auf Filtrierpapier in einer Glasschale angesetzt. Es zeigte sich, daß die Plumulae bei beiden Kulturen ungefähr gleich lang, die Würzelchen dagegen bei den Sauerstoff-Kulturen im Durchschnitt länger waren als bei den Luftkulturen.

Das Ergebnis der Untersuchung war, daß sich wenigstens dann kein Unterschied in der Diastaseproduktion nachweisen ließ, wenn Keimlinge, die sich in freier Luft entwickelt hatten, mit solchen verglichen wurden, welche in einer genügend großen Retorte in reinem Sauerstoff zur Ausbildung gelangt waren<sup>1)</sup>.

## V. Abschnitt.

### Die Wirkung des Äthers auf die Diastasebildung.

Für die Frage nach dem Zusammenhang zwischen Wachstum und Diastasebildung war es von Interesse, Beobachtungen über die Wirkungsweise von Äther auf Keimpflanzen anzustellen, da mit Hilfe von Ätherdampf das Wachstum willkürlich beeinflußt werden kann. Zu dem Zweck gelangten Weizenkörner in eine Glasschale zwischen mehrere Lagen feuchten Filtrierpapiers. Diese stand in einem luftdicht schließenden Glaszylinder von  $3\frac{1}{2}$  l Inhalt. An seinem Deckel hing ein kleines offenes Glasgefäß zur Aufnahme des Äthers, sodaß dieser sich bei seiner Verdunstung in der Luft des Apparates verbreiten konnte. Für die Kontrollkulturen wurde eine freistehende Glasschale benutzt, die mit einer Glasplatte bedeckt war. Die Gefäße standen unter Blechzylindern im warmen Zimmer 5 Tage lang.

Ich führte Versuche aus mit 2, 1 und  $\frac{1}{2}$  ccm Äther. Im ersten Fall begannen nach 5 Tagen die Plumulae der Keimlinge eben durchzubrechen, während sie in den beiden andern Fällen bis 4, resp. bis 20 mm lang waren. Die Kontrollpflänzchen besaßen durchschnittlich 35 mm lange Plumulae. Die ätherisierten Keimlinge hatten ein bleicheres Aussehen und kürzere Wurzeln als die normalen.

Je 20 Keimlinge wurden getrocknet und gepulvert, mit je 20 ccm Wasser extrahiert und abfiltriert. Die Reaktion auf Lackmuspapier war bei den Extrakten der in reiner Luft und der mit  $\frac{1}{2}$  ccm Äther gewachsenen Pflänzchen stärker sauer als bei den beiden andern Extrakten. Alle erhielten die 4fache Menge an 1 prozent. Stärkekleister zugesetzt. Die Umwandlung nahm folgenden Verlauf:

|                          | 2 ccm Äther | 1 ccm Äther | $\frac{1}{2}$ ccm Äther | Luft      |
|--------------------------|-------------|-------------|-------------------------|-----------|
| nach 5 Minuten           | blau        | blau        | violett                 | rotbraun  |
| „ 10 „                   | blau        | blau        | rot                     | hellbraun |
| „ 25 „                   | blau        | violett     | braun                   | gelb      |
| „ 45 „                   | violett     | rot         | braungelb               | —         |
| „ $2\frac{1}{4}$ Stunden | violett     | braun       | gelb                    | —         |
| „ 19 „                   | rotbraun    | gelb        | —                       | —         |
| „ 68 „                   | braun       | —           | —                       | —         |

1) Die Versuche mit reinem Sauerstoff konnte ich mit der freundlichen Erlaubnis von Herrn Professor Dr. Wolff im chemischen Institute der Universität Jena ausführen. Ich spreche dafür meinen herzlichsten Dank aus.

Diese Versuche bestätigen die bekannte schädigende Wirkung größerer Äthermengen auf das Wachstum. Sie lehren ferner, daß entsprechend einer solchen Wachstumsbeschränkung auch die Diastaseproduktion vermindert wird. Es darf aus der Koinzidenz der hier in Frage kommenden Prozesse wieder auf eine regulatorische Beeinflussung der Enzyymbildung durch das Wachstum geschlossen werden. Denn nach den vorliegenden Erfahrungen wird der Stoffwechsel durch Äthermengen, wie sie bei diesen Versuchen zur Verwendung kamen, nicht gelähmt, sondern sogar in höchst eigenartiger Weise beschleunigt. Freilich sind die bezüglichen Erfahrungen nicht an Weizenkeimlingen sondern an andern Pflanzen gewonnen worden, indessen sie dürfen hier doch wohl aus naheliegenden Gründen herangezogen werden. Johannsen (1900) hat durch sehr interessante Untersuchungen festgestellt, daß durch genau ebenso große Äthermengen, wie sie in unsern Versuchen zur Anwendung gekommen sind, Zweige von Holzgewächsen sowie Zwiebeln zum abnorm schnellen Treiben gebracht werden können, wenn diese Objekte zunächst in einer ätherhaltigen Atmosphäre verweilen und nachträglich unter gewöhnlichen Bedingungen gehalten werden.

Höchst wahrscheinlich wird also das Ätherisieren an sich die Diastaseproduktion nicht beeinflussen, sondern nur durch Beschränkung des Wachstums indirekt auf den Verlauf der Enzyymbildung regulatorisch einwirken.

## VI. Abschnitt.

### Die Wirkung von Säure auf die Diastase.

In Abschnitt I ist darauf hingewiesen worden, daß bei Versuchen mit diastasehaltigen Pflanzenextrakten stets besondere Rücksicht auf die Reaktion der Flüssigkeiten genommen werden muß. Liegen doch viele Erfahrungen darüber vor, daß sehr kleine Mengen freier Säure die Wirkung der Diastase erheblich beschleunigen können, während größere Säuremengen die Stärkeumwandlung durch Diastase verlangsamen. Mit Rücksicht auf diese Verhältnisse war es wichtig für mich, selbst Beobachtungen über die Säurewirkung auf das Enzym anzustellen, und zwar nicht nur auf die Sekretions- sondern auch auf die Translokationsdiastase, welche letztere nach der bezeichneten Richtung hin überhaupt noch nicht untersucht worden ist.

Ich arbeitete stets mit Zitronensäure, da unter den Bedingungen meiner Versuche nur der Einfluß organischer Säuren eine Rolle spielen konnte. Von der kristallisierten Zitronensäure wurde jedesmal eine



1 % Lösung frisch bereitet, die durch Verdünnen mit Wasser die gewünschten Konzentrationen lieferte.

Um dem Einwand, daß die Säure direkt hydrolysierend auf die Stärke wirke, von vornherein zu begegnen, sei angeführt, daß ein Kontrollversuch über den Einfluß der Säure auf Stärkekleister angestellt wurde, der ergab, daß unter den gewöhnlichen Versuchsbedingungen keine Veränderung des Stärkekleisters erfolgt.

Die Experimente mit Gerstenmalzdiastase ergaben eine Bestätigung der Angaben von Kjeldahl, Detmer, Baranetzky, Wortmann, Flügge und anderen. Es zeigte sich mit steigender Säuremenge eine zunehmende Beschleunigung der Stärkeumbildung durch das Ferment bis zu einem Höhepunkt, dann eine allmähliche Abnahme der gesteigerten Wirkungskraft bis zu einer Verzögerung, und schließlich natürlich einer Hemmung des diastatischen Prozesses.

Ein entsprechendes Resultat lieferten gekeimte, frisch zerriebene Weizenkörner, die ja auch Sekretionsdiastase enthalten. Bereits Reyhler (1889) gibt eine Beschleunigung der Wirkung von Weizen-diastase durch Säure an.

Ein ganz anderes Ergebnis wurde erhalten bei der Untersuchung von Translokationsdiastase, nämlich gar keine Beeinflussung durch kleine Säuremengen und Schädigung bei höheren Konzentrationen. Ich habe viele Versuche mit Blättern von *Pisum sativum*, *Trifolium pratense*, *Medicago sativa*, mit verschiedenen Konzentrationen der Blatt-extrakte sowohl wie der Säure angestellt und stets dasselbe Resultat erhalten.

Zur Veranschaulichung seien hier zwei Versuchsreihen mit Gerstenmalz- und Erbsenblätter-Diastase gegenübergestellt, bei denen das Verhältnis zwischen Extrakt und Stärkekleister so gewählt worden war, daß die Reaktion der beiden Diastasen ungefähr mit gleicher Geschwindigkeit verlief. Es wurden fünf Portionen (I—V) von je 20 ccm Stärkekleister hergestellt. I erhielt einen Zusatz von 6 ccm Wasser. II 6 ccm Wasser +  $\frac{5}{16}$  mg Zitronensäure. III 6 ccm Wasser +  $1\frac{1}{4}$  mg Zitronensäure. IV 6 ccm Wasser + 20 mg Zitronensäure. V 6 ccm Wasser + 60 mg Zitronensäure. Jede Portion bekam 4 ccm Malzextrakt zugesetzt. Dieser war bereitet aus 25 g Gerstenmalz-pulver, das zwei Stunden lang durch 100 ccm Wasser extrahiert und nach der Filtration aufs dreifache mit Wasser verdünnt worden war.

Ferner wurden fünf Portionen von je 6 ccm Stärkekleister mit jedesmal 6 ccm Wasser gemischt, das dieselben Säuremengen enthielt, wie sie oben von I—V angegeben sind. Zu jeder Portion kam ein Zusatz von 18 ccm Erbsenblätterextrakt, gewonnen durch zweistündige Extraktion von 4 g Blattpulver mit 100 ccm Wasser.

Die Reaktionen nahmen folgenden Verlauf:

|                           | Malz            |                         |                     |              |                 |
|---------------------------|-----------------|-------------------------|---------------------|--------------|-----------------|
|                           | I               | II                      | III                 | IV           | V               |
| nach 5 Minuten            | blau<br>violett | blau<br>rötlich violett | violett<br>braunrot | blau<br>blau | blau<br>blau    |
| „ 10 „                    | rötlich violett | rotviolett              | braun               | blau         | blau            |
| „ 15 „                    | rotviolett      | rot                     | gelb                | violett      | blau            |
| „ 30 „                    | rot             | braunrot                | —                   | violett      | schwach violett |
| „ 45 „                    | hellbraun       | gelb                    | —                   | rotviolett   | violett         |
| „ 3 $\frac{1}{2}$ Stunden | gelb            | —                       | —                   | rot          | violett         |

|                           | Erbsen                  |                         |                         |                         |                         |
|---------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                           | I                       | II                      | III                     | IV                      | V                       |
| nach 5 Minuten            | sehr schwach<br>violett | sehr schwach<br>violett | sehr schwach<br>violett | sehr schwach<br>violett | blau                    |
| „ 20 „                    | violett                 | violett                 | violett                 | violett                 | sehr schwach<br>violett |
| „ 30 „                    | rot                     | rot                     | rot                     | rotviolett              | schwach violett         |
| „ 40 „                    | rotbraun                | rotbraun                | rotbraun                | rotbraun                | violett                 |
| „ 70 „                    | braun                   | braun                   | braun                   | braun                   | rotviolett              |
| „ 3 $\frac{1}{2}$ Stunden | gelb                    | gelb                    | gelb                    | gelb                    | rot                     |

Dieses Resultat gestattet wohl die Annahme einer Verschiedenartigkeit im Verhalten von Sekretions- und Translokationsdiastase gegenüber Zitronensäure. Die Sekretionsdiastase reagiert sehr empfindlich auf kleinere Säuremengen, während sich die Translokationsdiastase sehr unempfindlich zeigt; sie wird durch kleinere Säuremengen überhaupt nicht beeinflußt.

Die Wirkung von Säure auf diastasehaltige Pflanzenextrakte macht sich auch geltend, wenn Bakterien in der Flüssigkeit enthalten sind. Folgender Versuch beweist dies: Ich ließ zwei Portionen Malzextrakt über Nacht stehen, von denen die eine etwas Toluol zum Ausschluß von Bakterien zugesetzt erhalten hatte. Am Morgen erwies sich der Auszug mit Toluol noch als schwach sauer, während der andere stärker sauer reagierte. Zugefügter Stärkekleister erfuhr eine Umwandlung in folgenden Zeiträumen:

|                 | Mit Toluol   | Ohne Toluol  |
|-----------------|--------------|--------------|
| nach 10 Minuten | rot          | bräunlichrot |
| „ 20 „          | bräunlichrot | braun        |
| „ 40 „          | braun        | gelb         |

Neun Stunden später war die saure Reaktion des Extraktes ohne Toluol noch intensiver. Die Einwirkung auf Stärkekleister verhielt sich nun folgendermaßen:

|                          | Mit Toluol | Ohne Toluol     |
|--------------------------|------------|-----------------|
| nach 9 Minuten           | rot        | blau            |
| „ 20 „                   | braunrot   | schwach violett |
| „ 1 $\frac{1}{4}$ Stunde | gelb       | rotviolett      |

Wir finden hiernach dieselbe Erscheinung wie beim Zusatz freier Säure durch die von Bakterien produzierte Säure hervorgerufen: nämlich eine Förderung der Wirkung von Malzdiastase bei geringer Säureproduktion, eine Hemmung bei der Anwesenheit größerer von den Spaltpilzen erzeugter Säuremengen.

Diese letztere Erfahrung lehrt auch, daß die in dem angegebenen Versuch zuerst beobachtete Beschleunigung des diastatischen Prozesses mindestens nicht allein durch Diastaseproduktion seitens der Spaltpilze hervorgerufen worden sein kann.

## VII. Abschnitt.

### Die Diastase der Laubblätter.

In den bisherigen Abschnitten sind die Entstehungsbedingungen der Diastase nur in bezug auf Sekretionsdiastase behandelt worden. Wir wenden uns nunmehr der Translokationsdiastase zu, die bekanntlich besonders in Laubblättern angetroffen wird.

#### a) Stärke- und Zuckerblätter.

Es ist bekannt, daß sehr viele Pflanzen ihre Assimilate hauptsächlich als Stärke in den grünen Blättern speichern. Manche Pflanzen sind dazu nicht befähigt; sie häufen vielmehr ihre Assimilate unter gewöhnlichen Umständen fast nur oder ausschließlich in Gestalt von Zuckerarten in ihren Assimilationsorganen an.

Es war nun von Interesse zu erfahren, ob die Diastaseproduktion in bestimmter Beziehung zum Stärkereichtum der Blätter steht. Zur Untersuchung dieser Frage wurden verschiedene Versuchsreihen angestellt, und zwar in der Weise, daß bei jedem Experiment einer stärkereichen Pflanze eine solche mit Zuckerblättern gegenüberstand. In einem Fall kamen drei Pflanzen zur vergleichenden Beobachtung, die eine Abstufung im Stärkegehalt aufwiesen.

Die Blätter einer Versuchsreihe wurden gleichzeitig an einem sonnigen Nachmittage gepflückt, gereinigt, von den stärkeren Rippen befreit und getrocknet (40—50 ° C). Die Untersuchung geschah nach der üblichen Methode, indem 1 g des Blattpulvers mit 25 ccm Wasser extrahiert wurde und je 10 ccm des daraus erhaltenen Filtrates 4 ccm 1%igen Stärkekleisters zugesetzt erhielten. Die Schnelligkeit der Umwandlung des Amylums, für welche die Jodprobe das Reagens bildete, diente dann als Maß für die Diastasenmenge. In bezug auf die angewendeten Vorsichtsmaßregeln vergl. den I. Abschnitt. Es mögen nun die Tabellen folgen:

1. *Medicago sativa* mit ziemlich viel Stärke.

Canna ohne Stärke

|                           | Medicago     | Canna        |
|---------------------------|--------------|--------------|
| sofort                    | blau         | blau         |
| nach $\frac{1}{4}$ Stunde | violett      | blau         |
| „ 3 Stunden               | braunviolett | blau         |
| „ $16\frac{1}{2}$ „       | —            | violett      |
| „ 3 Tagen                 | —            | braunviolett |

2. *Tamus communis* mit wenig Stärke.

Iris germanica ohne Stärke

|                     | Tamus        | Iris         |
|---------------------|--------------|--------------|
| sofort              | blau         | blau         |
| nach 2 Stunden      | violett      | blau         |
| „ $15\frac{1}{2}$ „ | rötlichbraun | violett      |
| „ $18\frac{1}{2}$ „ | rötlichbraun | rötlichbraun |

3. *Pisum sativum* mit sehr viel Stärke.

Mercurialis perennis mit ziemlich viel Stärke.

Arum maculatum ohne Stärke.

|              | Pisum        | Mercurialis  | Arum         |
|--------------|--------------|--------------|--------------|
| sofort       | blau         | blau         | blau         |
| nach 80 Min. | braunviolett | blau         | blau         |
| „ 110 „      | braun        | violett      | blau         |
| „ 5 Stund.   | gelb         | braunviolett | blau         |
| „ 6 „        | —            | braun        | blau         |
| „ 20 „       | —            | gelbbraun    | violett      |
| „ 46 „       | —            | —            | braunviolett |

Diese drei Tabellen sprechen für eine regulatorische Diastasebildung in der Weise, daß der Diastasegehalt der Pflanzen abhängig ist von der Leichtigkeit, mit der die betreffenden Organismen Stärke bilden. Dieses Resultat steht im Einklang mit den Ergebnissen, die Brown und Morris 1893 in der Arbeit „The chemistry and physiology of foliage leaves“ (S. 641) veröffentlicht haben, welche ich kennen lernte, als meine Untersuchungen schon abgeschlossen waren. Die genannten Beobachter finden den höchsten Diastasegehalt in den stärkereichen Papilionaceen, den geringsten in den Liliaceen, die unter gewöhnlichen Umständen sehr schwierig Stärke bilden.

Nun ist aber zu bemerken, daß es Ausnahmen von dieser Regel gibt. So fand ich, wie die folgende Tabelle zeigt, bei *Zea mays* (ziemlich stärkereich) nicht mehr Diastase als bei *Avena sativa*, welche Pflanze in ihren Blättern kein Amylum führte.

|                | Zea       | Avena     |
|----------------|-----------|-----------|
| sofort         | blau      | blau      |
| nach 2 Stunden | violett   | violett   |
| „ 6 „          | braungelb | braungelb |

Dieses Ergebnis weist darauf hin, daß die Koinzidenz zwischen Stärke- und Diastasereichtum keine absolute ist. Es ließe sich die Hypothese aufstellen, nach welcher bei manchen Pflanzen mit Zuckerblättern, die also gar keine oder wenig Stärke in ihren Assimilationsorganen zu speichern vermögen, reichlichere Diastaseproduktion als Ausdruck erblich erworbener Eigenschaften der betreffenden Gewächse betrachtet werden könnte, so daß dadurch die Macht regulatorisch wirkender Prozesse in den Hintergrund gedrängt würde.

#### b) Licht- und Schattenblätter.

Es wäre von großem Interesse, durch ganz direkte Beobachtung den regulatorischen Einfluß der Stärkebildung in den Blättern auf die Diastaseproduktion dieser Organe nachzuweisen. Man könnte z. B. daran denken, vergleichende Versuche an Pflanzen anzustellen, die sich bei Lichtzutritt in kohlenstoffhaltiger und kohlenstofffreier Luft entwickelt haben. Solchen Experimenten gegenüber muß aber das Bedenken geltend gemacht werden, daß in der kohlenstofffreien Atmosphäre, weil die Assimilation ausgeschlossen ist, zugleich auch die Eiweißbildung beschränkt werden muß. Da nun die Eiweißstoffe höchst wahrscheinlich das Material zur Bildung der Fermente liefern, so könnte bei verminderter Diastaseproduktion in kohlenstofffreier Atmosphäre nicht mit Sicherheit auf die Wirksamkeit regulatorischer Prozesse geschlossen werden. Das erzielte Resultat wäre auf jeden Fall mehrdeutig. Es könnte durch mangelnde Stärkeanhäufung, ebensogut aber auch durch geringeren Eiweißgehalt der Blätter herbeigeführt worden sein.

Dagegen scheinen mir andere Beobachtungen einwandfrei zu sein, wenn es sich darum handelt, die regulatorische Wirkung der Stärkebildung auf die Diastase zu beobachten. Ich sammelte von einem großen Exemplare von *Sambucus nigra* am Nachmittag einmal Blätter, die dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt waren und, wie die Jodprobe ergab, viel Stärke enthielten, andererseits Blätter von demselben *Sambucus*-Individuum, die im tiefen Schatten zur Entwicklung gekommen und stärkefrei waren. Diesen letzteren Organen mußte das erforderliche plastische Material in erster Linie von den gut beleuchteten Teilen der Pflanze zugeleitet worden sein, so daß sie sich infolgedessen normal entwickeln konnten. Die Beobachtungen über den Diastasegehalt der Blätter lieferten die folgenden Resultate:

|                | Licht      | Schatten |
|----------------|------------|----------|
| sofort         | blau       | blau     |
| nach 2 Stunden | rotviolett | blau     |
| „ 18 „         | gelb       | rot      |
| „ 38 „         | —          | braun    |

Ein zweiter Versuch zeigte genaue Übereinstimmung mit diesem Ergebnis, und wir dürfen also den Schluß ziehen, daß die Fermentbildung in der Tat durch die Stärkeproduktion regulatorisch beeinflußt wird.

c) Weitere Beobachtungen über den Einfluß der Beleuchtungsverhältnisse auf die Diastasebildung.

In der Literatur liegen viele Angaben über den Einfluß der Beleuchtungsverhältnisse auf Diastaselösungen, also auf das aus der Pflanze isolierte Enzym, vor. In der Arbeit von Schmidt-Nielsen 1904 findet sich eine historische Übersicht dieser Experimente (S. 355). Bei den früheren Versuchen wurden die Diastaselösungen in Glasgefäßen dem Lichteinfluß ausgesetzt; die Ergebnisse können nicht als exakt betrachtet werden, nachdem Green 1894 darauf aufmerksam gemacht hat, daß Glas die ultravioletten Strahlen des Spektrums absorbiert, und daß gerade diese es sind, die einen zerstörenden Einfluß auf die Diastase ausüben. Green sagt in der Zusammenfassung seiner Resultate (S. 373): „Light, whether solar or electric, exercises a destructive effect upon diastase. The deleterious influence is confined to the rays of the violet end of the spectrum, the others being slightly favourable instead of destructive.“ Diese Resultate wurden bestätigt durch Schmidt-Nielsen 1904, der mit noch exakteren Methoden arbeitete als Green, und der ebenfalls fand, daß die zerstörende Wirkung der ultravioletten Strahlen die fördernde des übrigen Teiles des Spektrums übertrifft, so daß der Einfluß des Sonnenlichtes auf isolierte Diastase als ein schädigender bezeichnet werden muß. Ähnliches fand Hertel 1904.

Nach diesen Beobachtungen drängt sich die Frage auf, wie sich die Diastase in der Pflanze der Lichtwirkung gegenüber verhält. In diesem Sinne sind sehr genaue Experimente durch Brown und Morris angestellt worden. Die englischen Forscher prüften Laubblätter zu verschiedenen Tages- und Nachtzeiten auf ihren Diastasegehalt und kamen zu dem Ergebnis, daß der Diastasegehalt im umgekehrten Verhältnis zum Grade der vorausgegangenen Beleuchtung steht. Als Beispiel mögen folgende Angaben von Brown und Morris dienen (1893, S. 646): Blätter von *Tropaeolum majus* wiesen von 3 Uhr nachmittags bis 11 Uhr abends eine Vermehrung an Diastase von 70,3 Proz. auf. Nach 18stündiger Verdunkelung hatten *Tropaeolum*blätter um 118,5 Proz. an Diastase zugenommen. Blätter von *Hydrocharis morsus ranae*, die nach voller Besonnung verdunkelt wurden, zeigten nach 47 Stunden eine Zunahme von 78,2 Proz., nach 96 Stunden eine solche von 153,1 Proz. Diastase.

Brown und Morris verwerten ihre Erfahrungen zu folgender Hypothese (S. 649): „As long as the conditions are favourable for assimilation, the leaf-cells are supplied with an abundance of newly assimilated materials, and so plentifully that the supply exceeds their powers of metabolism and translocation. The excess of nutritive material is in part at least deposited as starch. At this period there is little or no elaboration of diastase by the protoplasm, probably none at all in those cells in which starch deposition is in active progress. When the light fails and assimilation falls off, the living cells speedily use up or translocate the excess of the soluble assimilative products, e. g., cane-sugar, and begin to draw their supplies from the reserve of starch. To enable them to do this effectually, the somewhat starved protoplasm now commences to elaborate the needed diastase more rapidly, and this secretion becomes still more marked as the starvation point of the cell is neared.“

Diese Hypothese hat viel Wahrscheinliches für sich, sie enthält aber in einem Punkt eine Unsicherheit. Wenn nämlich die Diastase während jeder Periode der Dunkelheit, also über Nacht, zunimmt, so muß sie während der darauf folgenden Periode der Beleuchtung wieder abnehmen, wenn anders man sich nicht vorstellen soll, daß die Menge der Diastase in beständiger Vermehrung begriffen ist. Ein Nachweis hierüber wäre leicht anzustellen gewesen, wenn man die Bestimmung des Diastasegehaltes über mehrere Tage fortgesetzt hätte. Leider fehlen Angaben über derartige Versuche bei Brown und Morris, es geht aber aus ihren Worten hervor, daß sie sich eine beständige Zerstörung des Enzyms durch seine Wirksamkeit und damit eine auf die Zunahme folgende Abnahme denken. Wie man sich diese von Brown und Morris angenommenen Prozesse der Zerstörung der Diastase im Näheren zu denken hat, ist mir nach ihren Ausführungen nicht recht verständlich. Dagegen gewinnt man einen guten Einblick mit Rücksicht auf das Verhalten der Diastase in der Pflanze, wenn man mit Green eine Zerstörung des Enzyms durch das Licht annimmt. Danach würde mit dem Wechsel der Beleuchtung ein Wechsel des Diastasegehaltes in der Pflanze Hand in Hand gehen. Der „Hungerreiz“ ruft in der Nacht eine gesteigerte Diastaseproduktion hervor; am Tage wird die Diastasemenge in der Pflanze durch den zerstörenden Lichteinfluß wieder vermindert (Green). Auch diese Betrachtungsweise birgt freilich noch mancherlei Schwierigkeiten, denn aus unsern Versuchen geht z. B. hervor, daß die Stärkebildung, welche bei der Assimilation doch an das Licht gekettet ist, die Diastaseproduktion regulatorisch befördert, woraus folgt, daß die tatsächlich in den Blättern zu kon-

statierende Fermentmenge mindestens die Resultierende aus dem Zusammenwirken verschieden gerichteter Prozesse ist.

Nun habe ich, bereits ehe mir die Arbeiten von Brown und Morris und von Green bekannt waren, Versuche in demselben Sinne angestellt und bin zu anderen Ergebnissen gekommen als die genannten Forscher. Nachdem ich die bezeichneten Schriften kennen gelernt hatte, wiederholte ich die Experimente genau nach den Angaben von Brown und Morris mit allen Vorsichtsmaßregeln, abgesehen davon, daß ich statt der quantitativen Bestimmung die Jodmethode benutzte. Die letztere hat sich in allen bisherigen Versuchen als so scharf gezeigt, daß an ihrer Zuverlässigkeit nicht gezweifelt werden kann.

Ich arbeitete zunächst mit Erbsenblättern, die ich am Morgen und Abend, öfters mehrere Tage hintereinander, auf ihren Diastasegehalt untersuchte. Dabei fand ich stets am Abend großen Stärkereichtum, am Morgen wenig oder keine Stärke in den Blättern, die Diastasemengen aber waren entweder ganz gleich, oder sie wiesen so geringe Differenzen, bald im einen, bald im entgegengesetzten Sinne, auf, daß gar kein Wert auf diese Unterschiede gelegt werden konnte.

Als ich sah, daß Brown und Morris *Tropaeolum* zu ihren Versuchen verwendet hatten, glaubte ich zunächst, der Unterschied in den Resultaten sei vielleicht in einer Verschiedenheit zwischen diastasereichen und diastasearmen Pflanzen begründet, indem die Erbsenblätter stets genug Diastase besäßen, um ihren Stärkevorrat zu lösen, während bei *Tropaeolum* der am Tage vorhandene Diastasevorrat nicht ausreichte und deshalb während der Nacht vergrößert werden müßte. Doch ergaben die alsbald mit *Tropaeolum majus* angestellten Versuche dasselbe negative Resultat wie die Erbsen, nämlich gar keinen Unterschied im Diastasegehalt am Nachmittag und Morgen, sowie am Mittag und Abend. Indessen möchte ich auf diese Versuche mit *Tropaeolum* kein besonderes Gewicht legen, da sie nicht häufig genug wiederholt wurden und bei ihrer Ausführung vielleicht gewisse Fehlerquellen das Ergebnis ungünstig beeinflußt haben.

Ein anderes Resultat lieferten zunächst Versuche mit mehrtägiger Verdunkelung. Von den gleichen Gewichtsmengen beleuchteter und verdunkelter Erbsenblätter zeigten letztere eine deutliche Zunahme an Diastase. Jedoch die Überlegung, daß die Blätter während der Verdunkelung sehr viel Substanz veratmet haben mußten ohne sie ersetzen zu können und daß also auf gleiche Gewichtsmengen eine größere Anzahl der verdunkelten als der beleuchteten Blätter benutzt worden war, ließ die Verschiedenheit der Diastasemengen verständlich erscheinen. Ich stellte darauf einen Versuch in folgender Weise an: Von einem



Topf mit Erbsenpflanzen wurden Blätter abgeschnitten, aber jedesmal nur ein Blättchen der Blattpaare. Darauf brachte ich den Topf unter einem Blechzylinder in den Schatten, damit keine übermäßige Erwärmung einträte. Ein zweiter Topf blieb in voller Beleuchtung stehen. Nach zwei Tagen schnitt ich genau dieselbe Zahl der entsprechenden Paarlinge von den Pflanzen im verdunkelten Topf ab und darauf ebensoviel Blätter von ungefähr gleicher Größe der beleuchtet gebliebenen Pflanzen. Stärke war in den verdunkelten Blättern natürlich nicht vorhanden, während die zu Beginn des Versuches gepflückten Blätter viel, die beleuchtet gebliebenen ziemlich viel Stärke enthielten. Die Prüfung auf Diastase ergab bei diesem Versuch übereinstimmenden Gehalt in den drei Blattportionen.

Es zeigt sich also, daß zwischen den Resultaten der oben genannten englischen Forscher und meinen Ergebnissen entschiedene Abweichungen bestehen, zum mindesten soweit sich die Erfahrungen auf Erbsen beziehen, die von Brown und Morris allerdings nicht mit Rücksicht auf die Beeinflussung der Diastaseproduktion durch Beleuchtungsverhältnisse untersucht worden sind. Die Ursachen dieser Differenzen sind mir durchaus nicht verständlich, und es muß daher die auf jeden Fall sehr komplizierte Frage nach dem Einfluß der Beleuchtungsverhältnisse auf den Diastasegehalt der Pflanzen weiterhin eingehend studiert werden. Wir dürfen gewiß voraussetzen, daß die Resultate der sorgfältigen Arbeiten der genannten englischen Forscher für das von ihnen benutzte Material und für die Bedingungen, unter denen sie experimentierten, richtig sind; indessen ebenso sind auch die Ergebnisse meiner Studien zu beachten, und es kommt eben darauf an, die Ursachen zu ermitteln, welche die Verschiedenartigkeit der Beobachtungsergebnisse veranlassen können.

## VIII. Abschnitt.

### Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Mit fortschreitender Keimung wächst die Menge der in den Keimpflanzen vorhandenen Diastase.
2. Wird das Wachstum des Embryo bei der Keimung beschränkt, so erfährt die Diastaseproduktion in der Keimpflanze eine Verminderung.
3. Die Diastasebildung in Keimlingen wird in erheblichem Maße von Temperaturverhältnissen beeinflusst. Erfolgt die Keimung z. B. bei  $14\frac{1}{2}$ ,  $25\frac{1}{2}$  und  $32^{\circ}$  C, so wird, entsprechend dem lebhaftesten Wachstum bei  $25\frac{1}{2}^{\circ}$ , auch bei dieser Temperatur die größte Diastasemenge erzeugt. Es existiert also offenbar ein Temperatur-Optimum für die Diastaseproduktion.

4. Ruhende Weizenkörner enthalten etwas Diastase. Verweilen gequollene Körner in reinem Wasserstoff, so erfolgt keine Diastasebildung, während sie bei Luftgegenwart in reichlichem Maße stattfindet.

5. Bei der Keimung von Weizenkörnern in Luft und in reinem Sauerstoff ist die Größe der Diastasebildung die gleiche.

6. Durch kleine Äthermengen in der Atmosphäre wird die Diastaseproduktion in den Keimlingen beeinflusst, in dem Sinne, daß steigende Äthermengen das Wachstum der Keimlinge einschränken und zugleich die Erzeugung des Enzyms vermindern.

7. Die Sekretionsdiastase wird in ihrer stärkeumbildenden Wirkung durch kleine Säuremengen erheblich gefördert. Schon 0,001 % Zitronensäure steigert die Tätigkeit des Ferments merklich. Auf die Translokationsdiastase scheinen kleine Säuremengen keinen Einfluß auszuüben, und wenn sich dies Resultat weiterhin bestätigt, so wäre damit ein neuer und wesentlicher Unterschied im Verhalten von Sekretions- und Translokationsdiastase konstatiert. — Größere Säuremengen schädigen die Wirksamkeit sowohl der Sekretions- wie der Translokationsdiastase.

8. Wenn sich in diastasehaltigen Flüssigkeiten Bakterien entwickeln, so tritt zunächst eine Förderung der stärkeumbildenden Fähigkeit des Ferments, später eine Verlangsamung ein. Diese Erscheinungen beruhen hauptsächlich auf der Säureproduktion der Spaltpilze. Sie ist zunächst gering und wird später bedeutender, dadurch wird das Enzym in dem unter 7. bezeichneten Sinne beeinflusst.

9. Im allgemeinen enthalten Blätter, die bei der Assimilation leicht Stärke speichern, viel Diastase, während Zuckerblätter arm an dem Enzym sind. Diese Regel hat aber keine absolute Gültigkeit.

10. Stärkereiche gutbesonnte Blätter einer Pflanze sind diastase-reich, während stärkefreie Schattenblätter desselben Pflanzenindividuums viel weniger Diastase führen. Daraus ergibt sich wieder eine Beziehung zwischen Stärke- und Enzymgehalt der Organe.

11. Nach den Ergebnissen verschiedener Untersuchungen sollen die Laubblätter bei Verdunkelung eine Zunahme an diastatischem Enzym erfahren. Durch meine Beobachtungen konnte keine direkte Beeinflussung des Diastasegehaltes der Blätter (*Pisum sativum*) durch Beleuchtungsverhältnisse ermittelt werden. Die gesamten hier in Betracht kommenden Fragen sind aber so verwickelt, daß weitere eingehende Untersuchungen auf diesem Gebiet notwendig erscheinen.

12. Im allgemeinen darf aus den vorliegenden Untersuchungen wohl der Schluß gezogen werden, daß die Diastasebildung in den höheren Pflanzen, wenn nicht ausschließlich, so doch wesentlich, regulatorisch gelenkt wird. Lebhafteres Wachstum und größerer Stärke-

gehalt der Zellen dürfen als jene Momente betrachtet werden, welche die Enzymerzeugung regeln.

### Literaturnachweis.

- Brown and Heron (1879). Contributions to the history of starch and its transformations. *Journal Chem. Soc. Trans.*, Vol. CXCIV.
- Brown and Morris (1890). On the germination of some of the Gramineae. *Journal Chem. Soc. Trans.*, Vol. LVII.
- Dies. (1893). A contribution to the chemistry and physiology of foliage leaves. *Journal Chem. Soc. Trans.*, Vol. LXIII.
- Clausen (1890). Das Optimum der Atmung. *Landw. Jahrb.*, Bd. XIX.
- Czapek (1905). *Biochemie der Pflanzen*. Jena.
- Detmer (1880). *Vergleichende Physiologie des Keimungsprozesses der Samen*. Jena.
- Ders. (1883). Über die Entstehung stärkeumbildender Fermente in den Zellen höherer Pflanzen. *Bot. Ztg.*, Bd. XLI.
- Ders. (1884). Über Fermentbildung und fermentative Prozesse. Jena.
- Effront-Bücheler (1900). *Die Diastasen und ihre Rolle in der Praxis*. Leipzig und Wien.
- Fermi (1892). Beitrag zum Studium der von den Mikroorganismen abgesonderten diastatischen und Inversionsfermente. *Centralbl. f. Bakt.*, Bd. XII.
- Fermi und Pernossi (1894). Über die Enzyme. *Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten*. Bd. XVIII.
- Flügge (1896). *Die Mikroorganismen*. 3. Aufl.
- Godlewski und Polzeniusz (1901). Über die intramolekulare Atmung von in Wasser gebrachten Samen und über die dabei stattfindende Alkoholbildung. *Bulletin de l'Acad. des Sciences de Cracovie*.
- Green (1893). On vegetable ferments. *Ann. of Bot.*, Vol. VII.
- Ders. (1894). The influence of light on diastase. *Ann. of Bot.*, Vol. VIII.
- Ders. (1897). On the action of light on diastase. *Phil. Trans.*, Vol. CLXXXVIII.
- Green-Windisch (1901). *Die Enzyme*. Berlin.
- Grüb (1894). Über das Verhalten des diastatischen Enzyms in der Keimpflanze. *Pringsheims Jahrb.*, Bd. XXVI.
- Ders. (1895) Die Diastase im Pflanzenkörper. *Ber. d. deutsch. bot. Gesellschaft.*, Bd. XIII.
- Ders. (1896). Beiträge zur Physiologie der Keimung. *Landw. Jahrb.*, Bd. XXV.
- Hansteen (1894). Über die Ursachen der Entleerung der Reservestoffe aus Samen. *Flora*, Bd. LXXIX.
- Hertel (1904). Über Beeinflussung des Organismus durch Licht, speziell durch die chemisch wirksamen Strahlen. *Zeitschr. f. allg. Physiol.* (Verworn.) Bd. IV.
- Höber (1902). *Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe*. Leipzig.
- Hüfner (1872). Untersuchungen über ungeformte Fermente und ihre Wirkungen. *Journal f. prakt. Chem.* N.F., Bd. V.
- Johannsen (1900). *Das Ätherverfahren beim Frühtreiben*. Jena.
- Jost (1904). *Pflanzenphysiologie*. Jena.
- Katz (1898). Die regulatorische Bildung von Diastase durch Pilze. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, Bd. XXXI.

- Kjeldahl (1879). Recherches sur les ferments producteurs de sucre. Résumé du compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg. Zitiert aus Arthur Meyer. Stärkeköerner. 1895.
- Krabbe (1890). Untersuchungen über das Diastaseferment unter spezieller Berücksichtigung seiner Wirkung auf Stärkeköerner innerhalb der Pflanze. Pringsheims Jahrb., Bd. XXI.
- Lintner (1886 und 1887). Studien über Diastase. Journ. f. pr. Chem., Bd. XXXIV u. XXXVI.
- Linz (1896). Beiträge zur Physiologie der Keimung von Zea Mais. Jahrb. f. wissensch. Bot., Bd. XXIX.
- Loeb (1806). Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen. Leipzig.
- Mayer, Adolf (1882). Die Lehre von den chemischen Enzymen.
- Meyer, Arthur (1895). Stärkeköerner. Jena.
- Oppenheimer (1900). Fermente. Leipzig.
- Pfeffer (1895). Über die Elektion organischer Nährstoffe. Jahrb. f. wissensch. Bot., Bd. XXVIII.
- Ders. (1896). Über die regulatorische Bildung von Diastase. Ber. d. math.-physik. Klasse der Königl. Sächs. Gesellsch. d. Wissensch. zu Leipzig.
- Ders. (1897). Pflanzenphysiologie. Bd. I, 2. Aufl.
- Puriewitsch (1897). Physiologische Untersuchungen über die Entleerung der Reservestoffbehälter. Jahrb. f. wissensch. Bot., Bd. XXXI.
- Reychler (1889). Über künstliche Diastase. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXII, 1.
- Schimper (1885). Über Bildung und Wanderung der Kohlehydrate in den Laubblättern. Bot. Ztg., Bd. XLIII.
- Schleichert (1893). Die diastatischen Fermente der Pflanzen.
- Schmidt-Nielsen (1904). Die Enzyme, namentlich das Chymosin, Chymosinogen und Antichymosin in ihrem Verhalten zu konzentriertem elektrischem Licht. Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. (Hofmeister). Bd. V.
- Tammann (1889). Über die Wirkung der Fermente. Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. III.
- Vines (1890/91). On the presence of a diastatic ferment in green leaves. Ann. of Bot., Vol. V.
- Went (1901). Über den Einfluß der Nahrung auf die Enzymbildung durch *Monilia sitophila* (Mont.) Sacc. Jahrb. f. wissensch. Bot., Bd. XXXVI.
- Wortmann (1882). Untersuchungen über das diastatische Ferment der Bakterien. Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. VI.
- Ders. (1890). Über den Nachweis, das Vorkommen und die Bedeutung des diastatischen Enzyms in den Pflanzen. Bot. Ztg., Bd. XLVIII, No. 37—41.

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

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung](#)

Jahr/Year: 1907

Band/Volume: [97](#)

Autor(en)/Author(s): Eisenberg Elfriede

Artikel/Article: [Beiträge zur Kenntnis der Entstehungsbedingungen diastatischer Enzyme in höheren Pflanzen 347-374](#)