

Gesellschaften.

Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (1876. S. 673—678).

Fortgesetzte Beobachtungen über peptonbildende Fermente im Pflanzenreiche.

Von

E. v. Gorup und H. Will.

Dritte Mittheilung *).

Fortgesetzte Untersuchungen über das Vorkommen diastatischer und peptonbildender Fermente in den Pflanzen mussten unsere Aufmerksamkeit auf die von J. D. Hooker in seinem Vortrage auf der britischen Naturforscherversammlung in Belfast (Nature Vol. X, No. 353, p. 366) gemachten höchst merkwürdigen Mittheilungen über die eiweissverdauende Kraft des *Nepenthessecretis* lenken; denn dass es sich hier ebenso wie bei den von uns nachgewiesenen peptonbildenden Fermenten um Fermentwirkung handelte, konnte nicht wohl bezweifelt werden. Hooker fand, dass die von zahlreichen Drüsen im Innern des Schlauches verschiedener Species von *Nepenthes* („Kannenschlauch“) secernirte Flüssigkeit, welche nach seinen Beobachtungen stets sauer reagirte, auf Eiweiss, rohes Fleisch, Faserstoff und Knorpelsubstanz verdauend, d. h. lösend wirkte. In allen Fällen fand er diese Wirkung sehr deutlich, in manchen geradezu überraschend. Er beobachtete weiterhin, dass die Wirkung eine weniger energische war, wenn er die aus den Kannen (Schläuchen) entleerten Flüssigkeiten in Glasgefässen mit den zu verdauenden Substanzen in Berührung brachte, wie dann, wenn er die letzteren in die Flüssigkeit der Schläuche einer lebenden Pflanze eintauchte. Auch fand er, dass die Auflösung ohne alle Fäulnisserscheinungen erfolgt. Hooker hält es nach seinen Beobachtungen für wahrscheinlich, dass eine wie Pepsin wirkende Substanz von der inneren Wand des Schlauches abgegeben wird, aber vorzugsweise, nachdem thierische Substanzen in die saure Flüssigkeit gelangt sind. Nach seiner Ansicht würde demnach ein wirksames Secret von gereizten Drüsen secernirt werden. Ueber die Art der Lösung der Eiweisskörper, ob sie als solche gelöst werden, oder ob in den Lösungen unverdaute Eiweisskörper nicht mehr vorhanden sind, scheint Hooker Versuche nicht angestellt zu haben. Bei dieser Sachlage nahmen wir uns vor, sobald wie uns Material zu Gebote stand, das *Nepenthessecret* in den Kreis unserer Untersuchungen zu ziehen, nicht als ob wir in die Angaben Hooker's irgend welches Misstrauen setzten, unsere bereits gewonnenen Erfahrungen liessen uns vielmehr ihre Richtigkeit voraussetzen, wohl aber um das Verhalten des *Nepenthessecretis* mit jenem der von uns aus verschiedenen Pflanzen erhaltenen peptonbildenden und

diastatischen Fermente genauer zu vergleichen. Herrn Reess, der uns vom Anbeginn unserer Untersuchungen mit liebenswürdigster Bereitwilligkeit durch Rath und That hülffreich zur Seite stand, wofür wir ihm auch an dieser Stelle unsern aufrichtigen Dank sagen, verdanken wir auch in diesem Falle das zur Untersuchung erforderliche Material. Er erhielt es durch die Gefälligkeit des Herrn Gaerdt, Inspector der Borsig'schen Gärten in Moabit und wurde die Aufsammlung und Verwahrung des Secrets unter Mitwirkung des Herrn Bretschneider, z. B. in Berlin, bewerkstelligt. Das Secret wurde in der Art gewonnen, dass die gefüllten Kannen verschiedener *Nepenthes* species, hauptsächlich *Nepenthes phyllamphora* Willd. und *N. gracilis* Korth. von Zeit zu Zeit entleert wurden, und zwar wurde beim Sammeln das Secret solcher Kannen, in welche bereits Insecten eingedrungen waren, und deren Inhalt Insectenreste enthielt, von jenem, welches frei von Insecten erschien, getrennt aufgefangen. Die so gewonnenen Secrete kamen uns in reinen, wohlverwahrten und versiegelten Gläschen zu.

Die darin enthaltene Flüssigkeit war nahezu farblos, schwach opalisirend bis ganz klar, völlig geruchlos und von verschiedener Consistenz. Der Inhalt einiger Gläschen war mehr dickflüssig, der anderer rein wässerig dünnflüssig. Ein irgendwie ausgesprochener Geschmack war nicht wahrzunehmen. Die Flüssigkeit, aus nicht gereizten Drüsen stammend, reagirte neutral oder höchstens kaum bemerklich sauer, jene aus gereizten Drüsen aber röthete Lakmus entschieden. Die Röthung des Papiers verschwand beim Liegen an der Luft nicht vollständig. Wir erwähnen dieses Umstandes insbesondere deshalb, weil Hooker das *Nepenthessecret* stets sauer reagirend fand.

Zu den Verdauungsversuchen wurde mit Bezugnahme auf Hooker's Vermuthung, wonach die wie Pepsin wirkende Substanz erst dann secernirt würde, nachdem thierische Stoffe, z. B. Insecten in die Kannen gelangt sind, zunächst das Secret aus gereizten Drüsen, dann aber auch jenes aus nicht gereizten verwendet, nachdem bei ersterem die darin enthaltenen Insectenreste durch Coliren entfernt waren.

I. Versuche mit aus gereizten Drüsen stammenden Secreten.

1) Nach der Grünhagen'schen Methode durch höchst verdünnte Salzsäure (2 pr. m. Säuregehalt) zur Gallerte aufgequollenes Fibrin aus Ochsenblut, von der anhängenden Salzsäure durch Pressen möglichst vollständig befreit, verhielt sich gegen das Secret folgendermaassen. Eine Flocke in das Secret gebracht, löste sich darin bei einer Temperatur von 40° C. in $\frac{3}{4}$ bis 1 Stunde nahezu vollständig zur schwach opalisirenden Lösung auf. Beträgt die Temperatur 20° C., so erfolgt die Lösung erst innerhalb 2 Stunden, ist aber ebenso vollständig. Zusatz von einigen Tropfen Salz-

*) Vergl. diese Zeitung 1875, S. 713.

säure von 0,2 Proc. Säuregehalt beschleunigt die Lösung so sehr, dass sie schon in $\frac{1}{4}$ Stunde erfolgt. Vergleichende Versuche mit nach der Wittich-Hüfner'schen Methode aus Schweinsmagen gewonnener Pepsinlösung zeigten, dass hier die Wirkung nicht rascher und nicht vollständiger war, wie bei dem Nepenthes-secrete. Nach zweistündiger Einwirkung des Secretes auf das Fibrin blieben die filtrirten Lösungen beim Kochen völlig klar, wurden weder durch Mineralsäuren, noch nach Zusatz von Essigsäure durch Ferrocyankalium gefällt, wohl aber durch Sublimat, Gerbsäure und Phosphorwolframsäure. Mit Natronlauge und höchst verdünnter Kupfersulfatlösung gaben sie prachtvoll rein und gesättigt rosaroth Färbung (Biuretreaction). Die letztere war ebenso intensiv wie bei durch Pepsin verflüssigtem Fibrin.

Controlversuche mit verdünnter Salzsäure (2 pr. m. Säuregehalt) und gallertigem Fibrin gaben wie in allen früheren Fällen negative Resultate. Ebenso verhielt sich das Secret selbst gegen obiges Reagens negativ.

2) Kleine Scheibchen von geronnenem Hühner-eiweiss mit dem Secrete und ein oder zwei Tropfen höchst verdünnter Salzsäure in Wechselwirkung gebracht, erschienen nach 24stündiger Einwirkung bei 20°C. an den Kanten angegriffen und durchscheinend. Das Filtrat gab mit Natronlauge und verdünnter Kupfersulfatlösung deutliche Biuretreaction (rosaroth Färbung).

3) Rohes Fleisch in derselben Weise behandelt, wurde bald an den Kanten durchscheinend, quoll etwas und ging theilweise in Lösung ohne alle Fäulnisserscheinungen. Nach 48stündiger Einwirkung war eine weitere Veränderung nicht mehr zu bemerken. Das Filtrat blieb beim Kochen klar, gab, mit Essigsäure versetzt, mit Ferrocyankalium keine Fällung, wurde aber durch Sublimatlösung und durch Gerbsäure gefällt. Phosphorwolframsäure gab eine im Ueberschusse des Fällungsmittels verschwindende Trübung. Natronlauge und verdünnte Kupfersulfatlösung gab einen geringen blauen Niederschlag. Nachdem sich derselbe abgesetzt hatte, erschien die darüber stehende Flüssigkeit deutlich blassrosa gefärbt.

4) Legumin in gleicher Weise behandelt, erschien nach 24stündiger Einwirkung bei 20°C. etwas gequollen und an den Kanten durchscheinend. Das Filtrat gab die Biuretreaction sehr entschieden.

5) Leim (Knochenleim) mit dem Secrete und ein paar Tropfen der mehrerwähnten verdünnten Salzsäure übergossen, hatte sich bei mittlerer Temperatur nach 24stündiger Einwirkung nahezu vollständig aufgelöst. Die filtrirte Lösung auf ein kleines Volum eingengt, gelatinirte nicht, sondern behielt die Consistenz eines dicken Syrups, hatte mithin die Gelatinirungsfähigkeit verloren.

6) Wurde dünner Stärkekleister mit dem

Secrete vermischt und die Mischung 24 Stunden lang bei einer Temperatur von 20—30°C. sich selbst überlassen, so findet keinerlei Einwirkung statt. Das Filtrat ist optisch inactiv, reducirt die Fehling'sche Flüssigkeit nicht, selbst nicht beim Kochen, und enthält mithin keinen Zucker.

II. Versuche mit aus nicht gereizten Drüsen stammenden Secreten.

Die Wirkung dieses, wie bereits bemerkt, neutral reagirenden Secrets wurde zunächst an gequollenem Fibrin studirt. Auch hier wurde das gallertiggequollene Fibrin so lange ausgewaschen, bis die saure Reaction nahezu völlig verschwunden war. Flocken von diesem Fibrin in das Secret gebracht, erlitten innerhalb mehrerer Stunden bei 20 bis 30°C. keine bemerkliche Veränderung. Nach 24stündiger Einwirkung schien sich das Fibrin etwas contrahirt zu haben, aber von Lösung war keine Rede. Das Filtrat gab mit Natronlauge und Kupfersulfatlösung einen blauen Niederschlag, und die darüber stehende Flüssigkeit zeigte einen kaum bemerkbaren Stich ins Rosaroth. Anders verhielt sich die Sache, wenn dem Gemisch von Fibrinflocken und neutralem Secrete 2—3 Tropfen der mehrerwähnten höchst verdünnten Salzsäure zugesetzt waren. Dann löste sich das Fibrin bis auf einen ganz geringen häutigen Rest innerhalb $1\frac{1}{2}$ Stunden, und verhielt sich die Lösung in allen Stücken so, wie die durch ursprünglich schon saures Secret vermittelte. Versuche über die Natur der Säure des gereizten Secretes anzustellen, verbot die beschränkte Menge des Materials. Salzsäure dürfte aber jedenfalls auszuschliessen sein. Da nun der Eine von uns in dem Secrete von *Drosera rotundifolia* Ameisensäure neben höheren Fettsäuren (wahrscheinlich Propionsäure oder Buttersäure) nachgewiesen hatte*), studirten wir zunächst das Verhalten der mit Ameisensäure schwach angesäuerten neutralen Secretes. Der Erfolg war ein geradezu überraschender. Bringt man aufgequollenes, von der anhängenden Salzsäure sorgfältig befreites Fibrin in das Secret und fügt 3—4 Tropfen verdünnter Ameisensäure hinzu, so erfolgt schon bei gewöhnlicher Temperatur fast momentan Lösung. Nach kurzer Zeit sind von den Fibrinflocken kaum bemerkbare häutige Reste übrig. Bei der höchst vorsichtigen Neutralisation des Filtrates mit verdünnter Natronlauge entsteht ein sehr geringes Neutralisationspräcipitat. Wurde dieses durch Filtration entfernt, so gab die Lösung keine der für Eiweisskörper charakteristischen Reactionen mehr, die Biuretreaction aber in grosser Intensität. Controlversuche mit Ameisensäure und Fibrin allein ergaben starkes Aufquellen des Fibrins zu einer geléeartigen Masse mit partieller

*) M. Reess und H. Will, D. Zeit. 1875, Nr. 44, p. 713. (Einige Bemerkungen über fleisshessende Pflanzen.)

Lösung desselben. Die filtrirte Lösung lieferte ein sehr starkes Neutralisationspräcipitat, und Natronlauge und verdünnte Kupfersulfatlösung riefen keine rosaroth, sondern rein blaue Färbung in der Lösung hervor.

Versuche, bei welchen die neutralen Secrete mit Essigsäure und mit Propionsäure angesäuert wurden, ergaben ähnliche Resultate, wie die Versuche mit dem an und für sich sauren Secrete, d. h. die Wirkung der Säuren ist eine schwächere, wie jene der Ameisensäure. Unter gleichen Bedingungen ist die Wirkung der Propionsäure wieder schwächer, wie jene der Essigsäure. Bei einer Temperatur von 20—30°C. ist das Fibrin erst nach 2—3 Stunden völlig gelöst. Auch waren in der filtrirten Lösung vorwiegend noch Eiweisskörper enthalten und gab die Lösung die Biuretreaction nur sehr schwach. Viel günstigere Erfolge wurden unter Anwendung von Aepfelsäure und der Citronensäure erzielt. Beim Ansäuern des Secretes mit der erstgenannten Säure wurde das Fibrin bei gewöhnlicher Temperatur schon nach 10 Minuten nahezu völlig gelöst. Wurde das Filtrat sofort nach der Lösung auf Peptone geprüft, so war die Biuretreaction zwar schon erkennbar, aber schwach. Wurde dagegen die Prüfung auf Eiweisskörper und Peptone erst nach 2 Stunden vorgenommen, so war das Neutralisationspräcipitat nur sehr gering und die Biuretreaction war entschieden deutlicher.

Noch wirksamer wie die Aepfelsäure erwies sich die Citronensäure. Nach zweistündiger Einwirkung des Verdauungsgemisches auf gequollenes Fibrin, welches übrigens bereits in weit kürzerer Zeit in Lösung gegangen war, gab die filtrirte Lösung ein nur sehr geringes Neutralisationspräcipitat mehr, aber eine intensive Biuretreaction, wie bei der Anwendung von Ameisensäure. Controlversuche mit Aepfelsäure und Fibrin und Citronensäure mit Fibrin allein gaben völlig negative Resultate. Aus der von uns wiederholt beobachteten Erscheinung, dass die erhaltenen Lösungen, sofort nach der Lösung geprüft, noch viel Eiweisskörper als solche enthalten, während bei längerer Einwirkung des Secretes die Reactionen der Eiweisskörper allmählich verschwinden und jenen der Peptone Platz machen, scheint hervorzugehen, dass die Peptonbildung ein zweites, und nicht das erste Stadium der Einwirkung des Fermentes bezeichnet, doch wären zur endgültigen Erledigung dieser Frage eingehende Untersuchungen nöthig.

Mit den vorstehenden Beobachtungen mussten wegen der beschränkten Menge des Materials für jetzt unsere Untersuchungen ihren Abschluss finden. Von besonderem Interesse wäre die Ermittlung der Natur der freien Säure des sauren Secretes und die Isolirung des darin enthaltenen peptonbildenden Fermentes.

Vielleicht dass es gelingt, uns die zu derartigen Versuchen nöthigen Mengen von Secret zu verschaffen. Unsere Beobachtungen bestätigen aber nicht nur die Hooker'schen Angaben über die verdauende Kraft des Nepenthessecretes in allen Punkten, sondern sie lehren gleichzeitig, dass es sich hier so wie bei anderen von uns im Pflanzenreiche nachgewiesenen Fermenten um wahre Peptonwirkungen handelt, und zwar um so energische und gleichzeitig denjenigen des thierischen Pepsins so analoge, dass wir den sauren Saft der Nepentheschläuche geradezu als eine pflanzliche Pepsinlösung zu bezeichnen, keinen Anstand nehmen. So wie Pepsin allein ohne Gegenwart freier Säure keine verdauende Wirkung ausübt, so auch das neutrale Secret von *Nepenthes*. So wie Pepsinlösungen keine diastatischen Wirkungen ausüben, so auch das saure Nepenthessecret, und so wie endlich Magensaft und saure Pepsinlösungen auf Leim nicht einfach lösend wirken, sondern denselben in Leimpeptone, d. h. eine Substanz verwandeln, welche die Gelatinirungsfähigkeit des Leims nicht besitzt (de Bary, Metzler, Fede, Schweder), so wirkt auch das Nepenthessecret, wenn sauer, auf Leim nicht einfach lösend, sondern gleichzeitig umsetzend.

Litteratur.

Arbeiten des botanischen Laboratoriums der kais. Universität Warschau. Herausgegeben von A. Fischer von Waldheim. Heft I, mit Plan und Photographie. Warschau. 1875. 8°. — 31 S. Desgl. Heft II, mit 1 Tafel. — 16 S. (Beide Hefte in russischer Sprache.)

Das erste Heft enthält eine Vorrede, in welcher Herausgeber hervorhebt, dass botanische Laboratorien noch manchen Universitäten, selbst des Auslandes, fehlen, obgleich deren Nutzen von Pflanzenphysiologen allgemein anerkannt, und dass die warschauer Universität in Gründung eines solchen einige vaterländische Universitäten überholte. Was die Herausgabe der vorliegenden »Arbeiten« anbelange, so sollen selbige ungewungen, je nach vorhandenem Material erscheinen.

Nach einer Dedication (dem Vater des Herausgebers, zu dessen 50jährigem Doctorjubiläum) folgt erstens eine Beschreibung des botanischen Laboratoriums vom Herausgeber. Es wird darin die Entstehung und Gründung desselben, sowie der Zweck — den Interessen physiologischer Botanik zu dienen, durch den Verf. besprochen; sodann das vorhandene Inventar, welches bei der Eröffnung des Laboratoriums, im Jahre 1874, aus 660 Gegenständen, im Betrage von 1638 R., und an Materialien für 138 R. bestand. Zum Schlusse des akad. Jahres 1874/1875 enthielt das Laboratorium 750 Gegenstände, die sammt den Materialien eine