

Untersuchungen über den Kohlenhydratstoffwechsel von *Beta vulgaris* (Zuckerrübe).

Von

W. Ruhland.

(Aus der Kaiserl. Biolog. Anstalt zu Dahlem.)

Vorbemerkung.

Über die Inhaltsbestandteile von *Beta vulgaris*, speziell den Zucker selbst, liegt bekanntlich eine fast unübersehbar reiche, dem Botaniker vielfach schwer zugängliche, chemische und technische Literatur vor. Es erschien mir deshalb vom physiologischen Standpunkt interessant und lohnend, auf Grund dieses Materials ein Bild von dem gesamten Zuckerstoffwechsel dieser Pflanze zu entwerfen. Ein derartiger Versuch schlug indessen fehl; es war mir zu meiner Überraschung nicht einmal möglich, ein solches Bild in seinen Hauptzügen festzulegen.

Ähnliche Erfahrungen mögen die Veranlassung zu den wenigen physiologischen oder histochemischen Darstellungen gegeben haben, welche der großen Menge rein chemischer Arbeiten gegenüberstehen und deren Resultate in mancher Hinsicht wertvoll ergänzen. Es kann aber keinem Zweifel unterliegen, daß auch sie eine befriedigende Einsicht in den Kohlenhydratstoffwechsel von *Beta* nicht zu gewähren vermögen.

Ich hielt es aus diesen Gründen und deshalb, weil wir bisher eigentlich nur noch vom Zuckerrohr¹⁾ eine den Kohlenhydratstoffwechsel einer Pflanze in großen Zügen behandelnde Darstellung besitzen, für eine dankenswerte Aufgabe, durch eigene Untersuchungen an die Behandlung des Themas heranzugehen, unter

1) F. A. F. C. Went, Chemisch-physiologische Untersuchungen über das Zuckerrohr. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXI, 1898, S. 289.

besonderer Berücksichtigung der vom physiologischen Standpunkt noch nicht oder nur unzureichend geprüften Fragen.

Damit ist die Veranlassung zur Entstehung der folgenden Zeilen gekennzeichnet.

Es erwies sich nun im Verlauf dieser Studien angesichts der vielen sich von selbst aufdrängenden Einzelfragen als immer tunlicher, zunächst einmal nur eine verhältnismäßig grob umrissene Behandlung des Themas anzustreben. Mehr bietet denn auch die folgende Darstellung nicht. Später wird sich vielleicht Gelegenheit finden, auf einige der nachstehend nur angeschnittenen, physiologisch interessanten Detailfragen ausführlicher zurückzukommen.

Ich beschränkte mich auf die Untersuchung der Wanderungs- und Speichervorgänge. Die Veratmung der Kohlenhydrate wurde demgemäß — abgesehen von einigen des Invertasestudiums wegen notwendigen Versuchen zur intramolekularen Atmung — hier außer acht gelassen.

Als Versuchsobjekt dienten fast ausschließlich Zuckerrüben einer und derselben Sorte, nur ganz gelegentlich wurden auch Futter- und rote Rüben oder andere Zuckerrübensorten in die Untersuchung einbezogen.

I. Einleitung.

Die in der Zuckerrübe als Zellinhalt vorkommenden Kohlenhydrate sind, wie zur Orientierung bemerkt sei, hauptsächlich folgende:

Polysaccharid: Stärke (hauptsächlich im Perisperm des Samens, in den Blättern und öfter in dem sie tragenden Teil des Rübenkörpers [„Kopf“]).

Trisaccharid: Raffinose (in geringer Menge hauptsächlich in der Wurzel).

Disaccharide: Rohrzucker (in allen Teilen der Pflanze, hauptsächlich im eigentlichen Rübenkörper).

Maltose (in sehr geringer Menge im Blatt).

Monosaccharide: Glukose } (in allen Teilen der Pflanze, im
Fruktose } eigentlichen Rübenkörper nur
sehr wenig).

Nur die wichtigsten unter ihnen, nämlich Rohr- und Invertzucker werden uns hier genauer beschäftigen.

Der derzeitige Stand unserer Frage ist kurz folgender: Als das erste sich bei der Photosynthese ergebende Kohlenhydrat im Blatt werden Hexosen angesprochen. Glukose und Fruktose sind in der Spreite vielfach nachgewiesen worden. Ebenso fest steht schon lange, daß im Blatt bereits verhältnismäßig nicht wenig Rohrzucker¹⁾ vertreten ist. Auch enthält es unter normalen Verhältnissen stets Stärke.

Zur Klarlegung der Frage der Zuckerwanderung zur Speichersstätte sind vielfach makro- und mikrochemische Untersuchungen angestellt worden. Was zunächst das Blatt betrifft, so hat man es in seine Bestandteile, Stiel und Spreite oder Stiel, Nerven und Spreite zerlegt und deren Preßsäfte gesondert untersucht. Es ergab sich, daß im Blatt während seiner ganzen Entwicklung der Invertzucker weit reichlicher als Rohrzucker vertreten ist. Fruktose scheint danach ferner in den Blattspreiten viel reichlicher vorhanden zu sein, als im Stiel, woselbst die Glukose vorzuherrschen beginnt. Im unteren Abschnitt der Stiele soll dann eine weitere Abnahme der Fruktose bei annähernd gleichem Glukosegehalt stattfinden.

Diese Angaben rühren größtenteils von Lindet²⁾ her. Seine Resultate wurden durch die Pellets³⁾ insofern bestätigt, als auch er in Blättern (Stiel und Spreite) bedeutend mehr Invert- als Rohrzucker fand. Ferner scheint auch nach Pellet im Invertzucker des Blattstiels mehr Glukose und weniger Fruktose als in dem der Spreite enthalten zu sein.

Bestimmte physiologische Schlüsse über den bei der Assimilation zuerst entstehenden Zucker, die Form, in der die Wanderung vor sich geht, die etwaigen Umwandlungen desselben hierbei, hat Lindet im allgemeinen zu ziehen vermieden.

Dagegen geschah dies neuerdings vornehmlich auf Grund mikrochemischer Untersuchungen, welche die Lokalisation der einzelnen Zuckerarten in den Blatteilen von *Beta* zum Gegenstand hatten⁴⁾.

1) Vgl. z. B. Girard, Compt. rend., 97, 1883, S. 1305, sowie die noch älteren Arbeiten von Déhérain, Corenwinder, Contamine usw.

2) Sur la présence du dextrose et du lévulose dans les feuilles de betteraves. Annales agronomiques, XXVI, 1900, S. 103. Vgl. auch Zeitschr. Ver. f. Rüben-Zuck.-Ind., XXXVII, 1900, S. 28.

3) Bull. de l'Assoc. des Chim. de sucr. etc., XVII, 1900, p. 770. Ref. in Öst.-ungar. Zucker-Zeitschr., 1900, S. 610.

4) S. Strakosch, Ein Beitrag zur Kenntnis des Kohlenhydratstoffwechsels von *Beta vulgaris* (Zuckerrübe). Sitz.-Ber. Akad. Wiss., Wien, I. Abt., 1907, S. 855.

Da uns die einschlägige Literatur weiter unten noch genauer beschäftigen wird, genüge hier der Hinweis, daß diese Untersuchungen mit Hilfe der von Grafe ¹⁾ und Senft ²⁾ für mikrochemische Zwecke abgeänderten Osazon-Methode von E. Fischer ausgeführt wurden.

Strakosch findet mit Hilfe dieser Methode in Zuckerrübenblättern, die um 4 Uhr nachmittags gepflückt waren, in der Nähe der Blattränder nur Glukose, im übrigen Mesophyll der Spreite Glukose neben sehr wenig Rohrzucker, im Mittelnerv Rohrzucker und Fruktose und im Blattstiel Rohrzucker, Maltose, Glukose und Fruktose. Der Rohrzuckergehalt wächst vom Blattrand zur Mitte der Spreite und von dort abwärts, um im Blattstiel am größten zu sein. (Diese Befunde stehen also größtenteils im vollen Widerspruch zu denen Lindets.)

Die Frage, in welcher Form der Zucker aus den assimilierenden Organen in die Rübenwurzel ³⁾ wandert, hat in den letzten Jahren eine Reihe von Bearbeitern gefunden, die — im Gegensatz zu den älteren Vermutungen von De Vries ⁴⁾, welcher an Invertzucker gedacht hatte, — übereinstimmend zu dem Schluß gelangten, daß dies der Rohrzucker selbst sein müsse, der hiernach also nicht erst im Speicherorgan aus Wanderstoffen anderer Art gebildet zu werden brauchte.

Eine derartige Vermutung war bereits von Czapek ⁵⁾ ausgesprochen. Strakosch glaubte durch seine oben erwähnten Befunde sowie die mit Hilfe der gleichen Methode gewonnenen Resultate von Beschattungsversuchen ⁶⁾ die Richtigkeit der Czapekschen Hypothese erwiesen zu haben. In gleichem Sinne sprachen sich Briehm und Strohmeyer ⁷⁾ auf Grund von Analysen abnorm gewachsener, nämlich verlängerter oberirdischer Laubspresse von Zuckerrübenpflanzen aus, wo Invertzucker vermißt wurde. Endlich hat sich

1) Studien über den mikrochemischen Nachweis verschiedener Zuckerarten in den Pflanzengeweben mittels der Phenylhydrazinmethode. Sitz.-Ber. Akad. Wiss., Wien, CXIV, 1905.

2) Über den mikrochemischen Zuckernachweis durch essigsäures Phenylhydrazin. Ebenda, CXIII, 1904.

3) „Wurzel“ hier wie im folgenden, wenn nicht ausdrücklich anders bemerkt, nicht in streng morphologischem Sinne, sondern inkl. Hypokotyl verstanden.

4) Wachstumsgeschichte der Zuckerrübe. Landw. Jahrb., VIII, 1879, S. 417.

5) Biochemie der Pflanzen, Bd. I, S. 375.

6) Über den Einfluß des Sonnen- und diffusen Tageslichtes auf die Entwicklung von *Beta vulgaris*. Öst.-ung. Zeitschr. f. Zuck., 35, 1906, S. 1.

7) Österr.-ung. Ztschr. f. Zuck., 35, 1906, S. 23.

jüngst Stephani¹⁾, der die Zuckerverhältnisse in den unterirdischen Teilen während der ersten Vegetationsperiode (und des Lagerens) quantitativ analytisch untersuchte, dieser Ansicht angeschlossen.

Die Rübenwurzel würde demnach also den fertig gebildeten Rohrzucker zugeführt erhalten. Sie enthält jedenfalls, wie verschiedentlich, besonders auch von Stephani festgestellt wurde, von Anfang bis zu Ende der ersten Vegetationsperiode neben Rohrzucker regelmäßig nur sehr geringe Mengen Invertzucker. Strohmer leugnet im Gegensatz zu den meisten anderen Autoren, daß in der Wurzel überhaupt Invertzucker enthalten sei.

Die Verteilung des Rohrzuckers in den einzelnen Partien der Wurzel ist von den Zuckerchemikern häufig studiert worden. Es kommen gewisse Unterschiede vor, nach denen zuckerreichere und -ärmere Partien unterschieden werden; doch können wir von diesen Verhältnissen hier absehen, da sich im folgenden keine weiteren physiologischen Erörterungen daran anknüpfen werden.

Eine ziemlich alte Erfahrung aus der Praxis, für die hier keine literarischen Belege notwendig sind, ist es, daß während der Winterruhe außer durch Veratmung ein gewisser, meist sehr geringer Verlust an Rohrzucker auch durch nachträgliche Bildung von Invertzucker einzutreten pflegt, welcher durch seinen nachteiligen Einfluß auf das Kristallisieren des Rohrzuckers mitunter bei der Fabrikation lästig empfunden wird.

Die interessante Frage, in welcher Form der Zucker beim Austreiben der Rüben in der zweiten Vegetationsperiode in die jungen oberirdischen Organe einwandert, ist — im Gegensatz zur Wanderung bei der Speicherung — in der Literatur fast gar nicht oder nur beiläufig erörtert worden. Meist nimmt man stillschweigend als selbstverständlich an, daß die Wanderung in Form von Rohrzucker erfolgt. Zu erinnern ist hier aber an die bekannten Untersuchungen von Puriewitsch²⁾ über Entleerung von Reservestoffbehältern, welcher u. a. auch Zuckerrüben in den Bereich seiner Versuche zog und als Exosmoseprodukte neben geringen Rohrzucker Spuren vor allem Invertzucker auffand.

Die jüngsten Sprosse des zweiten Jahrganges enthalten jedenfalls zunächst erhebliche Invertzuckermengen. Das gilt insbesondere

1) Untersuchungen über reduzierenden und nicht reduzierenden Zucker in den *Beta*-Rüben während des Wachstums und der Lagerung. Kühn-Archiv, I, 1911, S. 108.

2) Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXI, 1898, S. 1.

auch von Sprossen, die im Dunkeln ausgetrieben waren, wie Lindet (a. a. O.) feststellte.

Es kommt nicht selten vor, daß eine Rübe, wenn ihr Gelegenheit dazu gegeben wird, und wenn sie ihr Dickenwachstum fortsetzt, auch im dritten Jahre und sogar noch öfter blüht und fruchtet. In diesen Fällen finden ganz entsprechende Zuleitungen und Speicherungen wie im ersten Jahre statt. Im übrigen dauert die Abwanderung aus ihr bis zur Samenreife an. Von dem sog. „Samenstengel“ d. h. den blümentragenden Langsprossen gibt Lindet an, daß er ziemlich viel Rohrzucker enthalte.

Über die Reservestoffe des Samens haben wir Angaben von Stoklasa¹⁾, der im Embryo Rohrzucker in „kleinen Mengen“ fand, während von anderer Seite²⁾ hiervon nichts erwähnt wird. Es ist aber nicht zu bezweifeln, daß die Stärke des Perisperms das einzige wesentliche Reservekohlenhydrat unter den hier zu betrachtenden für den Embryo darstellt (nach Stoklasa 37,31 % des von der Testa befreiten Samens).

II. Experimenteller Teil.

A. Die Invertase.

Unsere Kenntnisse von der Invertase bei *Beta*, über die hier einige Angaben vorausgeschickt werden mögen, sind, wie überhaupt von den Invertasen höherer Pflanzen, recht mangelhaft. Wir haben eigentlich kaum mehr als eine Reihe von Angaben, daß die Auszüge gewisser Pflanzenorgane invertierende Wirkung haben. Gonnermann³⁾ hat das Verdienst, die ersten Versuche über die vor ihm nur theoretisch geforderte Invertase der Zuckerrübenpflanze angestellt zu haben. Auch Stoklasa hat sich auf Grund eigener Untersuchungen über *Beta*-Invertase geäußert.

Gonnermann gibt nach seinen Untersuchungen Invertase in den Samen, Blättern und Wurzeln an. Man findet bei ihm auch ein Verfahren zur Darstellung eines wirksamen Enzympräparates beschrieben. Ich bin mit diesem Verfahren trotz vielfach wiederholter Versuche so wenig glücklich gewesen, daß es nicht gelingen wollte, hiernach aus einem der Organe der Pflanze eine Invertase

1) Zeitschr. f. d. Zucker-Ind. in Böhmen, 1899/1900, S. 557.

2) Vgl. z. B. Pellet u. Liebschütz, Compt. rend., Paris, Bd. 90, 1880, S. 1363.

3) Entstehung des Zuckers in der Rübe. Zeitschr. Ver. Zuck.-Ind., 38, 1898, S. 667.

zu erhalten. Leider stehen meine Erfahrungen auch sonst zu denen Gonnermanns im Widerspruch¹⁾. Stoklasa hat besonders die Invertase im Zusammenhang mit der intramolekularen Atmung betrachtet, worauf weiter unten (S. 245) zurückzukommen sein wird.

Das nach manchen vergeblichen Versuchen schließlich von mir zur Darstellung eines hydrolytisch wirksamen Produktes mit Erfolg benutzte Verfahren entspricht ungefähr dem schon früher von Zulkowski und König für die Hefe angewendeten. Als das geeignetste Ausgangsmaterial erwiesen sich Blattstiele und -mittelnerven. Eine möglichst große Menge von Material wurde in einer Climax-Mühle gemahlen, mit Sand zerrieben, ausgepreßt und der Saft sofort sehr reichlich mit Alkohol versetzt. Dieser wurde nach Absetzen des Niederschlages abgehoben und der Rest abfiltriert. Der Niederschlag wurde auf dem Filter sogleich mit Alkohol absol. und Äther gewaschen, am nächsten Tage pulverförmig zerrieben und zur möglichsten Verjagung des Alkohols bei 40° C im Trockenschrank unter gewöhnlichem Druck zwei bis drei Stunden getrocknet. Das so gewonnene schwarze Pulver erwies sich bei Vorversuchen als kräftig invertasisch wirksam. Obwohl somit bereits die Existenz eines wasserlöslichen²⁾ Enzyms dargetan war, wurde das Präparat einer weiteren Reinigung unterzogen. Es wurde zunächst mit sehr viel Wasser (allmählich unter Reiben im Mörser zugesetzt) aufgenommen, und das Ganze 48 Stunden stehen gelassen. Darauf wurde vom Ungelösten dekantiert und mit Äther ausgeschüttelt, wobei sich an der Grenze der Flüssigkeiten eine froschlauchartige Masse ansammelt, die im Scheidetrichter abgeschieden, in Wasser gelöst und wiederum mit sehr viel Alkohol ausgefällt wurde. Der Niederschlag wurde analog wie der bei der ersten Ausfällung er-

1) So habe ich mich z. B. niemals von invertasischen Fähigkeiten der Samen überzeugen können, die G. behauptet. Ohne in eine weitere Diskussion der übrigens schon sprachlich etwas seltsam anmutenden G.schen Darstellung eintreten zu wollen, sei noch erwähnt, daß sie durchaus vom Standpunkt des Chemikers verfaßt ist und viele unbewiesene und physiologisch unhaltbare Behauptungen enthält. Hierzu gehört z. B. — um nur etwas aufs engste mit den folgenden Zeilen Zusammenhängendes herauszugreifen — der a priori aufgestellte Satz, daß der Gehalt an einem Enzym mit dem Wachstum des Pflanzkörpers größer werden müsse! Gerade bei der Rübeninvertase trifft, wie meine Untersuchungen zeigen, dieser Satz nicht zu.

2) Bei Hefe von *Monilia candida* und in der unreifen Dattel gelingt es bekanntlich trotz hoher invertasischer Kraft des Materials nicht, diesem eine wasserlösliche Invertase zu entziehen. Vinson, Journ. Amer. Soc. 30, Nr. 6; E. Fischer u. Lindner, Ber. Deutsch. Chem. Ges., 28, S. 3034 und Zeitschr. f. phys. Chem., 26, 1898, S. 77.

haltene gewaschen, zerrieben und getrocknet. Es ergab sich ein graues Pulver, das z. B. in folgendem Versuch seine Wirksamkeit zeigte:

Versuch 1¹⁾. 200 ccm eines Rübenwurzelpreßsaftes, der die Drehung $+ 23,8^{\circ}$ im 200 mm-Rohr des Mitscherlich'schen Halbschatten-Apparates zeigte, wurden mit einer geringen Menge des Pulvers versetzt (A). Eine Parallelprobe (B) erhielt einen Enzymzusatz, der mit wenig destilliertem Wasser angesetzt, im Laufe einer Stunde wieder annähernd zur Trockene eingedampft worden war. Beide Proben wurden mit Toluol versetzt und im Brutschrank bei $+ 34^{\circ} \text{C}$ im verschlossenen Erlenmeyerkolben stehen gelassen. Reaktion in beiden sehr schwach sauer.

| | A | B |
|-----------------------------|------------------|------------------|
| Ursprüngliche Drehung . . . | $+ 23,8^{\circ}$ | $+ 23,6^{\circ}$ |
| Nach 24 Stunden | $+ 21,3^{\circ}$ | $+ 23,6^{\circ}$ |
| „ 10 Tagen | $+ 1,8^{\circ}$ | $+ 23,5^{\circ}$ |

Für andere Organe der *Beta*-Pflanze, in denen ich invertasische Fähigkeiten festgestellt hatte, begnügte ich mich zum generellen Nachweis der Existenz eines löslichen Enzyms mit der ersten Alkoholfällung des Preßsaftes. Da diese Probe in solchen Fällen immer positiv ausfiel, wurden weiterhin nur noch die Veränderungen im Gehalt der lebenden Pflanzenteile oder des Preßsaftes an Invertzucker unter Berücksichtigung des Gesamtzuckergehaltes oder aber die Wirkung von Preßsäften, welche eventuell noch unter Druck durch Pukall-Filter gegangen waren oder von Organbrei auf Rohrzuckerlösungen von bekanntem Gehalt geprüft und hierfür überall die Wirkung eines löslichen Enzyms vorausgesetzt. Zur Methodik dieser Untersuchungen noch folgendes:

Zur Herstellung von Preßsaft nach gehöriger Zerkleinerung des Materials wurde eine größere Handpresse benutzt, da die umständlichere Anwendung besonders hoher Drucke mittels der hydraulischen Presse keine Vorteile versprach. Der Preßsaft wurde stets durch Toluol konserviert. Chloroform schädigt die Invertase sehr merklich. Es wurde in mit Kork verschlossenen Erlenmeyerkolben im Brutschrank meist bei $+ 33$ bis 35°C weiter beobachtet.

1) Es wird hier und im folgenden, soweit nicht anders bemerkt, nur eine knappe Auswahl von typisch verlaufenen Versuchen mitgeteilt. Dieselben sind fortlaufend numeriert.

In der Literatur wird meist etwa $+ 50^{\circ} \text{C}$ als Optimaltemperatur für die Wirkung von Invertasen angegeben, doch ist im vorliegenden Falle bei längeren Versuchen Schädigung des Enzyms bei so hohen Temperaturen unverkennbar.

Besonders zu beachten ist die Reaktion des Preßsaftes bzw. der Untersuchungsflüssigkeit. In alkalisch reagierender Lösung ist Invertase nicht wirksam. Henri¹⁾ und seine Mitarbeiter fanden bei ihren Untersuchungen über den elektrochemischen Charakter der Invertase von *Helix pomatia* an sorgfältig dialysierten Lösungen, deren spezifische Leitfähigkeit nicht größer als $12 \cdot 10^{-6}$ war, daß das Enzym zur Anode wanderte. Dasselbe stellte unabhängig von jenen Michaelis²⁾ bei seinen Überführungsversuchen mit unpolarisierbaren Elektroden fest. Die Invertase wanderte auch hier, sogar unabhängig von der Reaktion des Mediums, zur Anode, ist also eine ausgesprochene Säure. Hierzu stimmen auch die vom selben Verfasser mit Ehrenreich³⁾ studierten Adsorptionserscheinungen.

So versteht es sich von selbst, daß man Invertase stets in neutraler oder schwach saurer Lösung zu prüfen hat. Für quantitative Untersuchungen ist weiterhin eine genaue Messung der H^+ -Ionenkonzentration der Lösung unerlässlich. Schätzungen über den Enzymgehalt allein nach der Reaktionsgröße sind durchaus unzulässig.

Es versteht sich danach von selbst, daß im folgenden die Reaktion nirgends unbeachtet gelassen wurde. Es bedarf aber andererseits der Begründung, weshalb zahlenmäßige Messungen der H^+ -Ionenkonzentrationen unterblieben sind. Solche stoßen leider im vorliegenden Falle auf außergewöhnliche Schwierigkeiten.

Titrationen sagen selbstverständlich über den Gehalt an „aktuellen“ H^+ -Ionen, der hier allein in Frage kommt, nichts aus. Diejenigen Methoden, welche auf der Messung solcher Reaktionen beruhen, deren Geschwindigkeiten proportional der H^+ -Ionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit verlaufen, konnten nicht benutzt werden, da die in Frage kommenden Konzentrationen zu schwach sind und vor allem, weil es sich hier um komplizierte Gemische („Neutralsalzwirkung“ usw.!) handelte.

1) Bierry, Henri et Schaeffer, *Étude du transport électrique des ferments solubles*. Soc. de Biol., 1907, S. 296.

2) Biochem. Zeitschr., Bd. 16, 1909, S. 81

3) Ebenda, Bd. 10, 1908, S. 299.

Was die schöne, von S. P. L. Sörensen¹⁾ so sorgsam ausgearbeitete kolorimetrische Methode anbelangt, die in Zukunft gerade für physiologische Zwecke zweifellos noch sehr wichtig werden wird, so mußte auch sie leider hier ausscheiden, da bekanntlich sämtliche Organpreßsäfte von *Beta* an der Luft unter Sauerstoffaufnahme rasch dunkeln. Es ist nun zwar möglich, durch rasches Auspressen und Filtrieren durch Pukall-Filter unter Sauerstoffabschluß klare, ungefärbte Preßsäfte zu erhalten, doch waren die auf diese recht umständliche Art gewonnenen Mengen bei weitem zu gering für ein rationelles Arbeiten. Betreffs der Anwendbarkeit der elektrometrischen Messungen mittels Wasserstoffelektroden („Gaskettenmethode“) sei ebenfalls auf die Ausführungen von Sörensen verwiesen.

Für meine Zwecke genügte es, durch Vergleiche der Farbänderungen einiger empfindlicher Farblösungen durch die Versuchsflüssigkeiten und Lösungen von bekanntem H⁺-Gehalt, einen ganz ungefähren Anhalt zu gewinnen. In diesem Sinne gebrauche ich schätzungsweise die Bezeichnungen:

| | | |
|---------------|----------|-------------------------------------|
| „stark sauer“ | für etwa | $C_H > 1,5 \cdot 10^{-4}$ |
| saure | „ | $C_H > 10^{-4}$ |
| schwach saure | „ | $0,8 \cdot 10^{-7} < C_H < 10^{-4}$ |

Diejenige maximale Wasserstoff-Ionenkonzentration in meinen Rohrzuckerlösungen, bei welcher in diesen bei der Versuchstemperatur von + 32 bis 34° C und mehrwöchentlicher Einwirkung keine Inversion durch den H⁺-Gehalt allein eintrat, betrug, wie entsprechende Messungen lehrten, annähernd $C_H = 3 \cdot 10^{-4}$ oder in einem von Herrn Dr. Ludwigs mit Chlorwasserstoffsäurelösungen in doppelt destill. Wasser ausgeführten Versuch $C_H = 2 \cdot 10^{-4}$. Wir dürfen deshalb schließen, daß in neutralen und allen sauren Lösungen mit niedrigeren C_H -Werten, in denen Inversion zu beobachten ist, eine Invertase wirksam ist.

Durch eine Reihe von Versuchen wurde nun Näheres über die Verteilung der Invertase in der Pflanze ermittelt. Nachdem zunächst die Versuche, aus Samen das Enzym zu gewinnen, fehlgeschlagen waren, wurden folgende Versuche gemacht:

Versuch 2. Mit Toluol am 3. Oktober versetzter Preßsaft einer ausgewachsenen Zuckerrübe von der Drehung + 18,17°

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 21, 1909, S. 131. Dort näheres über den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Invertasewirkung („Wasserstoffionenexponent“).

(Reaktion schwach sauer) änderte seine Drehung im Brutschrank bei 32° C während einer Woche nicht. Am 10. Oktober wurde er in drei Teile zu je 100 ccm geteilt. Teil:

- A erhielt 2 g in der Reibschale fein gemahlenes Rübensamenpulver beigefügt;
- B erhielt ebensoviel Rübensamenpulver, das jedoch vorher eine Stunde lang in wenig Wasser auf 100° C erhitzt worden war;
- C blieb ohne Zugabe.

Die Polarisationen ergaben weiter:

| | A | B | C |
|----------|-----------|-----------|-----------|
| 18. Okt. | + 18° 15' | + 18° 13' | + 18° 17' |
| 22. „ | + 18° 15' | + 18° 13' | + 18° 17' |

Versuch 3. Eine Rohrzuckerlösung in Wasser wurde in drei Teile zu je 150 ccm geteilt, von denen A, B und C die entsprechenden Zugaben wie bei Versuch 2 erhielten. Alle drei Teile wurden vorsichtig mit H₂SO₄ auf schwach saure Reaktion gebracht und mit Toluolzusatz in den Brutschrank von 32° C am 29. Oktober gebracht. Polarisation:

| | A | B | C |
|----------|-----------|-----------|-----------|
| 29. Okt. | + 19° 50' | + 19° 45' | + 19° 52' |
| 9. Nov. | + 19° 50' | + 19° 45' | + 19° 52' |

Zu A wurde am 10. November eine kleine Menge einer aus Blattstielen bereiteten Invertase zugesetzt. Polarisation:

| | A | B | C |
|----------|----------|-----------|-----------|
| 18. Nov. | + 3° 15' | + 19° 43' | + 19° 50' |

Derartige Versuche taten also die Abwesenheit von Invertase in den Samen dar. Ganz anders verhält sich die junge Keimpflanze.

Versuch 4. 6 g etwa eine Woche alter Keimlinge wurden mit reinem Quarzsand zerrieben und in zwei gleiche Teile geteilt, von denen einer unter geringer Wasserzugabe auf dem Dampfbad eine Stunde lang erhitzt worden war. Als Untersuchungsflüssigkeit dienten je 150 ccm Rohrzuckerlösung. Entsprechende Bezeichnungen und Behandlung wie oben. Polarisationen:

| | A | B | C |
|---------|---------|---------|---------|
| 6. Dez. | + 17,6° | + 17,5° | + 17,7° |
| 19. „ | - 3,6° | + 17,2° | + 17,7° |

Reaktionen am 19. Dezember überall ziemlich „neutral“. Dieselbe Wirkung der zerriebenen Keimpflanzen ist auf Wurzelpreßsaft zu konstatieren.

Es ist also in den Keimpflanzen Invertase enthalten. Zur Frage der Verteilung des Enzyms in der Keimpflanze wurde folgender Versuch angestellt:

Versuch 5. Einige Tage alte Keimlinge wurden gewaschen und in Kotyledonen (K), hypokotyles Glied (H) und Wurzel (W) zerlegt. Von jedem wurden 1,7 g fein zerrieben, in je 100 ccm Rohrzuckerlösung gebracht und nebst einer gleichen Menge Kontrolllösung (ohne Zusatz) (C) unter Beifügung von Toluol bei $+ 30^{\circ} \text{C}$ im Thermostaten stehen gelassen. Polarisationen:

| | K | H | W | C |
|----------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 22. Dez. | $+ 17,8^{\circ}$ | $+ 17,6^{\circ}$ | $+ 17,6^{\circ}$ | $+ 17,8^{\circ}$ |
| 23. " | $+ 17,1^{\circ}$ | $+ 15,9^{\circ}$ | $+ 16,4^{\circ}$ | $+ 17,8^{\circ}$ |
| 27. " | $+ 13,1^{\circ}$ | $+ 10,7^{\circ}$ | $+ 12,2^{\circ}$ | $+ 17,8^{\circ}$ |

Reaktion am 27. Dez. überall annähernd „neutral“.

Die Invertase ist also im ganzen Keimling verteilt. Aus dem Preßsaft der Keimpflanzen kann nach dem oben angegebenen Verfahren ein wirksames Präparat erhalten werden.

In ähnlicher Weise, wie es hier für die Keimpflanzen etwas genauer beschrieben wurde, läßt sich der Nachweis der Invertase auch in allen Teilen des Laubes vom Erscheinen desselben an und zu allen Jahreszeiten führen.

Abweichend liegen die Verhältnisse in der Wurzel, die an dieser Stelle nur ganz kurz behandelt werden mögen, da sie im nächsten Abschnitt noch genauer zu besprechen sind. Während z. B. Preßsäfte von $2\frac{1}{2}$ Monate alten Wurzeln (ohne die Seitenwurzeln) rasche Rohrzuckeraufspaltung zeigen (Drehung am 15. Juni $+ 11,2^{\circ}$, am 29. Juni $- 2,1^{\circ}$), wird diese bei älteren Wurzeln, trotz anscheinend gleicher Azidität des Saftes, bedeutend schwächer. Bereits in etwa $3\frac{1}{2}$ —4 Monate alten Wurzeln ist sie, abgesehen von den offenbar invertasereicheren jüngsten Cambialzonen und den Nebenwurzelnstreifen¹⁾ vielfach kaum noch merklich, doch pflegt ein völliges Erlöschen der Inversionskraft der Preßsäfte meist erst gegen Ende der Vegetationszeit einzutreten.

1) Die Seitenwurzeln bei *Beta* treten bekanntlich entsprechend dem diarchen Bau des primären Zentralstranges in zwei gegenüberliegenden Längsstreifen an der Hauptwurzel auf.

Bei Untersuchung dieser Preßsäfte, namentlich von der nahezu oder ganz ausgewachsenen Wurzel ist die Reaktion besonders zu beachten. Sie sind anfangs selten gleich deutlich sauer, meist mehr oder weniger amphoter, um fast stets nach kurzer Zeit (4—10 Tagen) ausgesprochen sauer zu werden, infolge autolytischer Prozesse, die sich auch durch oft ziemlich auffällige Änderungen in der Farbe (z. B. anfangs schwarzgrau, später bernsteinfarben bis hellgelb), der Durchsichtigkeit (anfangs undurchsichtig, später häufig ganz durchsichtig) usw. dokumentieren. Welcher Art diese Prozesse sind, habe ich nicht näher untersucht. Selbstverständlich war Wachstum von Mikroorganismen durch die Anwesenheit des Toluols ausgeschlossen. Dieselben Veränderungen zeigten sich übrigens auch, wenn zu einer Parallelprobe des Preßsaftes statt Toluol Chloroform zugegeben wurde. Die stärkste Azidität pflegt sich durch klares und gelbliches Aussehen des Preßsaftes kund zu geben. In Anbetracht der bedeutenden Beschleunigung der Invertasewirkung durch den Säurewasserstoff zeigt das Konstantbleiben der Drehung um so deutlicher die Abwesenheit der Invertase an. Aus den zahlreichen analogen Versuchen führe ich nachstehend nur den folgenden an.

Versuch 6. Zuckerrübenpreßsaft; Reaktion schwach sauer. Temp. + 32,5°. Polarisationswerte:

| 3. Okt. | 6. Okt. | 10. Okt. | 15. Nov. |
|---------|---------|----------|----------|
| + 18,5° | + 18,5° | + 18,4° | + 18,3° |

Am 16. November wurde eine geringe Menge Invertase aus Rübenblattstielen zugesetzt. Die weiteren Polarisationen ergaben:

| 16. Nov. | 18. Nov. | 23. Nov. | 1. Dez. |
|----------|----------|----------|---------|
| + 18,3° | + 16,0° | + 7,8° | - 8,7° |

In manchen Fällen beobachtet man dagegen im Preßsaft der ausgewachsenen Wurzel eine spontane Rohrzuckerspaltung, wie z. B. der folgende Versuch zeigt:

Versuch 7. Zuckerrübenpreßsaft, wie oben behandelt. Die Polarisationen ergaben:

| 31. Dez. | 2. Jan. | 3. Jan. |
|----------|---------|---------|
| + 17,0° | + 14,4° | + 10,2° |

Der Saft war gleich nach dem Pressen gelblich, am 3. Januar ganz durchsichtig und gelb, stark sauer reagierend. Die H⁺-Kon-

zentration mochte etwa $C_H = 10^{-3}$ betragen haben. Da infolgedessen die Vermutung, daß es sich um eine reine Wasserstoffionenwirkung handle, nahe lag, wurde der Saft in drei Teile zu je 125 ccm geteilt, von denen A ohne Zusatz blieb; B erhielt eine Zugabe von gepulvertem Calciumkarbonat in Überschuß, C die gleiche Menge $CaCO_3$, aber außerdem eine kleine Menge *Beta*-Invertase. Die weiteren Polarisationswerte waren folgende:

| | 3. Jan. | 6. Jan. | 9. Jan. |
|---|---------|---------|---------|
| A | + 10,2° | + 2,4° | - 6,7° |
| B | + 10,2° | + 10,2° | + 10,2° |
| C | + 10,2° | + 3,8° | - 5,1° |

Es handelte sich sonach hier tatsächlich um reine H-Ionenwirkung. In ganz vereinzelt und seltenen Fällen nur tritt in der ausgewachsenen Wurzel auch Invertase auf.

Versuch 8. Preßsaft, wie oben behandelt. Polarisationswerte:

| 4. Nov. | 7. Nov. | 9. Nov. |
|---------|---------|---------|
| + 21,8° | + 18,2° | + 16,6° |

Der Preßsaft reagierte sauer.

Am 9. November wurde der Preßsaft in zwei Hälften geteilt, deren eine (B) mit $CaCO_3$ neutralisiert wurde, während die andere (A) unverändert blieb. Die weiteren Polarisierungen ergaben:

| | 9. Nov. | 12. Nov. | 15. Nov. | 25. Nov. |
|---|---------|----------|----------|----------|
| A | + 16,6° | + 13,1° | + 8,3° | - 5,8° |
| B | + 16,6° | + 15,1° | + 13,7° | + 8,4° |

In B findet also ebenfalls merkliche Aufspaltung statt, wenn sie auch wegen der geringeren H^+ -Konzentration langsamer als in A verläuft. Dieses überraschende Resultat veranlaßte mich, der Frage der Lokalisation der Invertase näher zu treten.

Da in Anbetracht der Seltenheit solcher Fälle ein Suchen bei einzelnen Rüben aussichtslos erschien, wurde zu wiederholten Malen eine größere Anzahl derselben (meist je 25) zusammen ausgepreßt und untersucht, da auch nur eine einzelne invertasehaltige Rübe sich durch ihre Wirkung auf den Gesamtsaft verraten mußte.

Von diesen Versuchen wurde eine Serie so ausgeführt, daß die Wurzeln in „Hals“ (Hypokotyl), Nebenwurzelregionen, die zwischen diesen liegenden beiden äußeren Partien („Backen“) und Inneres zerlegt wurden. In einem einzigen Falle (Beginn: 15. Jan.)

bei dieser Serie trat rein invertasische Zuckerspaltung auf, und zwar gleichmäßig in allen verschiedenen Teilen, mit Ausnahme des „inneren“ Gewebes.

In einer anderen Serie wurden infolgedessen die Wurzeln nur geschält, und zwar sehr dünn, und darauf diese „Schale“ und das innere Fleisch gesondert ausgepreßt. Auch unter diesen Versuchen wurde in einem Falle (Beginn: 31. Januar) invertasische Spaltung beobachtet, und zwar lediglich in der „Schale“, welche die äußersten (jüngsten) Cambialzonen enthielt. Auf die Anführung der Polarisationszahlen sei der Kürze halber hier verzichtet.

Als Regel bleibt demnach bestehen, daß eine nennenswerte Rohrzuckeraufspaltung in den Säften der erwachsenen Wurzel im Gegensatz zu den jüngeren Stadien nicht eintritt. Bezüglich der weiteren Folgerungen sei auf den nächsten Abschnitt verwiesen.

In einem gewissen Gegensatz zu diesen Feststellungen lehren schon ältere Beobachtungen, daß während der Winterruhe (Lagerung) doch eine gewisse Inversion nicht ganz fehlt. Hierbei ist freilich zweifelhaft, inwieweit sich die älteren Angaben auf wirklich gesunde und völlig unverletzte Wurzeln beziehen (vgl. hierüber S. 241). Es seien deshalb hierfür nur die neuesten, mit besonders sorgfältiger Berücksichtigung der Fehlerquellen ausgeführten Analysen Stephanis¹⁾ erwähnt, welcher für Zuckerrüben folgende Zahlenangaben macht:

| | 25. Okt. | 9. Dez. | 20. Jan. | 4. März | 15. April |
|------------------|----------|---------|----------|---------|-----------|
| Gesamtzucker . . | 16,56 % | 16,60 % | 16,17 % | 15,72 % | 15,35 % |
| Invertzucker . . | 0,108 | 0,167 | 0,302 | 0,465 | 0,728 |

Man sieht, daß es sich allerdings um sehr geringe Werte handelt. Inwieweit diese Inversion etwa durch die normale Atmung bedingt ist, lasse ich dahingestellt. Nach meinen oben mitgeteilten Erfahrungen möchte der Gedanke, daß es sich hierbei nur um Wirkungen saurer Zellsäfte handelt, doch annehmbar erscheinen (vgl. auch S. 236).

Eine weitere, sich erhebende Frage ist die, ob das Fehlen invertasischer Eigenschaften als dauernde Eigentümlichkeit der Zellen des fertigen Speicherorgans anzusehen ist. Die Antwort lautet, daß im normalen Verlauf der Weiterentwicklung der Pflanze, also beim Wiederaustreiben und in der ganzen zweiten Vegetationsperiode

1) A. a. O., S. 176, Tabelle XVII.

keine merkliche Neubildung von Invertase in den Wurzelzellen einsetzt. Preßsäfte aus solchen Wurzeln zeigen also keine Aufspaltung, und zwar, wie meine Versuche lehrten, auch dann nicht, wenn die Rüben in angemessenen Zwischenräumen zu öfteren Malen ihrer gesamten Blätter beraubt und immer wieder zum Austreiben veranlaßt worden waren. Dagegen sind junge Nebenwurzeln, wie das Laub invertasehaltig.

Bezüglich der interessanten Frage, ob nicht unter besonderen Bedingungen auch die Zellen der ausgewachsenen Wurzel zur Invertasebildung befähigt sind, wäre hier nur an die schon auf S. 205 kurz erwähnten Studien Stoklasas¹⁾ über die intramolekulare Atmung der Zuckerrüben zu erinnern, wo sich eine Reihe zahlenmäßiger Angaben darüber findet, daß der Zerlegung des Zuckermoleküls in Alkohol und Kohlensäure hier ebenso wie bei der Hefegärung die Aufspaltung des Rohrzuckers in Invertzucker vorangeht. Diese Angabe ist sogar so ziemlich die einzige über *Beta*-Invertase, welche in die weitere enzymologische Literatur übergegangen ist. Oppenheimer (a. a. O. S. 39) sagt z. B.: „Die Zuckerrübe enthält ebenfalls Invertase, sie ist in ihr von großer biologischer Bedeutung, da die Rübe bei anaerober Atmung die Glykose vergärt, die aus dem Rohrzucker durch Invertase gebildet werden muß.“ Näheres über diese Frage findet sich im Abschnitt B, c.

Wenn wir zum Schluß noch erwähnen, daß auch alle Teile der blütentragenden Langtriebe invertasehaltig sind, so ist damit das Wichtigste über die Verbreitung des Enzyms in großen Zügen gesagt.

Versuch 9. Je 3 g der Hauptachse (A), der Blätter (B) und der jungen Blüten (C) werden mit Sand zerrieben und zu je 250 ccm einer Rohrzuckerlösung zugesetzt, welche unter Toluolzusatz bei + 32,5° C weiter beobachtet wird. In A', B' und C' sind dieselben Quanten Substanz, bevor sie der Zuckerlösung zugesetzt wurden, 1 Stunde auf 100° C erhitzt worden. Die Polarisationswerte waren:

| | A | A' | B | B' | C | C' | Kontrolle |
|----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|-----------|
| 13. Juni | + 13,8° | + 13,8° | + 13,8° | + 13,8° | + 13,8° | + 13,8° | + 13,8° |
| 26. „ | + 1,6° | + 13,8° | + 0,8° | + 13,8° | - 2,3° | + 13,8° | + 13,8° |

1) Vgl. u. a. „Der anaerobe Stoffwechsel der höheren Pflanzen“ von Stoklasa, Jelinek und Vitek (Hofmeisters Beitr., III, 1903, S. 460).

B) Der Zucker.

Wir gelangen nunmehr zur Besprechung der Transport- und Speicherungsfrage, die natürlich auch Berücksichtigung der Lokalisation der Zuckerarten verlangt.

Bezüglich der z. T. recht umständlichen analytischen Methodik sei zunächst bemerkt, daß die auf Grund langjähriger Erfahrungen in der Spezialliteratur niedergelegten Vorschriften tunlichst berücksichtigt wurden, die sich in dem Werke v. Lippmanns¹⁾ kritisch zusammengestellt finden. Es kam mir bei meinen quantitativen Versuchen aber nur selten auf die Ermittlung absoluter Zuckermengen in den Pflanzenorganen an, sondern es war vor allem das Mengenverhältnis von direkt reduzierendem Zucker zu Rohrzucker festzustellen. Ich bediente mich hierzu der gewichtsanalytischen Methode auf Grund der unter möglichst immer genau gleichen Bedingungen ausgeführten Reduktion frisch bereiteter Fehlingscher Lösung. Das hierbei in je 2 Parallelbestimmungen erhaltene, basische Kupfer wurde trotz der damit verbundenen Umständlichkeiten stets durch Erhitzen im Wasserstoffstrom vor der Wägung zu metallischem Kupfer reduziert. Ich erfreute mich hierbei der dankenswerten Mitarbeit des Herrn Prof. Anisits.

Leider stößt nun gerade die oben genannte, physiologisch wichtige Bestimmung auf besondere Schwierigkeiten, welche auf der Eigenschaft des Rohrzuckers beruht, daß er, ohne selbst reduzierend zu wirken, die Reduktionswirkung des mitanwesenden Invertzuckers verstärkt, ohne daß hierbei eine genaue Proportionalität bestände. Aus den Tabellen von Wein²⁾ kann für jedes gegebene Gemisch von 1—10 % Invertzucker und 90—99 % Rohrzucker aus dem reduzierten Kupfer der Invertzucker durch Interpolation berechnet werden. Die von mir auf diese mit den Umrechnungen, Vorbestimmungen usw. recht umständliche Weise ermittelten Werte für den Invertzucker Gehalt sind, soweit sie mit ihnen vergleichbar sind, nur wenig höher als die inzwischen von Stephani (a. a. O.) auf Grund seiner Verbesserungen und Vereinfachungen der obigen Methode („Saftreduktionsmethode“) speziell für die Saftuntersuchung gefundenen Zahlen.

1) O. v. Lippmann, Chemie der Zuckerarten. 2 Bände, 1904.

2) E. Wein, Tabellen zur Bestimmung der Zuckerarten, wiedergegeben bei v. Lippmann, a. a. O., S. 1408 ff.

Unsere Methode ist indessen nur anwendbar, wenn hinreichende Mengen Ausgangsmaterial zur Verfügung stehen. Die in Frage kommenden Tabellen beginnen auch erst mit Kupfermengen von etwa 100 mg für Invertzucker. In den zahlreichen Fällen aber, in denen es notwendig war, mit viel geringeren Mengen zu arbeiten, mußte auf die oben genannten Korrekturen verzichtet werden und die bei direkter Reduktion erhaltene geringe Kupfermenge als Glukose in Anrechnung gebracht werden, da nur für diese entsprechend geringe Cu-Werte in den Weinschen Tabellen enthalten sind. Ich habe bei so gewonnenen Werten den Angaben über Invertzucker in Klammern „als Glukose“ hinzugefügt.

In einigen wichtigen Fällen lag aber auch die dem Rohrzucker-gehalt entsprechende Cu-Menge unterhalb des niedrigsten Tabellenwertes. Hier blieb nun als Notbehelf nichts weiter übrig, als das Verhältnis der beiden Zuckerarten durch den Anteil der durch direkte Reduktion erhaltenen Kupfermenge an der nach Inversion mit Salzsäure erhaltenen, dem Gesamtzucker entsprechenden Kupfermenge auszudrücken, was streng genommen, nicht zulässig ist, da Reduktionswirkung und Zuckermenge nur annähernd parallel gehen. In diesem Sinne ist die im folgenden einige wenige Male gebrauchte, sonst nicht zulässige Bezeichnung „Anteil des Invertzuckers am Gesamtzucker“, wobei dieser als Invertzucker gedacht ist, zu verstehen. Bedenkt man aber weiter, daß bei so geringen Mengen die Genauigkeit der Zahlenwerte nicht unerheblich sinkt, so wird man in solchen Fällen ohnehin manchmal doch nicht viel mehr als Annäherungswerte zu erwarten haben. Es wurde aber überall versucht, durch Innehaltung derselben Reduktionsbedingungen, namentlich hinsichtlich der Temperaturen, Konzentrationen und Zeitverhältnisse, möglichste Genauigkeit zu erzielen. Die Parallelbestimmungen differierten meist nur recht wenig voneinander.

Für alle auf Kupferreduktion beruhenden Methoden bildet übrigens auch die Anwesenheit reduzierender, die Preßsäfte an der Luft dunkelfärbender, unbekannter Stoffe in allen Teilen von *Beta* eine gewisse Schwierigkeit. Ein großer Teil dieser Stoffe wird zwar bei der Klärung der Auszüge mit Bleiessig bzw. Mercurisulfat mit niedergerissen; doch ist eine Methode zur völligen Beseitigung derselben, die nicht auch auf die Zuckerarten etwas einwirkt (Ausfallen von Bleimonosaccharaten), bisher kaum bekannt. Von der auf der Kombination gewichtsanalytischer und saccharimetrischer Messungen beruhenden Feststellung der Fruktose- und Glukose-

Anteile des Invertzuckers habe ich in den meisten Fällen Abstand genommen.

Die Digestionen des Wurzelbreies geschahen bei 70—80° im Wasserbade mit Wasser; nur wo Stärke im Spiele war, wurde verdünnter Äthylalkohol verwendet, da im anderen Falle bei der nachfolgenden Inversion auch eine Verseifung der gelösten Stärke zu reduzierenden Zuckern unvermeidlich gewesen wäre. Auf eine völlige Erschöpfung der in üblicher Weise zerkleinerten Pflanzsubstanz, welche erst nach ziemlich langer und wegen der Gefahr weiterer Inversion bedenklicher Digestionszeit zu erwarten ist, brauchte, da es sich hier nur um Verhältniszahlen handelte, kein Gewicht gelegt zu werden.

a) Der Zucker in den oberirdischen Teilen und die Ableitung in die Wurzel.

Im Samen habe ich weder Rohr- noch Invertzucker auffinden können. Der im jüngsten Keimlingsalter auftretende reduzierende Zucker ist wohl aus der Reservestärke des Perisperms entstanden. Daß jedoch alsbald mit der eigenen CO₂-Assimilation auch die genannten Zuckerarten auftreten, läßt sich schon aus dem Gehalt an Invertase vermuten.

Wie bereits in der einleitenden Übersicht erwähnt wurde, herrscht unter den verschiedenen Autoren seit langer Zeit darin einigermaßen Übereinstimmung, daß die Blätter durchgängig reich an Invertzucker sind; die Wurzel dagegen enthält nach neueren Untersuchungen von Anfang an vor allem Rohrzucker.

Hier interessieren uns zunächst die Blätter. Wie wir sahen (S. 203), kommt Strakosch, der besonderes Gewicht auf eine sorgfältige Trennung auch der feineren Nerven vom Grundgewebe des Blattes legt, zu dem Schlusse, daß der Anteil des Rohrzuckers am Zuckergehalt vom Blattrande gegen die Mitte zu und von dort abwärts steige, um im Blattstiel vorzuherrschen, während die Monosaccharide entsprechend den Bahnen des auswandernden Zuckers vom Blattrande angefangen gegen die Mitte und von dort nach dem Blattstiel abnehmen.

Bei den Versuchen von Strakosch wurden zum Nachweise der Fruktose Methylphenylhydrazinchlorhydrat und Natriumazetat, beide in Glycerin gelöst, angewendet. Rohrzucker und Glukose wurden in ähnlicher Weise nach dem Vorgang E. Fischers als Phenylsazon nachgewiesen.

Diese Methode ist natürlich nur qualitativ. Da nur Mono-saccharide in der Kälte mit Phenylhydrazin Osazone ergeben, Disaccharide dagegen erst nach der Inversion, so kann man Rohrzucker bei Gegenwart von Invertzucker nur an der Vermehrung des Osazones nach dem Erhitzen bzw. nach längerem Stehen in der Kälte erkennen. Es ist das also Sache einer, wenn es sich nicht gerade um ein Gemisch von wenig Monosaccharid mit sehr viel Rohrzucker handelt, überaus unsicheren Schätzung des Auges. Wo überhaupt nicht sehr viel Zucker vorhanden ist, und wo überdies noch andere Stoffe, deren Einfluß auf die Reaktion nicht bekannt ist, vorhanden sind, wird die Unsicherheit nach meinen Erfahrungen noch weit größer, resp. versagt die Reaktion gänzlich.

Noch weniger empfindlich ist leider die Fruktosereaktion mit Methylphenylhydrazin, selbst wenn es nach den Angaben Grafes (a. a. O.) aus Monomethylanilin dargestellt wird. Auch nur irgendwie annähernde Vergleiche zwischen den Glukose- und Fruktosemengen lassen sich deshalb so nicht erreichen. Dazu kommt noch, daß es sehr mißlich ist, hier aus der Lagerung des Osazones einen Rückschluß auf die strengere Lokalisierung der Zuckerarten zu machen, wie dies für die *Beta*-Wurzel von Peklo¹⁾ versucht worden ist. Bei Anwendung von Glyzerin als Reaktionsmedium²⁾ tritt natürlich schon durch dessen ungeheure osmotische Wirkung sehr rasch der Tod der Zellen ein, wozu noch die starke Giftwirkung des Hydrazins erheblich beiträgt. Es findet also sogleich nach Zusatz der Reagentien eine Diffusion der im Zellsaft gelösten Zucker nach außen statt. Die Mischung derselben mit der Untersuchungsflüssigkeit wird bei der langen Dauer der Reaktion (1 Stunde bis mehrere Tage) sehr beträchtlich sein, und in der Tat sieht man stets reichlich Osazonkristalle über das ganze Präparat, auch außerhalb der Schnitte, verstreut.

Ich vermag deshalb nicht anzuerkennen, daß die wesentlichen Punkte der Darstellung von Strakosch bewiesen sind. Wie ist z. B. nachgewiesen, daß das Parenchym der Spreite keine Fruktose enthält? Das Ausbleiben der an sich schon wenig empfindlichen

1) „Histochemisches über die Lokalisation der Saccharose in der Zuckerrübe“. (Öster.-ung. Zeitschr. f. Zuck., 1908, S. 153—174). Ich kann die vom Verf. aus seinen Untersuchungen gezogenen Schlüsse nicht bestätigen.

2) In den Vorschriften Senfts (a. a. O.) ist das spez. Gewicht des verwendeten Glyzerins leider nicht angegeben. Ich habe absolutes Glyzerin und verschiedene Verdünnungen ausprobiert.

Osazonreaktion mit Methylphenylhydrazin besagt bei so geringer Zuckerkonzentration gar nichts. Ebenso wenig ist bewiesen, und ist überhaupt auf diese Art nachzuweisen, daß das Parenchym keinen Rohrzucker enthält. Wie steht es ferner mit der Behauptung, daß der Rohrzucker im Blattstiel „vorzuherrschen“ beginnt? Man vergleiche hierzu die nachfolgenden Ausführungen.

Was nun die gewichtsanalytischen Untersuchungen nach der Reduktionsmethode anbelangt, so wird ihre Zuverlässigkeit zwar infolge der Gegenwart unbekannter reduzierender Stoffe namentlich im Blatt etwas beeinträchtigt, aber zweifellos ist sie der Osazonmethode bei weitem vorzuziehen. Ich setze die Lindetschen Zahlen hierher, wobei ich den Rohrzuckergehalt auf 100 Teile Invertzucker sowie den prozentualen Durchschnitt zugefügt und den Invertzucker aus den Glukose- und Fruktoseanteilen berechnet habe. Dem genannten Autor kam es übrigens bei seinen Versuchen auf einen anderen Punkt, nämlich das Verhalten von Glukose und Fruktose an; Schlüsse bezüglich der Zuckerwanderung hat er hieraus zu ziehen vermieden. Er fand (Mengen in g):

| | Blattflächen | | | | | Blattstiele | | | | | |
|----------|-----------------|-------------------|---------|----------|------------------------------------|-----------------|-------------------|---------|----------|------------------------------------|-------|
| | In 100 cem Saft | | | | Rohrz. auf 100 In- vertz. | In 100 cem Saft | | | | Rohrz. auf 100 In- vertz. | |
| | Rohr- zucker | Invert- zucker | Glukose | Fruktose | | Rohr- zucker | Invert- zucker | Glukose | Fruktose | | |
| 3. Juli | 0,18 | 0,37 | 0,16 | 0,21 | 48,65 | 0,22 | 1,02 | 0,89 | 0,13 | 21,57 | |
| 10. " | 0,49 | 2,23 | 0,96 | 1,27 | 21,12 | — | — | — | — | — | |
| 12. " | 0,20 | 2,70 | 1,20 | 1,50 | 7,41 | 0,17 | 2,95 | 2,42 | 0,53 | 5,76 | |
| 17. " | 0,13 | 2,13 | 1,15 | 0,98 | 6,10 | — | — | — | — | — | |
| 19. " | 0,18 | 0,87 | 0,54 | 0,33 | 20,69 | 0,52 | 1,18 | 0,87 | 0,31 | 44,07 | |
| 20. " | 0,13 | 1,15 | 0,69 | 0,46 | 11,30 | 0,40 | 3,33 | 2,80 | 0,53 | 12,01 | |
| 24. " | 0,11 | 0,88 | 0,42 | 0,46 | 12,50 | 0,25 | 2,04 | 1,59 | 0,45 | 12,26 | |
| 9. Aug. | 0,37 | 1,25 | 0,71 | 0,54 | 29,60 | 0,60 | 1,82 | 1,71 | 0,11 | 32,97 | |
| 7. Sept. | 0,44 | 2,19 | 1,27 | 0,92 | 20,09 | 0,60 | 1,92 | 1,75 | 0,17 | 31,25 | |
| 8. Okt. | 0,32 | 1,66 | 0,78 | 0,88 | 19,28 | 0,57 | 1,61 | 1,24 | 0,37 | 35,40 | |
| | Durchschnitt | | | | | 19,67 | Durchschnitt | | | | 24,41 |

Pellet (a. a. O.) kam unabhängig von Lindet im selben Jahre auf ähnlichem Wege und zwar ebenfalls bei Studien über die Glukose- und Fruktoseverteilung, zu ganz entsprechenden Zahlen:

| | Blattfläche | | | | | Blattstiel | | | | |
|-----------|-----------------|-------------------|---------|----------|------------------------------------|-----------------|-------------------|---------|----------|------------------------------------|
| | In 100 cem Saft | | | | Rohrz. auf 100 In- vertz. | In 100 cem Saft | | | | Rohrz. auf 100 In- vertz. |
| | Rohr- zucker | Invert- zucker | Glukose | Fruktose | | Rohr- zucker | Invert- zucker | Glukose | Fruktose | |
| 18. Sept. | 0,25 | 0,83 | 0,66 | 0,17 | 30,12 | 0,40 | 2,83 | 2,33 | 0,50 | 14,23 |

Zu einigen eigenen Analysen wurden die Blattspreite nach Entfernung der größeren Nerven, Nerven natürlich inkl. Resten vom Parenchym der Spreite, und Stiele getrennt gepreßt. Das Einsammeln und Auspressen der Blätter geschah, wie bei den eben zitierten und den folgenden Versuchen, an Nachmittagen sonniger Tage¹⁾. Stets sofortiger Zusatz von HgSO_4 zum Preßsaft.

| | Blattflächen | | | Nerven | | | Stiele | | |
|----------|-----------------|--------------|----------------------------|-----------------|--------------|----------------------------|-----------------|--------------|----------------------------|
| | In 100 ccm Saft | | Rohrz. auf 100 Invertzuck. | In 100 ccm Saft | | Rohrz. auf 100 Invertzuck. | In 100 ccm Saft | | Rohrz. auf 100 Invertzuck. |
| | Rohrzucker | Invertzucker | | Rohrzucker | Invertzucker | | Rohrzucker | Invertzucker | |
| 25. Juli | 0,21 | 0,66 | 31,75 | 0,42 | 2,86 | 14,69 | 0,51 | 3,29 | 15,50 |
| 3. Sept. | 0,30 | 1,85 | 16,22 | 0,43 | 1,28 | 35,59 | 0,61 | 3,41 | 17,90 |

Sodann wurden bereits von Lindet die Blattstiele in ihren oberen und unteren Hälften auf den Zuckergehalt verglichen:

| | | In 100 ccm Saft g | | | | Rohrzuck. auf 100 g Invertz. |
|----------|--------------|-------------------|-------------|---------|----------|------------------------------|
| | | Rohrzuck. | Invertzuck. | Glukose | Fruktose | |
| 12. Juli | unterer Teil | 0,12 | 3,01 | 2,59 | 0,42 | 3,99 |
| | oberer „ | 0,21 | 2,89 | 2,28 | 0,61 | 7,27 |
| 26. Juli | unterer „ | 0,26 | 0,90 | 0,75 | 0,15 | 28,82 |
| | oberer „ | 0,30 | 0,90 | 0,72 | 0,18 | 33,33 |
| 26. Juli | unterer „ | 0,20 | 0,83 | 0,65 | 0,18 | 24,10 |
| | oberer „ | 0,14 | 0,91 | 0,67 | 0,24 | 15,39 |

Als Durchschnitt dieser 6 Analysen ergibt sich für den auf 100 g Invertzucker entfallenden Rohrzucker in den unteren Teilen 18,97 g und in den oberen 18,66 g.

In eigenen Analysen verglich ich den Preßsaft aus dem untersten Viertel und dem gesamten oberen Teil der Blattstiele:

| | Oberer Teil | | | | | Unterster Teil | | | | |
|----------|-----------------|--------------|---------|----------|-------------------------|-----------------|--------------|---------|----------|-------------------------|
| | In 100 ccm Saft | | | | Rohrz. auf 100 Invertz. | In 100 ccm Saft | | | | Rohrz. auf 100 Invertz. |
| | Rohrzucker | Invertzucker | Glukose | Fruktose | | Rohrzucker | Invertzucker | Glukose | Fruktose | |
| 16. Juli | 0,20 | 0,85 | 0,60 | 0,25 | 23,53 | 0,12 | 0,98 | 0,83 | 0,15 | 15,31 |
| 20. „ | 0,41 | 2,23 | 1,25 | 0,98 | 18,39 | 0,29 | 2,33 | 1,99 | 0,34 | 12,55 |

1) In 7 Uhr morgens gepflückten und ausgepreßten Blättern herrschte Invertzucker noch mehr vor. Die betr. Zahlen können wegen eines untergeordneten Fehlers hier nicht mitgeteilt werden. (Vgl. auch Brown und Morris, Journ. chem. Soc. Trans. 63, 604.)

Nun ist es gerade Strakosch gewesen, der aus seinen Befunden weitgehende Schlüsse über die Wanderung der Zucker und ihre Umsetzungen hierbei gezogen hat. Seine Schlüsse sind aber, selbst wenn die Unterlagen hierfür richtig wären, keineswegs zwingend. Denn bei der außerordentlichen Langsamkeit des Zuckertransportes (vgl. meine weiter unten mitgeteilten Versuche) könnte die eigentliche „Wanderung“, also der Übertritt von einer Zelle in die andere selbstverständlich selbst dann in Form von Invertzucker erfolgen, wenn dieser mit der Osazonmethode gar nicht und auch mit genaueren Methoden nur in geringen Mengen nachzuweisen wäre. Es braucht nur nach Art der (übrigens auch bei *Beta* im Blattstiel häufigen) transitorischen Stärke die Kondensierung des Invertzuckers zu Rohrzucker jedesmal nach Durchtritt durch die Plasmahaut zu erfolgen. Ich möchte dies besonders betonen, weil auch die anderen Autoren, wie z. B. Briehm und Strohmmer (a. a. O.) zu der Ansicht, es finde die Wanderung in Form von Rohrzucker statt, allein auf Grund von chemischen Analysen gekommen sind.

Wenn sich also auch aus der Lokalisierung der Zucker allein für die Wanderung noch keine bindenden Schlüsse ziehen lassen, so ist doch soviel klar, daß die oben angeführten Daten eher zu einer derjenigen von Strakosch entgegengesetzten Annahme veranlassen könnten. So findet offenbar im Blattstiel basalwärts keine Vermehrung des Rohrzuckergehaltes, sondern vielleicht eher eine Abnahme statt. Blattfläche, -nerven und -stiele unterscheiden sich nur recht unwesentlich im Rohrzuckergehalt, welcher seinerseits in keinem Teil des Blattes auch nur die Hälfte des Wertes für Invertzucker erreicht, meist sogar noch beträchtlich kleiner ist. Der „vorherrschende“ Zucker im gesamten Laube ist demnach der Invertzucker.

Was die von Strakosch aus seinen Beschattungsversuchen auf die Ableitung gezogenen Schlüsse betrifft, so möchte ich von einer Diskussion derselben der Kürze halber absehen, zumal ihnen dieselbe unsichere Methodik zugrunde liegt und die mitgeteilten Daten, selbst wenn sie zuträfen, noch nicht beweisend sein würden.

Zweifellos sind als Hauptmomente für die bisher in der botanischen und landwirtschaftlichen Literatur so häufig und unzutreffend erörterte Frage des Zuckertransportes bei *Beta*, lediglich zwei Punkte entscheidend:

1. Die Permeabilität der in Betracht kommenden lebenden Zellen und

2. Das Konzentrationsgefälle der Gewebe in bezug auf jede einzelne der permeierenden Zuckerarten¹⁾.

Betrachten wir zunächst Punkt 1, so wäre eine Untersuchung durch das Studium der endosmotischen oder exosmotischen Vorgänge denkbar. Der letztere Weg, den z. B. Puriewitsch für die Reservestoffbehälter beschritten hat, ist nur für solche Fälle geeignet, in denen das zu prüfende Gewebe besonders reich an dem betreffenden Stoffe ist, oder dieser sich mindestens besonders leicht nachweisen bzw. quantitativ bestimmen läßt; beides trifft für unseren Fall nicht zu. Ferner ist aber noch zu berücksichtigen, daß ein exosmotischer Versuch, der notwendigerweise den natürlichen Verhältnissen Rechnung tragen müßte, hier kaum durchführbar wäre, insofern kaum angegeben werden könnte, welche Zusammensetzung der umspülenden Flüssigkeit zu geben wäre. Reines Wasser usw., wie bei den Versuchen von Puriewitsch wäre natürlich hier ganz unzulässig. Geeigneter wäre schon eine dem Gehalt der Wurzel entsprechende Rohrzuckerlösung, wobei aber immer noch unberücksichtigt bleiben würde, daß bei der Wanderung nicht die Differenz von Ausgangspunkt und Endziel, sondern die Konzentrationsunterschiede in bezug auf alle drei Zuckerarten auf allen Etappen von Zelle zu Zelle maßgebend sind und auf dem langen Wege durch Nerven und Blattstiel bis zur Wurzel sicherlich manche Schwankungen aufweisen werden.

Einen ununterbrochenen Rohrzuckerstrom, wie ihn die früheren Autoren nach dem Vorgange Czapeks annahmen, haben wir gemäß Punkt 2 nun keinesfalls zu erwarten. Vielmehr wird mindestens der Übertritt in die Wurzel infolge ihres ständigen hohen Rohr-

1) Maquenne („Sur le rôle de l'osmose dans la végétation et l'accumulation du sucre dans la betterave, Ann. Agron. 22, 1896, S. 1) kommt, wie hier beiläufig erwähnt sei, zu dem Satz, daß jeder lösliche Stoff an einer Stelle des Organismus gespeichert werden könne, wenn seine Bildung dort zu einer Erniedrigung des osmotischen Druckes führe. Er sieht demgemäß in dem niedrigeren osmotischen Druck der Rohrzuckerlösungen im Vergleich zu gleichprozentigen Glukoselösungen ein wesentliches Agens beim Zuströmen zum Ort der Speicherung, worin ihm Czapek (a. a. O.) beistimmt. Damit ist aber natürlich nur der eine der oben genannten beiden Punkte, das Konzentrationsgefälle berührt. Ein „Anstoß zum Zuströmen neuen Bildungsmaterials von höherem osmotischem Werte“ braucht damit noch nicht gegeben zu sein, da die erforderliche Regulierung der Produktion osmotisch wirksamer Substanz (Pfeffer, Druck und Arbeitsleistung, S. 303) auch auf andere Weise erfolgen könnte. Eine unmittelbar notwendige Folge solcher Herabsetzung des Turgors wäre lediglich der Einstrom von Wasser, soweit der gleichzeitig steigende Gegendruck der Zellmembran dies zuläßt.

zuckergehaltes (vgl. Abschnitt II b) in Invertzuckerform erfolgen müssen.

Wie sich die Verhältnisse auf den übrigen Wegabschnitten gestalten, läßt sich im einzelnen aus den mitgeteilten analytischen Daten natürlich nicht ersehen. Dagegen fällt auf, daß am Grunde der Blattstiele, bzw. in diesen als ganzem, verglichen mit der Spreite, die Konzentration von Fruktose fast stets wesentlich geringer ist als in der Spreite. Ob es sich allerdings hierbei um ein kontinuierliches Gefälle handelt, ist aus diesen Daten nicht zu ersehen. Im Gegensatz hierzu sind die Konzentrationen von Rohrzucker im Blattstiel, bzw. an dessen Grunde fast stets und von Glukose mit einer Ausnahme stets höher als in der Spreite.

Betrachten wir zunächst einmal hierzu die Permeabilitätsverhältnisse, wie sie sich uns nach der endosmotischen Methode darstellen. Diese gestattet in unserem Falle eine qualitative und eine quantitative Anwendung. Erstere beruht auf der Zuführung von Zucker zu den entstärkten Blättern.

Bei seinen bekannten Studien mit verschiedenen Pflanzen hatte bereits vor geraumer Zeit Arthur Meyer¹⁾ u. a. auch *Beta vulgaris* berücksichtigt. Ich habe diese Versuche nochmals und zwar zum ersten Male ganz steril durchgeführt, um etwaige Umsetzungen, namentlich des Rohrzuckers, in der Versuchsflüssigkeit²⁾ auszuschließen. Zu den Versuchen wurden die reinsten Kahlbaumschen Präparate benutzt. Als Rohrzucker diente ein schön kristallisiertes Produkt, welches nur minimale Spuren von Invertzucker enthielt, die in keiner Weise für die Stärkebildung in Frage kommen konnten.

Versuch 10. Zuckerrübenblätter wurden am 25. Juni auf 48 Stunden verdunkelt. Das Parenchym der Spreite erwies sich dann nach der Sachsschen Jodprobe als stärkefrei. Sie wurden darauf (27. Juni) in einer 0,5—1 ‰ wässerigen Sublimatlösung 15—30 Minuten untergetaucht belassen, was sie meistens ganz gut vertrugen, dann sorgfältig in mehrfach gewechseltem destilliertem Wasser abgespült. Darauf wurden steril kleine Stücke der Spreite

1) Arthur Meyer, Bildung der Stärkekörner aus Zuckerarten, Mannit und Glycerin. Bot. Zeitg., 44, 1886, S. 81.

2) Meyer wechselte die Kulturflüssigkeit öfter und prüfte sie auf Invertzucker. Wenn sich dieser auch als sehr gering herausstellte, so bleibt immerhin nicht gänzlich ausgeschlossen, daß gerade an der Blattoberfläche Spaltungen durch Mikroorganismen eine gewisse Rolle spielten.

entnommen und mit der Oberseite schwimmend auf die Zuckerlösungen gelegt, die durch Filtrieren mittels Chamberland-Kerzen steril gemacht waren. Daneben wurden Versuche ohne Wahrung der Sterilität mit gleichem Erfolge durchgeführt. Nach Ablauf einiger Tage wurden Probestückchen makroskopisch oder mikroskopisch in bekannter Weise nach Chlorophyllentziehung mit Jod behandelt.

| Lösung | 29. Juni | 2. Juli | 5. Juli |
|-----------------|---|---|---|
| 0,5 % Fruktose | 0 | 0 | Am Rande ¹⁾ und längs der Adern zart violett |
| 0,5 % Glukose | 0 | Am Rande und längs der Adern sehr zart blau | Etwas intensiver blau |
| 0,5 % Rohrzuck. | Hier und da Spuren von Bläuung | Rand und längs der Nervatur blau | Intensiver |
| 1,5 % Fruktose | Rand und längs der Nerven zart bläulich | Intensiver | Ziemlich breite blaue Zone um den Rand |
| 1,5 % Glukose | Wie vorstehend | Intensiver | Wie vorstehend |
| 1,5 % Rohrzuck. | Wie vorstehend | Intensiver | Wie vorstehend |
| 3 % Fruktose | Wie vorstehend | Intensiver | Breite Randzone, intensiv blau |
| 3 % Glukose | Wie vorstehend | Intensiver | Wie vorstehend |
| 3 % Rohrzucker | Wie vorstehend | Intensiver | Wie vorstehend |

Gleichsinnig verliefen auch die übrigen Versuche, bei denen die Zucker auch noch in höheren Konzentrationen zur Anwendung kamen. Es zeigte sich also, übereinstimmend mit den Versuchen Meyers, daß alle drei Zuckerarten in das Blatt aufgenommen wurden. Der Rohrzucker übt hierbei einen etwas größeren Effekt aus als die Monoselösungen von gleichem Prozentsatz und zwar wohl infolge seines größeren Moleküls, da er an und für sich (vgl. unten) etwas langsamer als jeue permeiert.

Da eine Abscheidung von Invertase aus lebenden *Beta*-Zellen niemals beobachtet wurde, so ist hiermit auch deren Durchlässigkeit für Rohrzucker dargetan. Daß sich die Permeabilität etwa nur auf die Epidermiszellen beschränkt, und in ihnen vor der Weiter-

1) Rand = Schnitttrand: der unverletzte Blattrand verhielt sich wie die inneren Partien.

wanderung erst eine Inversion stattfinden muß, war schon angesichts des Verhaltens der Schnittträger unwahrscheinlich. Doch wurden zur Sicherheit noch zwei analoge Versuche wie oben mit 1,5 % Rohrzuckerlösung und solchen gefäßbündelfreien Chlorenchymbruchstücken durchgeführt, deren Epidermen abgetrennt worden waren (was bei etwas fleischigeren Blättern leicht auszuführen ist). Das Resultat war, daß hier entsprechend der durch die Cuticula nicht behinderten Endosmose sich die Bläuung über die ganze Fläche gleichmäßig erstreckte.

Ähnliche Versuche wurden auch mit Blattstielen, und zwar mit Längsschnitten durch diese, gemacht. Verdunkelt man die Stiele etwa 48 Stunden, so ist die Stärke zwar keineswegs aus der Stärkescheide und den Schließzellen, wohl aber vollständig aus den blassen Chloroplasten der langgestreckten Parenchymzellen zwischen Epidermis und Gefäßbündel verschwunden. Schon nach eintägigem Verweilen der Längsschnitte in 5 % Rohrzucker, Glukose, Fruktose und der in Versuch 11 angegebenen meisten übrigen Zucker kann man unter dem Mikroskop mit Jod in den Chloroplasten die neuen winzigen Stärkekörner wahrnehmen.

Bei dieser Gelegenheit seien noch einige Versuche mit anderen Zuckern erwähnt, die ich zur Ergänzung der früheren Meyerschen ausführte, um zu sehen, aus welchen Zuckern, bzw. ähnlichen Stoffen *Beta*-Blätter überhaupt Stärke zu bilden vermögen. Die mit * bezeichneten Stoffe sind schon von Meyer mit gleichem Resultat geprüft worden.

Versuch 11.

A) Zucker.

Trisaccharid: Raffinose, 5-proz. Lösung, mäßig viel Stärke in 6 Tagen.

Disaccharide: *Rohrzucker (Versuch 10).
Maltose, 5-proz. Lösung, mäßige Stärkebildung in 5 Tagen.

Monosaccharide:

Hexosen, Galaktose, 5-proz. Lösung, in 10 Tagen nur mikroskopisch Spuren von Stärke wahrzunehmen.

*d-Glukose (Versuch 10).

*d-Fruktose (Versuch 10).

d-Mannose, 7,5-proz. Lösung, in 7 Tagen sehr wenig Stärke.

Sorbose, 7,5-proz. Lösung, nach 7 Tagen nur mikroskopisch Stärke nachzuweisen.

Pentosen: Arabinose, 5-proz. Lösung, dauernd keine Stärke.

Xylose: wie Arabinose.

(Methylpentose) Rhamnose, 7,5-proz. Lösung, in 5 Tagen Spuren von Stärke mikroskopisch.

B) Höherwertige Alkohole.

*Glyzerin, 10-proz. Lösung, nach 5 Tagen Spuren von Stärke.

*Erythrit, 10-proz. Lösung, nach 6 Tagen keine Stärke.

*Mannit, wie Erythrit.

*Dulcit, 3-proz. Lösung, wie Erythrit.

Ganz negativ verliefen die Versuche demnach nur mit den Pentosen und den höherwertigen Alkoholen ausschließlich des Glyzerins. Die Frage der Permeabilität der Zucker habe ich nicht weiter untersucht und muß also die Frage, in wie weit die ausgebliebene oder nur geringe Stärkebildung etwa nur auf mangelndem Import in die Zelle beruht, so wenig wahrscheinlich dies wäre, offen lassen. Die höherwertigen Alkohole werden dagegen leicht aufgenommen. Bezüglich derjenigen Zucker mit dauernd sehr geringer Wirkung muß ich es dahingestellt sein lassen, ob nicht doch z. T. hier Spuren beigemengter Glukose o. dgl. im Spiele war. Eine exakte Entscheidung dürfte auch auf nicht unerhebliche Schwierigkeiten stoßen.

Wir kehren nach dieser kurzen Abschweifung zur Permeabilitätsfrage zurück. Diese wurde auch durch Messungen nach der plasmolytischen Methode, welche in letzter Zeit von Lepeschkin ¹⁾ und Tröndle ²⁾ mit gutem Erfolge für Elektrolyte auf Grund einer Vergleichung ihrer theoretisch berechneten und empirisch gefundenen isotonischen Koeffizienten angewendet worden ist. Für den vorliegenden Fall der Zuckerarten würde sich die Berechnung durch den Wegfall der Dissoziation, natürlich noch etwas einfacher gestalten.

Bezeichnen wir mit P den Turgordruck der Zelle und den theoretisch höheren, praktisch aber nur der Grenzkonzentration

1) Vgl. u. a.: „Über den Turgordruck in vakuolisierten Zellen“. Ber. Deutsch. Bot. Ges., 26 a, 1908, S. 198.

2) Der Einfluß des Lichtes auf die Permeabilität der Plasmahaut. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVIII, 1910, S. 171.

des permeierenden Zuckers Z' entsprechenden Druck als P' , so wird sein Permeabilitätskoeffizient $\mu = 1 - \frac{P}{P'}$, wenn er durch Vergleichung mit einem nicht permeierenden, ebenfalls nicht ionisierten Stoffe Z gefunden werden soll, naturgemäß ohne weiteres gleich der Differenz von 1 und dem Quotienten der molekularen Konzentrationen beider Stoffe $\mu = 1 - \frac{C_z}{C_{z'}}$ sein.

Die Bestimmungen des in den Chlorenchymzellen des Blattes herrschenden Druckes werden durch eine gewisse diesbezügliche Ungleichmäßigkeit (es finden sich Differenzen von 0,05—0,2 m) der Zellen erschwert. Die große Masse der Palissadenzellen stimmt aber wenigstens einigermaßen überein. Der Druck im Schwammparenchym ist im Durchschnitt ein klein wenig niedriger, ebenso wie übrigens auch in den Epidermen.

Der Turgordruck im Parenchym des Blattstiels pflegt ungefähr ebenso hoch wie in den Epidermen des Blattes und von den Chlorenchymzellen in denen mit den niedrigsten Drucken zu sein, und ist jedenfalls deutlich niedriger als in der großen Masse der letzteren. Die Dehnungen der Zellmembran durch die Turgorspannung sind nirgends erheblich.

Wie die nachstehenden Angaben zeigen, ist die Permeabilität der Blattzellen von *Beta* für Monosen weit geringer als sie Tröndle für das Chlorenchym in *Tilia cordata*¹⁾ beschreibt, trotzdem er nur eine Plasmolysendauer von 25 Minuten anwandte.

Bei den Messungen wurde auch von mir als Vergleichssubstanz Rohrzucker gewählt, für den, wie oben gezeigt wurde, die Plasmahaut zwar auch eine gewisse Durchlässigkeit zeigt, die jedoch erst bei einer vielständigen Versuchsdauer für die Messung merkbar wird.

Solche vielständige Versuchsdauer, welche ich in der Hoffnung, größere Ausschläge zu erhalten, mehrfach anwandte, bringt allerdings manche Bedenken mit sich. Die Möglichkeit, daß innerhalb der Versuchszeit Änderungen im Turgordruck stattfinden, so daß beim Steigen desselben zu hohe, beim Sinken zu niedrige Werte für μ gefunden würden, läßt sich an den Grenzkonzentrationen für Rohrzucker noch hinreichend kontrollieren.

1) A. a. O., S. 250 f. Bezüglich der Glukoseaufnahme von *Tilia*-Blättern habe ich keine eigenen Erfahrungen; ich kann jedoch die Angaben Tröndles betr. das Eindringen von NaCl in *Burus*-Blattzellen durchaus bestätigen, ebenso den erheblichen Einfluß der Beleuchtung auf die Permeabilität dieses Objektes für NaCl.

Da nach meinen Erfahrungen die Durchlässigkeit der Zellen, wie die Exosmoseerscheinungen dartun (vgl unten), wohl infolge Sauerstoffmangels bei höherer Temperatur schon in wenigen Tagen merklich größer wird, führte ich einige Parallelversuche im Zimmer und im Eisschrank bei + 5° C aus, welche indessen zeigten (unter Berücksichtigung einer allein durch die niedere Temperatur möglichen Herabsetzung der Permeabilität¹⁾, daß innerhalb 24 Stunden diese Verhältnisse keine Rolle spielen. Auch wurde mehrfach dafür gesorgt, daß die Schnitte in der Nähe der Flüssigkeitsoberfläche verblieben, doch genügt vielleicht für solche Zeitdauer bereits der Sauerstoffvorrat des Intercellularsystems.

Es dürfte genügen, nur eine der zahlreichen Messungen genauer vorzuführen.

Versuch 12. Versuchspflanze war eine über 2 Monate alte Zuckerrübe; die eine Blatthälfte war vom 21. Juni morgens ab mit Stanniol bedeckt worden. Es herrschte sonniges Wetter; am 22. Juni, 2 Uhr nachm. wurde das Blatt entnommen. Temperatur im Freien 27° C, Temperatur der Lösungen 21° C. Dauer der Plasmolyse: 1 Stunde²⁾.

1. Blattspreite, Palissadenzellen. P = Plasmolyse.

| Konzentration | Rohrzucker | Glukose | Fruktose |
|---------------|---------------------------------------|--|-----------------------|
| 0,80 m | Meist deutliche P | Nur vereinzelt P | Ganz vereinzelte P |
| 0,85 m | Meist starke P, nur vereinzelt ohne P | Nur vereinzelt P | Ganz vereinzelte P |
| 0,90 m | Wie vorstehend | Nur vereinzelt ohne, sonst deutliche P | Nur vereinzelt ohne P |
| 0,95 m | Überall P | Überall P | Überall P |

Beide Blatthälften, verdunkelte und besonnte, verhielten sich gleich. Nach 24-stündiger Plasmolyse ergibt sich:

| Konzentration | Rohrzucker | Glukose | Fruktose |
|---------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 0,80 m | P fast überall verschwunden | P überall verschwunden | P überall verschwunden |
| 0,85 m | Wie vorstehend | P fast überall verschwunden | P fast überall verschwunden |

1) Vgl. van Rysselberghe, Bull. de l'Acad. roy. de Belgique, No. 3, 1901.

2) Diese von Lepeschkin für solche Versuche vorgeschlagene Plasmolysedauer ziehe ich der von Tröndle gewählten kürzeren (25 Minuten) vor.

Fortsetzung der Tabelle.

| Konzentration | Rohrzucker | Glukose | Fruktose |
|---------------|----------------|-------------------|------------------------|
| 0,90 m | Fast überall P | P meist vorhanden | P meistens verschwund. |
| 0,95 m | Überall P | Überall P | Überall P |

Eine Zwischenkontrolle nach 17-stündiger Plasmolyse hatte übrigens schon obiges Resultat ergeben.

2. Blattstiel, Längsschnitte durch den unteren Teil; Dauer der Plasmolyse 1 Stunde.

| Konzentration | Rohrzucker | Glukose | Fruktose |
|---------------|-------------------|------------|--------------|
| 0,70 m | Meist noch ohne P | Ohne P | Ohne P |
| 0,75 m | Fast überall P | Vielfach P | Vereinzelt P |
| 0,80 m | Starke P | P | P |

Nach 24-stündiger Plasmolyse ergab sich:

| Konzentration | Rohrzucker | Glukose | Fruktose |
|---------------|------------|---------|--------------|
| 0,70 m | Keine P | Keine P | Keine P |
| 0,75 m | Vielfach P | Meist P | Vereinzelt P |
| 0,80 m | Starke P | P | P |

Man wird auf Grund dieser und ähnlicher Versuche den Permeabilitätskoeffizienten der Chlorenchymzellen des Blattes für die beiden Monosaccharide, bezogen auf 1-stündige Plasmolyse, höchstens $\mu = 0,1$ annehmen dürfen, für die Blattstielparenchymzellen würde er nur etwa $\mu = 0,05$ betragen; genauere Werte sind nach den erhaltenen Ausschlägen nicht anzugeben. Auf jeden Fall ist die Permeabilität für Rohrzucker stets sichtlich geringer als für Monosaccharide, und unter diesen permeiert die Fruktose wieder etwas leichter als die Glukose. Ein deutliches und meßbares Ansteigen der Permeabilität für eine der Zuckerarten bei sonnigem Wetter konnte im allgemeinen nicht erkannt werden, doch können einige meiner Versuche vielleicht auch im Sinne der Erfahrungen Tröndles gedeutet werden.

Eine besondere Erwähnung erfordern bei diesen Versuchen die Siebröhren, die ja wiederholt als Organe zur Zuckerbeförderung *κατ' ἐξοχίην* angesprochen worden sind. Ich habe ihnen deshalb besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Die Beobachtung ist wegen

der Länge und erheblicheren Schmalheit der Siebröhren schwieriger als bei den übrigen Zellen und konnte nur an entsprechend dünnen Schnitten und bei Anwendung einer besonderen Intravitalfärbung durchgeführt werden, welche auf S. 235 beschrieben ist. Diese Methode gestattet es, diejenige die Isotonie der Außenlösung anzeigende minimale Abhebung des Plasmaschlauches von der Wandung zu erkennen, welche bei Zellen von so geringem Volumen (im Vergleich zu den meisten Grundgewebszellen) bereits einen relativ bedeutenden Ausschlag darstellt.

Der Druck innerhalb der verschiedenen Elemente des Leptoms ist nach meinen Erfahrungen gleich, aber etwas geringer als im umgebenden Parenchym. Nachstehende Zahlen beziehen sich auf das Leptom der Blattstiele mit steter besonderer Rücksicht auf die Siebröhren.

Versuch 13. 25. Juni 12 Uhr Nachm. Stiele eines ausgewachsenen Blattes einer über zwei Monate alten Zuckerrübe. Sonniges Wetter. Temperatur im Freien $+ 24,5^{\circ}$; Temp. der Lösung $+ 20,5^{\circ}$.

1. Resultate nach 1-stündiger Plasmolyse (= P):

| Konzentration | Rohrzucker | Glukose | Fruktose |
|---------------|-----------------------|---------------------|----------------|
| 0,60 m | Meist deutliche P | Nur hier und dort P | Vereinzelte P |
| 0,65 m | Fast überall starke P | Etwa 50 % P | Vielfach P |
| 0,70 m | Überall starke P | Fast überall P | Fast überall P |
| 0,75 m | Überall P | Überall P | Überall P |

2. Nach 24-stündiger Beobachtung:

| Konzentration | Rohrzucker | Glukose | Fruktose |
|---------------|---------------|----------------|----------------|
| 0,65 m | Vereinzelte P | Keine P | Keine P |
| 0,70 m | Häufige P | Hier und da P | Wie Glukose |
| 0,75 m | Starke P | Fast überall P | Fast überall P |

Diese und die Zahlen ähnlicher, unter verschiedenen Umständen und zu verschiedenen Zeiten wiederholter Versuche lehren, daß von einer erhöhten Permeabilität für einen der Zucker im Leptom keine Rede sein kann. Das gleiche gilt auch für das der Nerven der Blattspreite und der Wurzel. Ich kann daher für *Beta*

die Auffassung Czapeks¹⁾ von der Rolle des Leptoms bei der Zuckerleitung nicht teilen. Bei gleichen Permeabilitätsverhältnissen werden die *Beta*-Siebröhren in dieser Beziehung infolge ihres sehr geringen Volumens und trotz ihrer etwas gestreckten Form schwerlich neben dem umgebenden Parenchym erheblich in Betracht kommen²⁾. Auch ließen sich keine Anhaltspunkte dafür auffinden, daß die Siebröhren reicher an Zucker als das umgebende Gewebe wären, wie dies Peklo (a. a. O.) für die Wurzel behauptet hat.

Recht bemerkenswert ist die bei allen Plasmolysen gemachte Erfahrung, daß bereits nach 1-stündiger Versuchszeit eine Verringerung der anfänglichen Permeabilität für Monosaccharide eintritt, und daß sie, sofern die Zellen unbeschädigt bleiben, nach Verlauf einiger weiterer Stunden sogar praktisch auf den Wert 0 herabsinkt, wie dies auch die oben angeführten Zahlen erkennen lassen. Genaueres über diese interessanten Vorgänge, speziell eine zahlenmäßige Darstellung der Änderungen von μ während der entscheidenden Zeit von 24 Stunden, kann ich der geringen Ausschläge wegen nicht angeben. Es handelt sich hier offenbar um selbstregulatorische Vorgänge, die an einem geeigneteren Objekt demnächst genauer beschrieben werden sollen. Hier sei nur noch erwähnt, daß Schnitte, welche zu solchen Versuchen gedient haben, nach mehrstündigem Verweilen in destilliertem Wasser von neuem auf plasmolytischem Wege eine anfängliche Invertzuckeraufnahme und baldige Sistierung derselben erkennen lassen. Vermutlich liegt diesem Verhalten die mangelnde Weiterleitung bzw. unmögliche Abgabe der aufgenommenen Zucker an die höher konzentrierte Außenlösung zugrunde. Darauf deutet wenigstens außer dem eben angeführten Faktum noch das abweichende Verhalten der Schnitte aus entstärkten Blättern oder Blattstielen.

Im ganzen muß die geringe Permeabilität der *Beta*-Zellen, in denen der Zuckertransport eine so enorme Rolle spielt wie in wenigen anderen Pflanzen, überraschen. Es sei dahingestellt, ob zum Verständnis dieses Sachverhaltes neben der langen Zeit, welche

1) Sitz.-Ber. Akad. d. Wiss., Wien, I. Abt., Bd. 106, 1907, S. 117.

2) Um so weniger, als hier nicht einmal das ganze Volumen, sondern nur der dünne plasmatische Wandbelag der Siebröhren in Frage käme. Denn nur er bietet kontinuierliche Bahnen (Siebplatten!). Der Weg durch die Siebröhrenvakuolen mit ihren schwer permeablen Häuten wäre von dem durch das Parenchym nicht grundsätzlich verschieden.

zur Erreichung des Endeffektes in der Wurzel zur Verfügung steht, der Hinweis auf die verhältnismäßig geringe Entfernung ausreicht, die der Zucker in einer Pflanze von rosettigem Wuchs von seinem Entstehungsort bis zum Speichergewebe der Wurzel zurückzulegen hat.

Was die Ausgangsfrage unserer Betrachtung, in welcher Form der Zucker aus den assimilierenden Organen der Wurzel zuströmt, anbetrifft, so folgt zunächst aus den Permeabilitätsversuchen die Möglichkeit der Wanderung in allen drei Formen, d. h. als Rohrzucker, Glukose und Fruktose. In der Tat ist, da zweifellos alle drei in Blattspreite und -stiel vertreten sind, kein Grund einzusehen, weshalb nicht auch alle drei als solche wandern sollten.

Indessen muß doch der bei den plasmolytischen Versuchen zutage getretenen Durchtrittsfähigkeit der Monosaccharide, gerade in Ansehung der Langsamkeit der Wanderung, eine besondere Bedeutung zukommen.

Auf eine derartige vorwiegende Wanderung der Monosaccharide deutet auch das Vorherrschen derselben in Spreite und Blattstiel, da sonst keine Umstände dagegen sprechen. Ausschließlich in Form von Monosacchariden muß gemäß dem Konzentrationsgefälle der Zuckerübertritt vom Blattstielgrund in den eigentlichen Rübenkörper erfolgen.

Wie sich im einzelnen die Wanderung auf den übrigen Wegabschnitten gestaltet, ist schwer zu sagen. Auf eine gewisse Rolle der Fruktose beim Zuckertransport scheint die fast überall festgestellte geringere Konzentration derselben basalwärts als in der Spreite zu deuten, ein Umstand, der die Annahme eines kontinuierlichen Konzentrationsgefälles nach unten doch sehr nahe legt. Da es in der Tat bereits gelungen ist¹⁾, durch verdünnte Alkalien eine Umwandlung von Glukose in Fruktose zu erzielen, so wird, wie es übrigens v. Lippmann²⁾ bereits vor Jahren ausgesprochen hat, der Pflanze wohl ebenfalls eine solche Fähigkeit zuzuerkennen sein, und auch die weitere, nötigenfalls umgekehrt Glukose aus Fruktose durch Umlagerung zu bilden. Es würde also aus der der Wurzel zuströmenden Fruktose, nach partieller Umwandlung derselben in Glukose, Rohrzucker kondensiert werden können. Daß derartige Möglichkeiten bestehen, darauf deutet m. E. auch der Umstand, daß der

1) Lobry de Bruyn, Ber. D. chem. Ges., 28, 3078.

2) Zeitschr. Ver. Zuck.-Ind., 39, 650.

Invertzucker am Blattstielgrunde, also kurz vor Eintritt in das Speichergewebe sehr ungleiche Anteile seiner beiden Komponenten aufweist. Das erhebliche Plus an Glukose, welches dort stets nachweisbar ist, würde ja auch, da für diesen Zucker offenbar ein Konzentrationsgefälle nach oben hin besteht, keinesfalls ganz auf Grund einer Glukosewanderung entstanden sein können, sondern muß mindestens z. T. auch durch Umsetzungen aus Rohrzucker und wohl auch aus Fruktose dort sekundär gebildet sein.

Für das Verständnis des Vorkommens der einzelnen Zuckerarten in den verschiedenen Partien des Blattstiels usw. ist neben einem lokalen Verbrauch jedenfalls immer die Möglichkeit im Auge zu behalten, daß dieselben nur vorübergehend dort durch Umlagerung bzw. Kondensierung entstanden sind, um das für die Wanderung nötige Konzentrationsgefälle aufrecht zu erhalten. Beim Rohrzucker kann es sich auch um Turgorregulationen handeln, die sich z. T. als nötig erweisen könnten, wenn es infolge gesteigerter Zuckerproduktion zu vorübergehenden Stauungen der Monosaccharide kommt.

b) Die Wurzel.

Für die wichtige, mehrfach erwähnte Tatsache, daß die Wurzel während der Zeit der Speicherung fast nur Rohrzucker und daneben nur sehr wenig Invertzucker enthält, und daß dies namentlich auch für die sog. „Rübenköpfe“ gilt, kann ich auf die Wiedergabe meiner älteren Analysen verzichten, da inzwischen hierüber die einschlägigen, wichtigen Daten Stephanis¹⁾ erschienen sind, aus denen ich die folgenden, auf Zuckerrüben bezüglichen zitiere. Der genannte Autor fand am:

| | 2. Juli | 16. Juli | 10. Aug. | 24. Aug. | 7. Sept. | 21. Sept. | 5. Okt. |
|-------------------------------------|---------|----------|----------|----------|----------|-----------|---------|
| Rohrzucker (Polarisation) | 7,08 | 8,48 | 8,32 | 10,87 | 13,47 | 13,57 | 15,41 |
| Invertzucker auf 100 Teile Rohrz. | 1,31 | 0,96 | 1,38 | 0,60 | 0,54 | 0,86 | 0,53 |
| Desgleichen in den Rübenköpfen . . | — | — | 1,26 | 0,64 | 0,61 | 1,07 | 0,56 |

Eine eigene, schon am 8. Juni ausgeführte Analyse ergab, allerdings nach einer längeren Periode trocknen sonnigen Wetters, in der das Wachstum gegenüber der Assimilation besonders zurückgetreten war, einen Gehalt von 6,23 % Rohrzucker und einen solchen von 1,52 % Invertzucker auf 100 Teile Rohrzucker. Am

1) A. a. O., S. 154, Tabelle X.

18. Juni betragen die betr. Zahlen 7,55 und 1,44 %. Der der Wurzel während der ersten Vegetationsperiode zuströmende Zucker wird also offenbar sogleich von ihr zu Rohrzucker kondensiert. Der Invertasegehalt der wachsenden Wurzel, sowie der Umstand, daß dieselbe während des Wachstums etwas mehr Invertzucker als am Schlusse enthält, machen es wahrscheinlich, daß bei der gleichmäßigen Verteilung des Rohrzuckers im gesamten Speichergewebe Wanderungen in Invertzuckerform nicht ganz fehlen werden, falls dieser Invertzucker nicht etwa nur für Wachstumszwecke gebildet wird. Ein vollständiger Ausgleich im Rohrzuckergehalt aller Wurzelpartien ist bekanntlich (S. 204) auch zum Schluß noch nicht erreicht.

Ich habe eine Reihe plasmolytischer Versuche ausgeführt, um die Permeabilität der Zellen in verschiedenen Stadien der Wurzelentwicklung zu untersuchen. Zu genauen Turgordruckmessungen sind bisher meist mit Recht Zellen mit gefärbtem Zellsaft oder mit Chlorophyllkörnern, die Umrißänderungen des optischen Querschnittes des Plasmaschlauches ebenfalls oft gut erkennen lassen, verwandt worden. Bei den *Beta*-Wurzelzellen, in denen die entscheidenden schwachen Plasmolysen meist recht schwer zu erkennen sind, habe ich mir mit der bereits auf S. 231 erwähnten Intravitalfärbung geholfen, welche auf der raschen Aufnahme der Toluylennitrobase durch die Zellen beruht. Man erhält relativ stabile, übersättigte Lösungen dieses sonst schwer löslichen Körpers, wenn man die Lösung des käuflichen Hydrochlorids oder eines anderen Salzes schwach alkalisch macht¹⁾. Die *Beta*-Zellen speichern den -Stoff sehr reichlich im Zellsaft, und zwar zunächst diffus; später bilden sich Tröpfchen, die zu Boden sinken und dort schließlich zu einem großen Tropfenkonglomerat vereint liegen bleiben. Ich vermute, daß der die Speicherung der Base bedingende Inhaltkörper vielleicht die Hydrokaffeesäure o. dgl. ist, aus der v. Lippmann²⁾ die Entstehung des in der Rübe sehr wahrscheinlich vorhandenen Brenzkatechins ableitet.

Das erste, diffuse Stadium dieses Prozesses bietet nun Bilder, die Schnitten der roten Rübe ganz gleichkommen. Auch das zweite Tröpfchenstadium ist noch ausgezeichnet brauchbar. Die Färbung wurde, da die Zellen sie nur $\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden vertragen,

1) Ruhland, Beiträge zur Kenntnis der Permeabilität der Plasmahaut. Jahrb. f. wiss. Bot., 1908, S. 1.

2) Ber. Deutsch. Chem. Ges., XX, 3289.

so ausgeführt, daß erst am Schlusse der Plasmolyse die Schnitte in frische Zuckerlösung übertragen wurden, der zuvor Spuren von Toluylenrot und Na_2CO_3 zugefügt worden war.

Diese Methode gestattet auch eine zuverlässige Beurteilung der Zellsaftreaktion. Es seien hier einige Bemerkungen darüber eingefügt. Die weitaus meisten Zellsäfte der Wurzel und der Blattepidermen zeigen die violettrote Ionenfarbe der dissoziierten Farbverbindung, sind also als sauer anzusprechen. Andere Zellsäfte, so auch in vielen Chlorenchymzellen des Blattes, spielen nach der Färbung mehr ins Himbeerrote und sind weniger sauer. Im Gegensatz zu diesen beiden zeigen alkalische Zellsäfte die sehr charakteristische, ziegelrote bis gelbrote Farbe der beigemischten bzw. vorherrschenden Moleküle der freien Farbbase. Diejenige H^+ -Ionenkonzentration, bei welcher der Umschlag der im Zellsaft enthaltenen Farbstoffverbindung erfolgt, ist $10^{-6,8}$ bis $10^{-8,0}$, kommt also dem durch $C_{\text{H}} = 0,8 \cdot 10^{-7}$ definierten Neutralitätspunkt recht nahe. Zellen der letzteren Art finden sich in der Wurzel und im Blattstiel mehr oder weniger vereinzelt im übrigen Parenchym. Besonders häufig, fast regelmäßig, zeichnen sich dagegen die langgestreckten, sehr schmalen Elemente des Siebteils durch alkalische Reaktion des Zellsaftes (sowie übrigens auch dadurch, daß sie fast stets einen um 0,05—0,15 m Rohrzucker niedrigeren Turgordruck als die Zellen der Zuckerscheide und die übrigen Parenchymzellen haben) aus. Da mir bestimmte Erfahrungen über die Bedeutung dieser merkwürdigen Erscheinung fehlen, möchte ich lieber davon absehen, Vermutungen in dieser Beziehung zu äußern¹⁾.

Ich möchte von einer tabellarischen Wiedergabe der Resultate meiner Plasmolysen mit Wurzelzellen der Kürze halber absehen, da die erhaltenen Permeabilitätswerte für die drei Zuckerarten sich nur knapp über die Fehlergrenze erhoben und jedenfalls noch erheblich geringer waren als im Laube. Eine gewisse etwas leichtere Wegsamkeit der Wurzelzellen für Invertzucker war nicht ganz zu verkennen, wenngleich sie nur wenig hervortrat. Beleuchtung übt keinen erkennbaren Effekt aus.

1) Schon in der bekannten Arbeit von Sachs über Reaktionen von Pflanzensäften finden sich Hinweise auf alkalische Reaktion des Siebteiles, die seitdem meist auf hohen Eiweißgehalt zurückgeführt wurde. Es handelte sich bei Sachs jedenfalls um angeschnittene Zellen (Zellsaft + Plasma).

Wie die Verteilung des Rohrzuckers im Speichergewebe der Wurzel sich vollzieht, ist nach ihren Permeabilitätsverhältnissen und in Anbetracht der enormen Langsamkeit der Wanderung nicht genau zu sagen. Die natürlichste Annahme, solange nichts dagegen spricht, ist wohl, daß der Rohrzucker sich als solcher im Wurzelgewebe verteilt. Daneben mögen, wie erwähnt, noch geringfügige Ausgleichsströmungen in Invertzuckerform stattfinden. Der Invertasegehalt der wachsenden Wurzel, welcher schon früh in der Hauptsache auf die jüngsten (äußersten) Zonen spezialisiert wird, steht offenbar im Dienste des durch den Zuwachs bedingten Stoffwechsels.

Während der Winterruhe findet außer dem Verbrauch durch die Atmung kein nennenswerter weiterer Zuckerumsatz statt (S. 214), erinnern wir noch an die im Abschnitt A festgestellte Tatsache, daß invertasische Fähigkeiten in diesem Stadium vermißt werden, so ist damit das Wichtigste über diese Periode gesagt.

Es fragt sich nun, unter welchen Bedingungen eine Änderung in diesem Verhalten eintritt. Eine solche wird namentlich zu Ende der Vegetationsruhe bzw. beim Austreiben zu vermuten sein. Invertase ist aber jedenfalls, wie im Abschnitt A gezeigt wurde, in austreibenden Rüben nicht aufzufinden. Eine merkliche Vermehrung des Invertzuckergehaltes tritt ferner, wie hier vorweggenommen sei, ebenfalls nicht ein.

Man wird geneigt sein, von vornherein aus diesen Tatsachen zu schließen, daß der Zucker den jungen Blättern als Rohrzucker zuwandert. Indessen haben wir gerade über diese Frage, welche übrigens in der Spezialliteratur fast gar nicht diskutiert worden ist, die zitierten Untersuchungen von Puriewitsch, welcher Rübenstücke in umgebendes Wasser sich „entleeren“ ließ, und am Schluß fast lediglich Invertzucker in der Kulturflüssigkeit vorfand. Dieselbe ergab in dem einen der quantitativen Versuche bei der Reduktion mit Fehlingscher Lösung 0,8755 g CuO vor und 0,8985 g CuO nach der Inversion, während bei dem zweiten die betr. Zahlen 0,758 bzw. 0,761 g waren.

Ich möchte gleich hervorheben, daß ich zu wesentlich anderen Ergebnissen bei derartigen Exosmoseversuchen gelangt bin, wenn die ersten dieser Art auch nicht in so besonderem Gegensatz zu denen von Puriewitsch zu verlaufen schienen.

Meine Versuchsanstellung entsprach im ganzen der bereits für solche Zwecke von Hansteen¹⁾ und Puriewitsch befolgten. Alle

1) Flora, Erg.-Bd. 1894, S. 419.

Kulturen wurden unter Wahrung der Sterilität bei allen dazu nötigen Operationen hergestellt, was auch ohne Verwendung des von Puriewitsch beschriebenen Glaskastens möglich war. Auch auf einen Zusatz irgendwelcher saurer Salze oder Säuren zur Kulturflüssigkeit „um die Entwicklung etwa noch vorhandener Bakterien zu verhindern“ und ebenso auf das Abspülen der Objekte in Formaldehyd verzichtete ich. Dem Innern der Zuckerrübe wurden mit einem scharfen Korkbohrer Zylinder von etwa 1—1,3 cm Durchmesser und 2—3 cm Höhe entnommen und auf kleine, etwa 1,5 cm hohe, oben mit einer Vertiefung versehene Gips säulchen aufgekipst, nachdem durch drei- bis vierstündiges Verweilen in einmal gewechseltem destilliertem Wasser der Rohrzucker aus den angeschnittenen Oberflächenzellen ausgelaugt worden war. Die Säulchen standen bis dicht unterhalb der Rübenstücke zu je 3 bis 4 in Glasschälchen von 8,5 cm Durchmesser mit destilliertem Wasser und waren mit aufgeschliffenen tubulierten Glasglöckchen bedeckt.

Die so hergestellten Kulturen wurden bei Zimmertemperatur (18—22° C) und meist im Dunkelschrank aufgestellt und nach verschieden langer Zeit untersucht, indem die Flüssigkeiten aus den einzelnen steril gebliebenen Schälchen gesammelt und gemeinsam auf dem Wasserbade eingengt wurden, und zwar, um ungewollte Inversion hierbei auszuschließen, in Gegenwart eines Überschusses von pulverförmigem Kalziumkarbonat. Die so gewonnene Flüssigkeit wurde nach Filtration gewichtsanalytisch auf ihren Gehalt an reduzierendem und Gesamtzucker untersucht.

Versuch 14. Für den ersten dieser Versuche wurde dieselbe Exosmosedauer (4 Wochen) wie bei Puriewitsch's *Beta*-Versuchen gewählt; Beginn 24. September; 10 Schälchen mit 30 Rübenzylindern; Zuckergehalt der Rübe (Polar.) 15,44 %; Invertzuckergehalt = 1,53 % des Rohrzuckergehaltes. Ende des Versuches: 22. Oktober. Die Flüssigkeit ergibt:

bei direkter Reduktion: 0,0114 g Cu;
nach Inversion: 0,0155 g Cu.

Also auch hier ein bedeutendes Überwiegen des Invertzuckers, wenn auch nicht in dem Maße wie bei den Puriewitschschen Versuchen. Die absoluten Zahlenwerte sind bei Puriewitsch 30—40 mal so groß wie in obigem und meinen übrigen Versuchen. Da die von diesem Autor verwendeten Rübenstücke etwa ebenso groß waren, wie meine, so müßte jener entweder mit einer — auch

abgesehen von den Versuchsschwierigkeiten — ungeheuer zu nennenden Zahl von Säulchen gearbeitet haben, etwa 1000 (Angaben hierüber finden sich bei ihm nicht) oder aber — und dies ist offenbar der Fall — die Rübenstücke von Puriewitsch waren während des Versuches schwer geschädigt oder besser bereits mehr oder weniger abgestorben. Anders vermag ich wenigstens seine Angabe (a. a. O. S. 26 und 65) am Schlusse der Versuche: „Die Wurzelzellen zeigen sehr schwache (bzw. „sehr unbedeutende“) Rohrucker-Reaktion“ — nicht zu verstehen. Es ist nach meinen oben mitgeteilten plasmolytischen Messungen und allen andern Erfahrungen gänzlich ausgeschlossen, daß zu irgend einer Jahreszeit oder unter irgend welchen Bedingungen unbeschädigte Rübenzellen in der kurzen Frist von vier Wochen sich nahezu völlig „entleeren“ sollten. Viel besser stimmen die von mir gefundenen, sehr viel geringeren Zuckermengen zu den erwähnten Messungen.

Ich glaube deshalb, und die weiteren Ausführungen werden das noch genauer dartun, daß wir die im übrigen so verdienstvollen Versuche von Puriewitsch, soweit sie sich auf *Beta* erstrecken, als unzulänglich außer acht lassen müssen.

Der in Anbetracht des normal geringen Invertzuckergehaltes der verwendeten Zuckerrübe auffällig hohe Anteil des direkt reduzierenden Zuckers am exosmierten Gesamtzucker veranlaßte mich, die Rübenzylinder sogleich nach Schluß des Versuches genauer zu untersuchen.

Die Oberfläche der Stücke hatte Kork angesetzt, jedoch nicht der an den feuchten Gips grenzende Teil derselben. Die angeschnittenen Cambialzonen hatten vielfach ein meist schwaches, callöses Gewebe gebildet. Der größte Teil der Stückchen wurde analysiert, und es ergab sich der Wert von 18,46 g direkt reduzierenden Zuckers auf 100 Teile Rohrucker, d. h. eine Vermehrung während der Versuchsdauer um annähernd das Zwölfwache des ursprünglichen Anteils. Da irgend ein nennenswertes Ansteigen desselben in den Rüben selbst während der Aufbewahrung bei Zimmertemperatur nach meinen zahlreichen Analysen niemals zu beobachten ist, so mußte der Grund für dies außergewöhnliche Verhalten in den besonderen Versuchsbedingungen gesucht werden.

Allerdings konnte selbst diese bedeutende Vermehrung des Invertzuckers zunächst noch nicht den Ausfall des Versuches 14 erklären. Nun wurde aber weiter festgestellt, daß ein gewisser Teil der Zellen, namentlich der peripher gelegenen, bei Abschluß des

Versuches bereits abgestorben war. Es ist nach einiger Übung möglich, größere Komplexe abgestorbener Wurzelzellen als solche schon makroskopisch zu erkennen, bei vereinzelt Zellen ist diese Entscheidung aber selbst unter dem Mikroskop ziemlich schwierig. Ein ausgezeichnetes Hilfsmittel bietet hier die Anwendung der auf S. 235 beschriebenen Färbung mit Toluylennrotbase, welche, da nach dem Tode der Zelle der die Speicherung des Farbstoffes bedingende Stoff sogleich nach außen diffundiert, auf den ersten Blick die Unterscheidung toter und lebender Zellen ohne Plasmolyse gestattet; in letzteren erscheint der Kern farblos, der Saft gefärbt, in ersteren nur der Kern, das Übrige nicht gefärbt.

Eine genaue Analyse der besonderen Versuchsbedingungen erschien nun nicht nur als notwendige Voraussetzung zum Verständnis der Exosmoseerscheinungen, sondern mußte auch erfolgen, um das unerwartete Auftreten von soviel Invertzucker in den Versuchsstücken mit den bisherigen Erfahrungen über das Fehlen einer Invertase in der fertigen Wurzel in Einklang zu bringen.

Die erste Vermutung ging dahin, daß die Invertzucker Vermehrung mit dem Absterben gewisser Zellen in Verbindung stehen möchte. Dem schien allerdings zu widersprechen, daß eine typisch autolytische Rohrzuckerspaltung, welche also erst postmortal in Erscheinung träte, von mir sonst nicht, auch nicht in den Preßsäften der Wurzel aufgefunden werden konnte.

Immerhin glaubte ich noch einige Autolyse-Versuche auf etwas andere Art anstellen zu sollen, und zwar nach der für derartige Zwecke sehr bequemen Gefriermethode. Einer sei hier angeführt:

Versuch 15. Beginn 1. November. Zuckerrübe, Invertzuckergehalt 1,75 g auf 100 g Rohrzucker. Mit dem Korkbohrer steril entnommene Zylinderchen wurden steril in Reagenzgläser eingebracht, mit Watte verschlossen, darauf sofort in eine Kältemischung von 22° C auf 3 Stunden gebracht¹⁾ und nach dem Auftauen im Dunkel-

1) Die Anwendung sehr tiefer Temperaturen ist notwendig, um ein sofortiges, gänzliches Absterben der Stücke hervorzurufen. Über die Wichtigkeit dieses Punktes vgl. weiter unten. Bei Einwirkung einer Außentemperatur z. B. von -12° C während einer Stunde bleiben die Cambialzonen in den Reagenzgläsern unter Umständen noch Monate lang am Leben. Wie tief die Temperatur in den Zylindern hierbei sank, habe ich nicht untersucht. Meist tritt übrigens infolge saurer Reaktion des ausgefrorenen Wassers bei derartigen Versuchen schließlich doch ergiebige Inversion ein (vgl. Abschn. A, Kontrolle mit CaCO₃-Zufügung), die noch durch Konzentrierung des Saftes infolge allmählichen Eintrocknens verstärkt wird.

schränk bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dem Eintrocknen der Stücke (vgl. Anmerk. S. 240) wurde durch Zufügung von etwas Wasser von Zeit zu Zeit vorgebeugt. Invertzuckergehalt der steril gebliebenen Stücke am 1. Dezember = 1,77 g auf 100 g Rohrzucker.

Daß es sich bei der bedeutenden Invertzuckervermehrung in Versuch 14 nicht etwa um eine durch die Exosmose des Invertzuckers in das umgebende Wasser veranlaßte weitere Rohrzucker-aufspaltung handelte, war schon nach dem Mißverhältnis zwischen der Menge des exosmierten und des nachgebildeten Invertzuckers nicht anzunehmen, wie auch folgender, gleichzeitig mit Versuch 14 eingeleiteter Parallelversuch lehrte.

Versuch 16. Von derselben Rübe wie zu Versuch 14 waren gleichzeitig mit den aufgegipsten Stücken andere Zylinderchen steril auf trockne Glasklötchen gelegt worden, die bei gleicher Temperatur usw., in einer feuchten Doppelschale standen. Die Analyse fand ebenfalls am 22. Oktober statt und ergab hier einen Gehalt von 16,12 g Invertzucker auf 100 g Rohrzucker.

Die Lösung des Rätsels wurde bald gefunden, als ich die Vermutung, ob es sich etwa hier um einen spezifischen, durch traumatische Reizung veranlaßten Vorgang handele, nachprüfte. Die durch die Verwundung der relativ dünnen Stückchen auf ihrer ganzen Oberfläche bedingte hohe Reizintensität, würde die beobachtete Reaktionsgröße begrifflich erscheinen lassen¹⁾.

Zur Prüfung der Vermutung wurde eine Zuckerrübe einige Tage nach der Verwundung in der Nähe der Wundfläche und fern von ihr vergleichend auf ihren Invertzuckergehalt untersucht.

Versuch 17. Zuckerrübe, am 8. November durch Polarisation des mit glattem Schnitt entfernten unteren Endes bestimmt = 16,34%; Anteil des Invertzuckers auf 100 Teile Rohrzucker = 2,11. Am 14. November wird nach Verweilen der Rübe bei Zimmertemperatur in feuchter Glocke eine zur Wundfläche parallele, 5 mm dicke Scheibe abgetragen und ebenso wie nochmals die Rübensubstanz in einer Entfernung von etwa 3 cm von der Wundfläche untersucht. Es ergibt sich für den Invertzuckeranteil:

$$\left. \begin{array}{l} \text{Wundfläche} = 3,97 \\ \text{übrige Rübe} = 2,11 \end{array} \right\} \text{ auf 100 Teile Rohrzucker.}$$

Ein weiterer Versuch sollte einen Begriff von der Geschwindigkeit der Aufspaltung geben.

1) Pfeffer, Pflanzenphysiologie, Bd. I, S. 577.

Versuch 18. Zuckerrübe mit 15,54 % Zucker. Invertzucker auf 100 Teile Rohrzucker = 0,49. Am 7. November werden steril mit dem Korkbohrer 6–7 cm lange zylindrische Stücke vom Durchmesser 1,2 cm in Reagenzgläser übertragen und hierauf eine Anzahl der Stücke zu verschiedenen Zeitpunkten auf Invert- und Rohrzucker-gehalt untersucht, und zwar die etwa $\frac{2}{3}$ –1 mm dicke Außenschicht einerseits und die übrige Innenmasse andererseits. Es ergibt sich an direkt reduzierendem Zucker (als Glukose berechnet) auf 100 Teile Rohrzucker:

| | Außenschicht | Innenmasse |
|-----------------------------------|--------------|------------|
| Zu Beginn des Versuches | 0,49 | 0,49 |
| Nach 6 Stunden | 0,51 | 0,49 |
| " 24 " | 0,61 | 0,50 |
| " 72 " | 3,44 | 1,12 |

Es folgt aus diesen Zahlen also, daß eine sehr rasche Rohrzuckerspaltung alsbald nach Anbringung der Wunde in den benachbarten Zellen einsetzt; die Reaktion blieb natürlich nicht auf die äußersten Zellschichten beschränkt, doch wird sie auf die kurze Entfernung bis zur Mitte der Stückchen hin ganz bedeutend schwächer.

Die mikroskopische Untersuchung der Bohrzyylinder ergab nun weiter, daß im Gefolge der Verwundung regelmäßig Stärke in den reagierenden Zellen gebildet wird, die sonst in der Wurzel gänzlich vermißt wird¹⁾. Schon 6 Stunden nach der Verwundung waren bei obigem Versuch in den äußersten Zellen vereinzelt Stärkekörner zu sehen, die in Bau und Größe ganz denen der Stärkescheide des Blattstieles entsprechen. Nach 24 Stunden findet sich im gesamten Gewebe der Stücke Stärke, in jeder Zelle allerdings nur einzelne Körner. Nach 72 Stunden endlich hat noch eine Vermehrung der Körner im gesamten Querschnitt stattgefunden, die in jeder Zelle doch aber auch am Schluß nur ziemlich spärlich vorhanden sind. Natürlich erleidet die Vergleichbarkeit der Zahlenangaben der Versuche durch den kleinen Zuckerverbrauch zur Stärkebildung eine geringfügige Einbuße. Möglicherweise sind auch bei der Reduktionswirkung Spuren von Maltose als Zwischenstufe bei der Stärkebildung

1) Stärkebildung nach Verwundungen in Zuckerrüben hat bereits Schacht (Lehrb. S. 555 und de Vries, Landw. Jahrb., 1879, S. 492) beobachtet. Vgl. auch Strakosch, Vorkommen von Stärke in der Zuckerrübenwurzel (Österr.-ung. Zeitschr. Zuck., Bd. 38, 1909, S. 151 ff.). Auf diese Stärkebildung war bereits in Versuch 14 durch Verwendung verdünnten Äthylalkohols beim Ausziehen Rücksicht genommen worden.

im Spiel. Quantitativ sind diese Nebenvorgänge freilich infolge ihrer Geringfügigkeit nicht festzulegen.

Es kann keine Rede davon sein, daß hier etwa die gesamte Rohrzuckeraufspaltung zum Zwecke einer nachfolgenden Kondensation zu Stärke erfolgt. Dazu ist die Menge des am Schlusse mehrwöchentlicher Versuche vorhandenen Invertzuckers zu groß und die der Stärke bei weitem zu gering. Der Sinn dieser regulatorischen Bildung von Invertase ist vielmehr offenbar in der Produktion von Invertzucker als physiologisch aktiven Materials zu suchen, das die Pflanze für ihre Heilprozesse braucht. Hierbei darf auch die durch Verwundung hervorgerufene Steigerung der Atmungsenergie, die bei ruhenden Organen besonders hervortritt, natürlich nicht vergessen werden¹⁾.

Bei den Versuchen mit isolierten zylindrischen Stückchen in feuchter Atmosphäre beginnt schließlich ein Teil der Zellen (es sind dies zuerst gewöhnlich die peripheren Parenchymzellen, dann auch die inneren; am längsten bleiben die Zellen der Kambialstreifen lebend) abzusterben, und zwar je nach dem Material nach Ablauf von 3—6 Wochen. Man findet dann in solchen Zellen neben der (intakten!) Stärke fast ausschließlich nur noch Invertzucker.

Versuch 19. In bekannter Weise wurden am 26. Januar Bohrzyylinder steril in Reagenzgläser übertragen und für Feuchterhaltung der Stücke durch zeitweiliges Zufügen von sterilem Wasser Sorge getragen. Invertzucker = 1,87 g (als Glukose berechn.) auf 100 Teile Rohrzucker. Vom Rest der Rübe wurde Preßsaft im Brutschrank weiter beobachtet; Polarisation am 26. I. beträgt + 18,4°. Am 31. März wird der Versuch abgeschlossen. Die mikroskopische Untersuchung zeigt in allen Zellen Stärke und ergibt mit Hilfe der Toluylennitrobase, daß die Gewebe mit Ausnahme der Kambialzonen und einzelner anderer Gewebekomplexe abgestorben sind. Vor der Analyse werden die Kambialzonen ausgeschnitten; sie ergibt, daß auf 100 g Invertzucker im übrigen Gewebe nur noch 9,19 g Rohrzucker kommen²⁾. Polarisationswert des Preßsaftes am selben Tage + 18,3°; Reaktion schwach sauer.

1) Richards, Annals of botany, 1896, X, 531; Pfeffer, Pflanzenphysiologie, I, 576; Friedrich, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1908, Bd. XXI, S. 330.

2) Die Aufspaltung des Rohrzuckers wäre offenbar autolytisch noch weiter gegangen, wenn nicht noch lebende Zellen im Spiel gewesen wären.

Schließlich sei noch als Beispiel mehrerer gleichsinnig verlaufener ein besonders instruktiver Versuch angeführt, der die kräftige, infolge Verwundung einsetzende Invertasebildung erkennen läßt.

Versuch 20. Zwei ungefähr gleich große Zuckerrüben wurden in je zwei Längshälften zerschnitten. Je eine der Hälften (A) wurde sofort (am 10. März) zerkleinert und gemeinsam ausgepreßt. Die andern (B) wurden in etwa 2—3 ccm große Stücke zerschnitten, in großen Doppelschalen, also feucht, noch 4 Tage stehen gelassen und darauf erst weiter zerkleinert und ausgepreßt. Beiderlei Preßsäfte waren von Anfang an im Überschuß mit CaCO_3 versetzt worden. Die Polarisationswerte waren:

| | 10. März | 14. März | 15. März | 19. März | 26. März |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| A | + 19,5 ° | + 19,5 ° | + 19,5 ° | + 19,5 ° | + 19,5 ° |
| B | — | + 16,9 ° | + 15,5 ° | + 11,9 ° | + 4,9 ° |

Für unsere Exosmoseversuche, um nunmehr zu diesen zurückzukehren, ergibt sich aus diesen und ähnlichen Versuchen, daß, wenn gerade die peripheren Zellen, wie meist, bei vierwöchentlicher Versuchsdauer zum erheblichen Teil abgestorben sind, wir in ihnen nur noch Invertzucker anzunehmen haben. Da sie nun an das umgebende Wasser natürlich außerordentlich viel mehr von ihrem Zucker abgeben werden als die fast impermeablen lebenden Zellen, so erklärt sich auf diese Weise der auffallend hohe Invertzuckergehalt der Kulturflüssigkeit in Versuch 14.

Bei den weiteren Versuchen dieser Art wurde auf die nunmehr aufgeklärte Sachlage insofern Rücksicht genommen, als das Absterben von Zellen nach Möglichkeit vermieden wurde. Ganz läßt sich dies jedoch nicht erreichen. Speziell in der an den Gips anstoßenden untersten Schicht findet man stets, vermutlich infolge der mangelhaften Sauerstoffzufuhr, einzelne abgestorbene Zellen. Die Dauer der Versuche wurde jedenfalls noch etwas eingeschränkt, das Flüssigkeitsniveau tieferliegend gewählt und nach Untersuchung jedes einzelnen Bohrzylinders bei Abschluß des Versuches nur solche berücksichtigt, welche keine größeren Komplexe toter Zellen aufwiesen.

Versuch 21. Ganz entsprechend Versuch 14. Beginn am 2. Februar. Die verwendete Zuckerrübe enthielt auf 100 g Rohrzucker 1,21 g Invertzucker. Den obigen Anforderungen entsprachen nach Versuchsabschluß am 24. Februar 24 Schälchen mit je 4 Gipsblöckchen. Die Hälfte der eingeeengten Versuchsflüssigkeit ergab

bei der direkten Reduktion unter Verdoppelung des Mittels beider Parallelbestimmungen im ganzen 0,0147 g Cu; die andere Hälfte nach Inversion 0,0571 g Cu, was einen Anteil des Invertzuckers am „Gesamtzucker“ von etwa 25,7 % ausmacht; der etwa $\frac{2}{3}$ mm dicke, äußere, etwas callöse Mantel der Stücke ergab 35,9 und die inneren Partien 8,8 Teile Invertzucker auf je 100 Teile Rohrzucker.

Auch hier ist ein noch recht hoher Invertzuckergehalt in der Kulturflüssigkeit zu konstatieren. Berücksichtigt man aber, daß die äußerste Zellschicht, welche allein mit dem Messer abzutrennen ja unmöglich war, wenigstens zum Schluß dieses Versuches sicherlich weit mehr Invertzucker als nur 35,9 auf 100 Teile Rohrzucker enthalten hat, so wird man den Gehalt an letzterem noch als erstaunlich hoch bezeichnen müssen und ohne Bedenken schließen dürfen, daß bei der Entleerung der normalen, nicht invertasehaltigen Rübe, deren Verhältnisse solche Exosmoseversuche eben infolge Störung durch sekundäre traumatische Prozesse nicht nachahmen können, der Zucker als Rohrzucker wandert. — Die Zahlen eines letzten, im Frühjahr angestellten, analogen Versuches waren folgende:

Versuch 22. Ganz entsprechend Versuch 14. Beginn am 11. April. Steril erwiesen sich am 1. Mai 22 der Schälchen mit je 4—5 Bohrzyylinderchen. In der Kulturflüssigkeit beträgt der Invertzuckeranteil etwa 31,0 % des „Gesamtzuckers“; in dem äußeren, etwa 1 mm dicken Mantel der Bohrzyylinder kommen 52,31 und im Innern 11,22 Teile auf 100 Teile Rohrzucker.

An den Zylindern dieses Versuches wurde auch der Turgordruck verfolgt. Grenzkonzentration zu Beginn des Versuches = 0,85 m Rohrzucker; bei Beendigung desselben 0,95 m Rohrzucker. Der Druck in den invertzuckerreichen Randzellen ist nicht höher als in der Mitte des Gewebes. Es muß also zweifellos eine sehr wesentliche Regulation des Turgordrucks in den Objekten stattgefunden haben, was dadurch möglich ist, daß Nicht-Zuckerstoffe einen bedeutenden Anteil an den osmotischen Kräften des Zellsaftes haben. Eine Änderung der Permeabilität ist, wie längere Plasmolysen zeigen, gegenüber den auf S. 236 dargestellten Verhältnissen nicht eingetreten.

c) Ausblick

auf die intramolekulare Atmung der Rüben.

Die Tatsache, daß unter den durch traumatischen Reiz ausgelösten Stoffwechselvorgängen die Bildung einer Invertase hervor-

tritt, gab Veranlassung, auch noch einen Blick auf die Vorgänge bei der intramolekularen Atmung der Rüben zu werfen. Es wurde schon auf S. 215 hervorgehoben, daß unseren Erfahrungen, wonach invertasische Fähigkeiten in der fertigen Rübe regelmäßig vermißt werden, die Angaben Stoklasas gegenüberstehen, welcher fand, daß bei der intramolekularen Atmung ähnlich wie bei der Hefegärung eine Inversion des Rohrzuckers der weiteren Spaltung des Zuckermoleküls vorangeht.

Stoklasa und seine Mitarbeiter erzielten bei ihren Versuchen den Sauerstoffabschluß so, daß sie Zuckerrüben in Gefäßen mit ausgekochtem Wasser, über dem sich Wasserstoff befand, untergetaucht hielten. Hierbei wurden die typischen Gärungsprodukte, Äthylalkohol und Kohlensäure gemessen. Auf die Mitwirkung einer Invertase schlossen die Autoren aus dem Auftreten bedeutender Mengen von Invertzucker in der Kulturflüssigkeit. Schließlich finden wir auch noch die Angabe, daß es ihnen gelungen sei, aus dem Preßsaft einer Zuckerrübe, welche 14 Tage anaërob geatmet hatte, eine Invertase darzustellen, sowie die Beschreibung des dabei angewandten Verfahrens.

Im Anschluß an diese Angaben Stoklasas seien meine eigenen Erfahrungen wiedergegeben. Stoklasa arbeitete, um die Gärprodukte messen zu können, bei seinen zahlreichen Versuchen mit außerordentlich großen Mengen Rübensubstanz und sehr großen Glasgefäßen.

Mir ist es nun leider trotz besonderer Vorsicht und Befolgung der Stoklasaschen Vorschriften nicht geglückt, beim Arbeiten auch nur mit ähnlichen Mengen die erforderliche Sterilität zu wahren. Die Versuche wurden daher auf einen kleineren Maßstab verringert, was umso mehr geschehen konnte, als es mir nur um eine qualitative Nachprüfung zu tun war.

Ich operierte mit Präparatengläsern, welche 4 cm lichte Weite und etwa 16 cm Höhe hatten. In die Gläser kam je ein entsprechend dickes zylindrisches, steril ausgeschnittenes Rübenstück. Nach anfänglicher Durchleitung eines konstanten Wasserstoffstromes überzeugte ich mich später, daß die Versenkung in gekochtes destilliertes Wasser allein genügt, um sogleich intramolekulare Atmung herbeizuführen. Selbst bei einer derartigen Vereinfachung des Versuches mußte immer noch ein erheblicher Teil derselben infolge Verunreinigung ausscheiden.

Versuch 23. Beginn 15. März. Invertzucker auf 100 Teile Rohrucker in der verwendeten Rübe 1,92. Die Rübenstücke scheiden in der ersten Woche ziemlich viel CO_2 aus; nach bereits 2—3 Tagen erkennt man schon beim Schräghalten der Gläser an den auftretenden Schlieren in der Nähe der Rübenstücke, daß sie reichlich Rohrucker abgeben. Schluß des Versuches am 29. März. Die 300 ccm betragende ziemlich neutrale Kulturflüssigkeit wird in zwei Hälften geteilt. Die erste Hälfte wird schwach angesäuert und destilliert. Die ersten 15 ccm des Destillats werden nach Müntz mit viel kristallisiertem Na_2CO_3 und pulverförmigem Jod versetzt. Starke Jodoformreaktion. Die andere Hälfte enthält 4,71 Teile Invertzucker (als Glukose ber.) auf 100 Teile Rohrucker.

Die verwendeten, äußerlich ziemlich unverändert aussehenden Rübenstückchen enthalten abgestorbene Zellen (Neutralrotbase!), sind aber meist (auch die Randzellen) noch lebend. Der Turgordruck ist von anfänglich 0,90 m Rohrucker auf 0,35—0,40 m zurückgegangen, wohl größtenteils infolge Zuckerverlustes durch Exosmose. Auch die Rübenstückchen enthalten Alkohol. Der Invertzucker in denselben beträgt auf 100 Teile Rohrucker 3,11. Preßsaft, der zu Versuchsbeginn aus der verwendeten Rübe hergestellt war, zeigt am Schluß die ursprüngliche Drehung von $+19,5^\circ$. Reaktion schwach sauer.

Aus diesem und einigen analog verlaufenen ähnlichen Versuchen geht also hervor, daß hierbei eine der Hefegärung entsprechende Zuckerspaltung in $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ und CO_2 zweifellos stattfindet. Dieser Prozeß verlief jedoch stets unter schweren Schädigungen der Zellen, die schon in den ersten Versuchstagen an reichlicher Zuckerdiffusion kenntlich war, und führte oft schon im Verlauf von 9—14 Tage zum Tode der meisten Zellen¹⁾.

Der wichtige Punkt war, daß also in der Tat eine Rohruckerinversion mit einherlief und zweifellos eine Invertase-Neubildung stattgefunden hatte. Daran knüpfte sich aber die weitere Frage, ob bei diesen Versuchen die Invertasebildung wirklich in die durch Mangel an freiem Sauerstoff ausgelöste Kette von Prozessen als deren erstes nachweisbares Anfangsglied einzureihen sei, ob also gewissermaßen das Enzym von den Zellen regulatorisch gebildet

1) Was den frühen Tod der Zellen herbeiführt, ist mittelbar oder unmittelbar der Sauerstoffmangel. Man wird kaum geneigt sein, an eine Selbstvergiftung durch Alkohol zu denken. Mangel an vergärbarem Zucker liegt selbstverständlich nicht vor.

wird, um vergärbaren Zucker für die Anaërobie zur Verfügung zu haben.

Ich glaube, daß diese Frage zu verneinen ist. Es zeigte sich nämlich, daß die bei der Anaërobie stattfindende Inversion derjenigen, welche durch traumatischen Reiz hervorgerufen wird, darin gleicht, daß sie hauptsächlich an und nahe der Oberfläche der Versuchsstücke stattfindet, welche ja auch hier unvermeidlicherweise eine Wundfläche bildet, ebenso wie bei den Stoklasaschen Versuchen, der das Periderm abtrennte und die so entstandene Wundfläche nochmals mit sehr starker (0,5-proz.) Sublimatlösung behandelte.

Versuch 24. Beginn: 14. Januar. Die Zuckerrübe enthält auf 100 Teile Rohrzucker 0,77 Teile Invertzucker. Steril entnommene Zylinder wie oben in Präparatengläser versenkt und unter der Luftpumpe zur Entfernung der intercellularen Luft injiziert. Am 16. Januar beträgt die Invertzuckerzahl für den äußeren, 1 mm dicken Mantel der Stücke 1,63 und für das innere Gewebe 0,81. Stärke tritt hier so wenig wie bei anderen Anaërobenversuchen auf, auch niemals callöses Wundgewebe. Die Drehung des Preßsaftes, welche zu Anfang des Versuches $+18,3^{\circ}$ betragen hatte, ist am 28. Januar noch unverändert.

Diese und ähnliche, analog verlaufene Versuche sprechen doch sehr zugunsten der Annahme, daß auch bei diesen Versuchen die erhöhte Invertzuckerbildung durch den Wundreiz verursacht ist. Bei Sauerstoffmangel kann nur diese erste Stufe des Reaktionsprozesses ungehindert stattfinden, während die Stärkebildung und das callöse Wachstum unterbleiben. Es entstehen weit mehr Invertzuckermengen, als auch nur annähernd vergoren werden könnten. Für die so kurze Zeit, welche die Zellen intakt bleiben, dürfte sogar der primäre Invertzuckergehalt ausreichen. Immerhin wird durch unsere Versuche die Frage nicht beantwortet, ob nicht auch merkliche Inversion als direkte Folge der intramolekularen Atmung stattfinden kann. Eine eindeutige Lösung dürfte aber besondere experimentelle Schwierigkeiten bieten¹⁾.

d) Das Verhalten in der zweiten Vegetationsperiode.

Es wurde bereits im Abschnitt b) auseinandergesetzt, daß der Zucker beim Wiederaustreiben in der Wurzel — entgegen den

1) An eine Gewinnung des Enzyms war bei den geringen Mengenverhältnissen natürlich nicht zu denken.

Versuchen von Puriewitsch — als Rohrzucker auswandert, daß aber eine Änderung in der Permeabilität der Wurzelzellen hierbei mit unseren Methoden nicht nachgewiesen werden konnte. Theoretisch ist eine solche aber im „Rübenkopfe“ natürlich zu fordern; denn auf der einen Seite muß im ersten Vegetationsjahr natürlich ein der Speicherung entgegenwirkender Übertritt von Rohrzucker ins Laub vermieden werden; da die Blattstiele und die Spreiten aber, wie die Kulturversuche ergeben, für Rohrzucker keineswegs impermeabel sind, muß diese impermeable Zone im Rübenkopfe gesucht werden. Da der Rohrzucker aber andererseits, wie außer den übrigen im genannten Abschnitt mitgeteilten Tatsachen schon der Mangel an Invertase zeigt, bei der Auswanderung in die jungen oberirdischen Organe im Frühjahr als Rohrzucker übertritt, so kann zu dieser Zeit eine für ihn impermeable Zone im Rübenkopf nicht mehr bestehen¹⁾.

Bei Übertritt in die jungen oberirdischen Organe wird der Rohrzucker sogleich mit Hilfe einer in ihnen von Anfang an vorhandenen Invertase kräftig gespalten. Über den Zuckergehalt dieser Organe haben wir z. B. die Angaben von Lindet (a. a. O.), von denen einige wiedergegeben seien. Er fand z. B.:

| | In 100 cem Saft: | | |
|---|------------------|---------|----------|
| | Rohrzucker | Glukose | Fruktose |
| Blattstiele mit sehr kleinen Spreiten aus Mieten (Dezember) | 2,85 | 0,29 | 0,03 |
| Blätter im Keller ausgeschlagen (Mai) ²⁾ { | Stiele | 0,39 | 2,02 |
| | Spreite | 0,04 | 0,35 |
| Bei Licht ausgeschlagene Blätter (Mai) { | Stiele | 0,18 | 0,86 |
| | Spreite | 0,00 | 0,35 |

1) Strohmer, Über Aufspeicherung und Wanderung des Rohrzuckers in der Zuckerrübe (Österr.-ung. Zeitschr. Zuck., 37 1909, S. 18 ff.) nimmt irrigerweise eine Inversion im Rübenkopfe an.

2) Angesichts der neueren Erörterungen über die Bedeutung der Stärkescheide (vgl. z. B. Usslep: Vorkommen und Bedeutung der Stärkescheide in oberirdischen Pflanzenteilen. Beihefte z. Bot. Centralbl., 26, 1910, 1. Abt., S. 341) will ich eine gelegentliche Beobachtung nicht unerwähnt lassen, die ich an Zuckerrüben machte, welche zum Zwecke von Zuckeruntersuchungen in den Blättern im Herbst in Töpfe gepflanzt waren und bei vollständiger Verdunkelung Blätter getrieben hatten. Die Stärkescheiden in den Blattstielen und auch den größeren Rippen dieser im Dunkeln erwachsenen Blätter enthielten stets Stärkekörner, wenn auch nicht so reichlich wie Lichtblätter. Auch diese Beobachtung, an die ich weitere Versuche nicht geknüpft habe, weist m. E. auf eine fundamentale Bedeutung der Stärkescheide hin.

Mikrochemische Untersuchungen zur Auffindung von Invertzucker sind bei Gegenwart von Rohrzucker recht heikel. Von meinen unbefriedigenden Erfahrungen mit der Phenylhydrazinmethode war ja oben schon die Rede. Aber auch bei der mikrochemischen Verwendung von Fehlingscher Lösung ist große Vorsicht geboten und stete Kontrolle durch makrochemische Analysen notwendig.

Besonders leicht findet beim Erwärmen der Schnitte Inversion des Rohrzuckers durch den sauren Zellsaft statt, bevor das alkalische Reagens eingedrungen ist, wovon man sich an Schnitten durch Rübenwurzeln, die fast ganz frei von Invertzucker sind, überzeugen kann. Rasches Erhitzen bezw. Eintragen der Schnitte in das kochende Reagens hilft ebensowenig sicher wie besonders langsames Erwärmen, bei welchem überdies noch Zuckerdiffusion vor Beginn der Reduktion erfolgt.

Die von Lidforss¹⁾ vorgeschlagene alkoholische Fehlingsche Lösung dringt schneller ein, aber auch hier kommt es häufig zu ungewollten Inversionen.

Längsschnitte durch austreibende Rüben, welche junges Blattgewebe und einen Teil des Rübenkopfes zugleich enthalten, zeigen, wenn die Behandlung mit Fehlingscher Lösung gelungen ist, scharf den Unterschied zwischen dem unveränderten Speichergewebe und den mit basischem Kupfer erfüllten Zellen des jungen Gewebes. Auch tritt an solchen Schnitten sehr schön hervor, daß offenbar alle Zellen des Schnittes mit Ausnahme der Epidermis und der mechanischen Elemente reich mit Zucker erfüllt sind. Speziell ergab sich auch an solchen Schnitten kein Anhaltspunkt für eine Bevorzugung der Siebröhren in dieser Hinsicht (vgl. S. 232).

Eine Reihe makrochemischer Analysen zeigte mir, daß es in der Tat zu keiner Zeit während des Austreibens zu einer Invertzuckerbildung im Rübenkopfe kommt.

| Datum | Zuckergehalt der ganzen Rübe | Invertzucker auf 100 Rohr- zucker im Kopf | Bemerkungen |
|----------------|------------------------------------|---|---|
| 15. Dezember | 17,52 ‰ | 1,12 | } Im Oktober in Töpfe gepflanzt und öfter der Blätter beraubt. |
| 3. Februar . | 14,31 ‰ | 0,98 | |
| 17. März . . . | 15,88 ‰ | 1,32 | |
| 12. Mai . . . | 14,12 ‰ | 0,79 | } Ende April ins Freie verpflanzt |
| 13. Juni . . . | 13,86 ‰ | 0,35 | |
| 5. Juli . . . | 16,54 ‰ | 0,61 | |

1) B. Lidforss in Lunds Univ. Årsskr., 28, 1892 (vgl. Bot. Centralbl.).

Es ist nun interessant, daß sich die blütentragenden Langsprosse etwas anders verhalten als die grundständigen Blätter. Ich habe solche einige Male analysiert und fand für die Hauptachse:

| | In 100 ccm Saft: | |
|------------------|------------------|--------------|
| | Rohrzucker | Invertzucker |
| 15. Mai | 1,35 | 0,23 |
| 13. Juni | 2,52 | 0,45 |
| 17. Juli | 1,88 | 0,10 |

Diese Zahlen stimmen überraschend gut zu einer Angabe, die ich bei Lindet (a. a. O., S. 107) finde, wonach am 12. Oktober in den Achsen und Blattstielen der blühenden Sprosse auf 100 ccm Saft 2,17 g Rohrzucker und 0,11 g Glukose sowie Spuren von Fruktose kamen, während die Blattspreiten nur Invertzucker enthielten.

Wir haben danach wahrscheinlich einen kontinuierlich aus der Wurzel in die Achse der Blüten sprosse trotz deren Invertasegehalt (vgl. S. 215) aufsteigenden Strom von Rohrzucker anzunehmen und nur eine teilweise Invertierung desselben bei Eintritt in die Sproßbasis. Erst am Orte des Hauptverbrauchs, also in der Blütenregion selbst, wird der Rohrzucker zur weiteren Nutzbarmachung invertiert.

Da nichtsdestoweniger auch in den Blütenachsen die Permeabilität für Rohrzucker nicht größer als im Blattstiel ist, neigte ich früher zu der Annahme, daß für die Zuckerzuführung zu einem derartig in die Länge wachsenden Organ noch andere Momente als der langsame Diffusionsstrom durch das lebende Parenchym in Betracht kommen müßten. Möglich erschien mir z. B. eine periodische Mitwirkung innerer Druckfiltration in die Gefäßbahnen, doch sind meine Bemühungen, derartigen Vorgängen durch mikrochemische Untersuchung oder auf Grund von Blutungserscheinungen an dekapitierten Sprossen auf die Spur zu kommen, vergeblich gewesen.

Im Anschluß an die bekannten älteren Erörterungen über die geringe Eignung der Diffusion zur Erzielung ausgiebiger Stofftransporte infolge ihrer Langsamkeit und die Notwendigkeit beschleunigender Faktoren hierbei hat Rywosch¹⁾ neuerdings darauf aufmerksam gemacht, daß solche Wirkungen möglicherweise durch

1) Über eine Diffusionsbeschleunigung der Dextrose. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. 29, 1911, S. 204.

bloße Anwesenheit anderer Stoffe ausgeübt werden könne; so fand er Beschleunigung der Traubenzuckerdiffusion durch bloße Rohrzuckergegenwart. Es ist aber nicht einzusehen, wie solche Möglichkeiten gegenüber der minimalen Permeabilität der Plasmahaut eine Rolle spielen sollten.

C. Bemerkungen über das lokalisatorische Verhältnis von Rohrzucker und Invertase bei *Beta*.

Während im Tierkörper im allgemeinen die Enzymsekretion an bestimmte Organe von drüsigem Bau gebunden erscheint, ist bei Pflanzen eine ähnliche histochemische Spezialisierung nur für besondere Fälle nachgewiesen. Man vergleiche u. a. die Angaben über Sekretionsdiastase, Emulsin, Myrosin usw. Speziell für die beiden letzteren hat Guignard es wahrscheinlich gemacht, daß hier Glukosid und Enzym in verschiedenen Zellen gebildet werden und erst durch Sekretion bzw. beim Zerreiben der Gewebe zusammengebracht werden. Es gelang ihm, mit Hilfe einiger einfacher mikrochemischer Reaktionen diejenigen Zellen, in denen er das Enzym vermutete, sicher ausfindig zu machen und durch entsprechende mechanische Trennung der Enzym- und nicht enzymhaltigen Teile, z. B. in den Blättern und jungen Zweigen von *Amygdalus laurocerasus* nachzuweisen, daß nur die ersteren Amygdalinlösungen in Benzaldehyd und Blausäure zu zerlegen vermögen.

Bei meinen Untersuchungen an *Beta* habe ich die Möglichkeit einer separaten Rohrzucker- und Invertaselokalisierung wohl im Auge behalten und hatte speziell die auf S. 236 erwähnten Zellen mit alkalisch reagierenden Zellsäften im Parenchym und besonders auch in der Nähe der Gefäßstränge längere Zeit im Verdacht, die Orte der Invertasebildung zu sein, habe aber niemals positive Anhaltspunkte für diese Annahme finden können. Dagegen aber sprach namentlich u. a. die invertierende Wirkung gefäßbündelfreier Blattparenchymstücke auf Rohrzuckerlösungen.

Ich bin daher jetzt nach Überblickung meines gesamten Tatsachenmaterials zu der Überzeugung gelangt, daß die einzige Trennung von Invertase und Rohrzucker darin besteht, daß jene im Plasma, dieser im Zellsaft vorhanden ist.

Ich möchte hier nicht in lange theoretische Erörterungen über die Invertasesekretion eintreten, doch mögen wenigstens einige Punkte, soweit tatsächliche Unterlagen vorhanden sind, hervorgehoben werden.

Wir sehen, daß die Invertase zwar in den meisten Organen der Pflanze dauernd vorhanden ist, in anderen, wie den älteren resp. ausgewachsenen Wurzeln aber fehlt. Auch hier kann sie indessen jederzeit, z. B. durch Wundreiz, regulatorisch gebildet werden.

Doch wird auch in denjenigen Zellen, in denen sie dauernd fertig gebildet vorhanden ist, ihre Tätigkeit den jeweiligen Bedürfnissen entsprechend reguliert. Ich möchte hierfür an die junge Wurzel erinnern, deren Preßsäfte bei der Autodigestion rasch ihren gesamten Rohrzucker aufspalten, deren unversehrte Zellen aber neben Rohrzucker stets nur verschwindend wenig Invertzucker enthalten und sogar offenbar kondensatorisch tätig sind.

Bezüglich der Frage, welcher Mittel sich die Pflanze in diesem Falle zur Selbststeuerung bedient, sind die beiden Möglichkeiten ins Auge zu fassen, ob die Inversion im Plasma oder im Zellsaft nach vorangegangener Enzymsekretion erfolgt.

Beobachtungen, welche die Frage nach der einen oder andern Richtung hin entscheiden, habe ich nicht zu verzeichnen, möchte mich jedoch für die erstere Annahme erklären; denn angesichts der dauernden sauren Reaktion der Zellsäfte würde schwer begreiflich sein, mit welchen Mitteln die Zelle selbststeuernd noch in den einmal eingeleiteten Prozeß eingreifen könnte, d. h. eine gänzliche Rohrzuckeraufspaltung hindern wollte, wenn das Enzym einmal sezerniert ist. Die Reaktionsprodukte (Glukose, Fruktose), obwohl in gewissem Sinne spezifische Paralysatoren¹⁾, können für die Selbststeuerung natürlich gar nicht in Frage kommen²⁾. Und doch muß eine solche zweifellos möglich sein, wie es, abgesehen von allem andern (Speicherung usw.), allein die Regulation des Turgors³⁾ und ihre Abhängigkeit gerade von den osmotisch so verschiedenwertigen Zuckern erfordert.

Aus lebenden *Betu*-Zellen ist nach meiner Erfahrung eine Invertasesekretion nicht zu beobachten. Es ergab sich speziell bei den Versuchen über intramolekulare Atmung, daß eine Abgabe des Enzyms an die Kulturflüssigkeit selbst dann noch nicht stattfindet, wenn die Zellen ihre semipermeablen Eigenschaften, an der Rohr-

1) Armstrong, Studies on enzyme action. Proc. Roy. Soc., 79, 1907, 360.

2) Antifermente gegen Invertase sind, abgesehen von einem sehr schwachen Immunferment (Schütze und Bergell, Zeitschr. klin. Med., 61, 1907, 306) bisher m. W. bei keinem Organismus gefunden.

3) Pfeffer, Druck und Arbeitsleistung.

zuckerdiffusion beurteilt, schon teilweise eingebüßt haben. Erst nach dem teilweisen oder völligen Absterben der Stücke konnten in der Versuchs-Flüssigkeit einige Male weitere Aufspaltungen konstatiert werden, die den Schluß auf eine vorangegangene postmortale Diffusion von Invertase in dieselbe gestattete. Ein derartiger Versuch sei in aller Kürze erwähnt:

Versuch 25. Beginn 2. April, ganz nach Art von Versuch 23 hergerichtet. Es werden aus zweien der je 70 ccm Flüssigkeit enthaltenden Versuchsgläser (A u. B) am 8. April mit steriler Pinzette die Rübenstücke entfernt und gleichzeitig mit steriler Pipette nach Schütteln der Gläser Flüssigkeit zur Polarisation entnommen. Drehung in A $+ 1,9^{\circ}$, in B $+ 2,7^{\circ}$. Die sich selbst überlassenen, steril gebliebenen Flüssigkeiten haben bei einer zweiten Polarisation am 1. Mai ihre Drehung nicht verändert. Aus zwei weiteren Versuchsgläsern (C und D) werden die Rübenstücke in analoger Weise erst am 19. April entfernt. Die Drehung einer Probe der Versuchsflüssigkeiten beträgt am gleichen Tage bei C $+ 5,2^{\circ}$, bei D $+ 4,8^{\circ}$. Dieselbe ist am 17. Mai bei C $+ 2,0^{\circ}$, bei D $+ 0,9^{\circ}$. Bakterien o. dgl. haben sich nicht entwickelt.

Bei einem anderen, analogen Versuch hatten die Rübenstücke 8 Tage in der Flüssigkeit verweilt, ohne daß Invertase hineingelangt war.

Derartige Versuche gestatten natürlich noch nicht den bindenden Rückschluß, daß nun auch eine Sekretion in den Zellsaft nicht stattfindet, sie sind jedoch, wenn man den Invertasereichtum gerade der an die Flüssigkeit anstoßenden Oberflächenzellen bedenkt, doch als Argument zugunsten unserer Annahme, daß die Spaltungen des Rohrzuckers, ähnlich wie die Bildung transitorischer Stärke, beim Durchströmen desselben durch das Plasma stattfinden, nicht ganz belanglos.

Auf die Vorteile dieser Annahme für das physiologische Verständnis im einzelnen hinzuweisen, möchte ich hier unterlassen. Erwähnt sei nur noch, daß wir schon angesichts der Fülle gleichzeitiger enzymatischer Prozesse diese in Anlehnung an die bekannten von Hofmeister¹⁾ entwickelten Vorstellungen möglichst in das Plasma verlegen müssen. Ich glaube, daß die Anschauungen über

1) „Die chemische Organisation der Zelle“, Braunschweig, 1901. Vgl. dazu Jacoby in Oppenheimers Handb. d. Biochemie, II, 1 (Jena 1908).

die Plasmastruktur, die neuerdings Lepeschkin¹⁾ auf kolloid-chemischer Grundlage geäußert hat, derartigen Vorstellungen sehr zu Hilfe kommen. Entspricht das Plasma einer kolloidalen Emulsion, so würden wir uns die chemischen Mittel der Zelle an die der dispersen Phase entsprechenden Kolloide gebunden vorzustellen haben, denen die reagierenden Stoffe vermöge des Dispersionsmittels des Plasmas zugeführt werden. Was dieses letztere aber anbelangt, so wird der unübersehbare Komplex regulatorischer Funktionen, die wir ihm zuerkennen müssen, auch die Fähigkeit einschließen, die Wechselwirkung derartiger disperser Einschlüsse mit permeierenden Stoffen in weitgehender, für uns vorläufig nicht weiter analysierbarer Weise den jeweiligen Bedürfnissen entsprechend zu variieren oder unmittelbar zu unterbrechen.

Es bedarf schließlich noch besonderer Erwähnung, daß ich, speziell in der ausgebildeten Wurzel, welche nach Verwundung so leicht Invertase zu bilden vermag, nach einer „proenzymatischen“ Vorstufe der Invertase, die bei einigen anderen Enzymen physiologisch bedeutungsvoll ist, vergeblich gesucht habe. Auch einen etwa als „Aktivator“ in Betracht kommenden Stoff konnte ich nicht auffinden, als ich Preßsäfte von ruhenden Rüben mit Säuren, Extrakten aus verwundeten Wurzeln usw. behandelte.

Kurze Zusammenfassung der wichtigsten Resultate.

A. Zuckerwanderung.

1. Der Zucker strömt nicht, wie nach dem Vorgange Czapeks neuerdings allgemein angenommen wird, als Rohrzucker, sondern hauptsächlich als Invertzucker (speziell vielleicht Fruktose) der Wurzel zu, um dort erst zu Rohrzucker kondensiert zu werden.

2. Auf dem Wege von der Spreite basalwärts in den Blattstiel wandert neben Invert- auch Rohrzucker; der Übertritt in die Wurzel erfolgt aber lediglich als Invertzucker.

3. Der Zucker wandert in der zweiten Vegetationsperiode innerhalb der Wurzel als Rohrzucker und wird erst beim Eintritt in die Blätter gespalten.

1) „Über die Struktur des Protoplasmas“. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., XXIX, 1911, S. 181, und andere Aufsätze. Man vergleiche hierzu übrigens auch die im Plasma sichtbaren Veränderungen, welche (von Guignard u. a.) beim Auftreten von Emulsin, Diastase usw. direkt beobachtet wurden.

4. In den Achsen der blütentragenden Langsprosse steigt sehr wahrscheinlich ein Rohrzuckerstrom aufwärts. Erst in den jungen Blüten findet eine weitere Inversion statt.

B. Permeabilität.

5. Die Zellen der Blätter und Blattstiele sind permeabel für Raffinose, Rohrzucker, Maltose und mehr oder weniger für alle geprüften Hexosen, aus denen sie Stärke zu bilden vermögen. Dies gilt auch für eine Methylpentose (Rhamnose) und Glycerin, nicht aber für andere leicht permeierende höherwertige Alkohole, soweit geprüft und ebenso wenig für die Pentosen Arabinose und Xylose.

6. Das Maß der Permeabilität, nach der plasmolytischen Methode untersucht, ist für Rohrzucker und die Invertzucker sehr gering und liegt knapp über der Fehlergrenze. Glukose und Fruktose permeieren etwas leichter als Rohrzucker. Beleuchtungsverhältnisse üben einen meßbaren Einfluß nicht aus.

7. Dagegen konnten, offenbar im Zusammenhang mit der Ableitung der Assimilate, regulatorische Permeabilitätsänderungen wahrgenommen werden.

8. Die Zellen der Wurzel zeigen noch geringere Permeabilität für die genannten drei Zuckerarten als diejenigen des Laubes.

9. Die Exosmose des Zuckers aus der ausgewachsenen Wurzel wurde genauer studiert. Es exosmiert hauptsächlich Rohrzucker. Die bekannten älteren Versuche von Puriewitsch hierüber sind zu beanstanden.

10. Die Siebröhren sind nicht permeabler für Zucker als die andern Zellen und dürften bei der Zuckerwanderung schwerlich eine besondere Rolle spielen.

C. Invertase.

11. Invertase bei *Beta* ist wasserlöslich und in allen Teilen der Pflanze mit Ausnahme des Samens und der fertig ausgebildeten Wurzel dauernd vorhanden.

12. Die junge Wurzel des Keimlings enthält ebenfalls Invertase; im weiteren Wachstum nehmen die invertasischen Fähigkeiten der Wurzel rasch ab und beschränken sich schließlich in der Hauptsache auf die jüngsten wachsenden Partien. In der fertigen Wurzel wird auch beim Austreiben im zweiten Vegetationsjahre keine Invertase gebildet.

13. Eine regulatorische Bildung von Invertase findet aber auch in der ausgewachsenen Wurzel im Gefolge traumatischer Reizung statt.

14. Die zuerst von Stoklasa bei der intramolekularen Atmung von *Beta*-Wurzeln beobachtete Invertase, welche den Rohrzucker in vergärbaren Zucker umwandelt, entsteht auch wahrscheinlich nur auf traumatische Reizwirkung hin.

15. Die Invertase ist nicht in besonderen Zellen, getrennt vom Rohrzucker, lokalisiert.

16. In Anbetracht hauptsächlich der Zellreaktion, welche mit Hilfe von Toluylennitrobase untersucht wurde, ist nicht anzunehmen, daß das Enzym in den Zellsaft sezerniert wird, sondern der Rohrzucker wird wahrscheinlich erst nach Eintritt in das Plasma invertiert. Eine Sekretion des Enzyms in umgebendes Wasser wurde ebenfalls nicht beobachtet.

Berlin-Dahlem, 7. Juli 1911.
