

40. Leonid Iwanow: Ueber die Umwandlungen des Phosphors beim Keimen der Wicke.

(Vorläufige Mittheilung).

Eingegangen am 11. Juli 1902.

In einer früheren Arbeit¹⁾ habe ich mit Hülfe mikrochemischer Reactionen das Auftreten und Verschwinden der freien, reagirenden Phosphorsäure (Phosphat-Ionen) nachgewiesen.

In Anbetracht der mikrochemischen Methode hatte diese Untersuchung die Bedeutung einer vorläufigen Recognoscirung. Um jedoch den Schlussfolgerungen mehr Beweiskraft zu geben, musste ich nunmehr zur makrochemischen Methode greifen. Dieselbe gab mir die Möglichkeit, das Schicksal desjenigen Phosphors zu verfolgen, welcher in Eiweissstoffen, im Lecithin und in den qualitativ nicht höher bestimmten löslichen organischen Phosphaten gebunden ist²⁾.

Das Verfahren bestand in Folgendem: Zum Untersuchungsobject wählte ich die Wicke (*Vicia sativa*), da wir für die verschiedenen Keimungsstadien dieser Pflanze eine fast vollständige Berechnung der stickstoffhaltigen, sowie der stickstofffreien Bestandtheile besitzen³⁾.

Die Wickenpflänzchen wurden auf paraffinirten Netzen in einer 0,2proc. KNOP'schen Nährlösung ohne Phosphor in Gefässen von $4\frac{1}{2}$ l Inhalt gezogen. Nachdem die Samen durch 24stündiges Liegen in Wasser gequollen waren, wurden sie in einer Schicht auf dem Netze ausgebreitet und mit feuchtem Fliesspapier bedeckt. Als nach 1 bis 2 Tagen die ersten Würzelchen erschienen, wurden alle nicht aufgegangenen Samen entfernt und die nicht in die Netzmaschen gelangten Würzelchen zurecht gerückt. Culturen wurden gleichzeitig (Mai—Juni 1901) im Licht⁴⁾ (Südfenster) und im Dunkeln angestellt. Die Pflanzen wurden (zu 300 bis 400 Exemplaren) am 5., 10., 20., 27. und 29. Tage nach Erscheinen der Würzelchen gleichzeitig sowohl den Licht-, als auch Dunkelculturen entnommen. Die gesammelten Pflanzen wurden bei 60—70° getrocknet und darauf in der Mühle zerkleinert.

1) Jahrbücher für wissenschaftl. Botanik, Bd. XXXVI, S. 355.

2) Wahrscheinlich gehört hierher die jüngst von PASTERNAK gefundene Oxymethyl-Phosphorsäure und vielleicht auch die Glycerin-Phosphorsäure.

3) PRIANISCHNIKOW, Versuchsstat. 1896, Bd. 46, S. 467.

4) Bei den Lichtculturen war sogar nach 20 Tagen eine Gewichtszunahme nicht zu bemerken.

In dem auf solche Weise erhaltenen Material (zu je 30 g für jedes Stadium) wurde bestimmt: 1. Die Gesamtmenge an P_2O_5 , 2. der anorganische Phosphor (Phosphat-Ionen), 3. der Phosphor des Lecithins, 4. der Phosphor der Eiweissverbindungen, 5. der Phosphor der löslichen organischen Verbindungen.

Zur Bestimmung des Gesamtposphors wurde eine Gewichtsprobe von 3—5 g nach der Methode MERKER bearbeitet und verbrannt, jedoch mit einigen von BUTKEWITSCH im landwirthschaftlichen Laboratorium des Ackerbau-Ministeriums angewandten Veränderungen¹⁾. Eine Abweichung meinerseits bestand nur im Hinzufügen von $KClO_4$ (Kalium hyperchloricum) beim Kochen mit concentrirter H_2SO_4 , anstatt mit concentrirter HNO_3 . Dieses Verfahren ist viel bequemer und beschleunigt die Verbrennung. Hierauf wurde die Flüssigkeit bis zu 50 *ccm* mit Wasser versetzt, filtrirt, durch Ammoniak neutralisirt und darauf wurde die Phosphorsäure, nach Ansäuerung mit HNO_3 , nach dem Molybdänverfahren gefällt.

Der Phosphor des Lecithins wurde in einer Gewichtsprobe von 10—12 g nach dem SCHULZE-STEIGER'schen Verfahren²⁾ bestimmt, jedoch mit dem Unterschiede, dass wegen Mangel an Platingeschirren das Aether-Alkohol-Extract in Porcellanschalen abgedampft, von hier mit concentrirter H_2SO_4 in einen KJELDAHL-Kolben von 100 *ccm* Inhalt abgespült und durch Kochen mit Säure, ganz wie bei der Bestimmung des Gesamtposphors, verbrannt wurde.

Der Phosphor der Eiweissstoffe wurde auf folgende Weise bestimmt: Eine Gewichtsprobe von 5—7 g wurde in einen Kjeldahl-Kolben gethan, mit 100—150 *ccm* 1 procentiger Essigsäure begossen und auf dem Wasserbade 10—15 Minuten lang erwärmt. Nach erfolgter Abkühlung wurden die gefällten Eiweissstoffe von der Lösung vermittelst einer mit Filtration durch einen kleinen Flanellfilter verbundenen Decantation getrennt, so dass zusammen mit dem Waschwasser ungefähr 500 *ccm* Flüssigkeit gesammelt wurden. Darauf wurde der Filter mit einer kleinen Menge des von ihm zurück gehaltenen Niederschlages in den Kolben geworfen und der ganze Inhalt, wie bei der Bestimmung des Gesamtposphors verbrannt; nur wurde anfangs statt HNO_3 vom specifischen Gewicht 1,4 dieselbe Menge rauchender HNO_3 hinzugefügt. Indem ich von der gefundenen Menge Phosphor die in dem Lecithin gebundene Quantität abzog, erhielt ich die Quantität des Phosphors in den Eiweissstoffen.

Nach der Fällung der Eiweissstoffe wurde das Filtrat zusammen mit dem Waschwasser in zwei Portionen getheilt: Die eine wurde

1) Rechenschaftsbericht des Laboratoriums für das Jahr 1898. St. Petersburg, 1900, S. 92. (Russisch.)

2) E. SCHULZE und STEIGER, Zeitschr. für phys. Chemie. Bd. XIII, S. 366.

eingedampft, mit H_2SO_4 verbrannt und diente zur Bestimmung des gesammten sich in gelöstem Zustande befindenden Phosphors; die andere diente zur Bestimmung des anorganischen Phosphors durch unmittelbare Fällung mit Molybdänflüssigkeit. Die Differenz zwischen dieser und jener Bestimmung zeigte den in löslichen organischen Verbindungen gebundenen Phosphor an.

Da die Methoden zur Bestimmung des Eiweissphosphors, sowie des anorganischen Phosphors von mir zuerst benutzt sind, so wurden behufs kritischer Controle ihrer Anwendbarkeit einige Versuche angestellt. Was die Phosphorbestimmung im Eiweiss betrifft, so taucht vor Allem die Frage auf, ob bei Erwärmung in 1procentiger Essigsäure auch wirklich eine Abtrennung der Eiweissverbindungen erreicht wird, wenn auch nur in dem Masse, wie nach der STUTZER'schen Methode. Zur Entscheidung dieser Frage bestimmte ich in dem Filtrat, welches ich von den durch Kochen gefällten Eiweissstoffen erhielt, den Eiweissstickstoff nach STUTZER. Auf diese Weise überzeugte ich mich, dass ich den Phosphor fast in derselben Quantität Eiweissstoffe bestimme, in welcher der Eiweissstickstoff nach STUTZER bestimmt wird. Bei den verschiedenen Stadien blieb im Filtrat höchstens ca. 0,2 pCt. Eiweissstickstoff der ganzen Gewichtsprobe zurück. Für Phosphor giebt dies aber eine zehnmal geringere Differenz, d. h. 0,02 pCt., und wieder nur in dem Fall, wenn wir voraussetzen, dass in den im Filtrat zurück gebliebenen Eiweissverbindungen nur zehnmal weniger Phosphor als Eiweissstickstoff vorhanden ist. Auf diese Weise konnte, unter gewöhnlichen Umständen, die Fällung der Eiweissstoffe durch Erwärmung Unterschiede im Phosphorgehalt weniger als 0,02 pCt. im Vergleich mit der STUTZER'schen Methode ergeben, und daher ist die Menge des nach dieser Methode gefundenen Eiweissphosphors vergleichbar mit dem nach der STUTZER'schen Methode gefundenem Eiweissstickstoff. Diesen Umstand hatte ich bei meiner Arbeit hauptsächlich im Auge.

Es ist auch ein anderer Einwand möglich, welcher übrigens jegliche Methode, nach der auf die eine oder die andere Weise Eiweissstoffe gefällt werden, betrifft. Sie besteht darin, dass bei der Fällung die Eiweissstoffe verschiedene Salze und darunter auch die Phosphorsäure mit sich reissen könnten, wodurch die Menge des Eiweissphosphors fälschlicher Weise vergrössert würde. Jedoch die Versuche, welche, um den Einfluss dieses Factors zu bestimmen, angestellt wurden, wovon ich in einer eingehenden Arbeit berichten werde, haben gezeigt, dass derselbe bei den in Frage kommenden Bedingungen keine Rolle spielt.

Was die Bestimmungsmethode der anorganischen Phosphorsäure betrifft, so sind hierbei zwei Einwände möglich: 1. Wäre es möglich, dass die löslichen organischen Phosphorverbindungen unter dem Ein-

fluss der Salpetersäure in der Molybdänflüssigkeit zersetzt werden; würde man, umgekehrt, kleinere Zahlen erhalten, wenn die organischen Verbindungen auf die Fällung der Phosphorsäure durch Molybdänflüssigkeit hemmend wirken? Allein auch diese Befürchtungen erwiesen sich, wie ich später zeigen werde, als unbegründet.

Ich gehe nun auf die Beschreibung der erhaltenen Resultate über.

Die Gesamtposphormenge (berechnet in P_2O_5) verändert sich bei der Keimung folgendermassen, ausgedrückt in Procent der lufttrockenen Substanz:

0	I	II	III	IV
0,915	0,935	1,115	1,24	1,27

wobei 0 das Samenstadium und die römischen Ziffern nach der Reihe 5-, 10-, 20- und 27- bis 29tägige Keimlinge bedeuten.

Hieraus lässt sich folgender Verlust durch Athmung in Procenten berechnen:

I	II	III	IV
2,13	17,77	25,81	27,6

Diese Zahlen stehen den von D. J. PRIANISCHNIKOW für dieselbe Pflanze gefundenen Daten sehr nahe¹⁾.

Für anorganischen Phosphor war in denselben Stadien das Procentverhältniss in der lufttrockenen Substanz:

0	I	II	III	IV
0,105	0,45	0,91	0,995	1,19

Dies macht in Procenten vom Gesamtposphorgehalt aus:

0	I	II	III	IV
11,4	48,1	81,6	80,2	93,7

Hieraus folgt, dass die Phosphorsäure, welche sich aus organischen Verbindungen herauslöst, in den ersten 10 Tagen rasch zunimmt, dass hierauf in der zweiten 10tägigen Periode ungeachtet der stattfindenden Athmung dieser Process in's Stocken geräth und endlich in der letzten 10tägigen Periode wieder beginnt, freilich in geringem Umfange.

Beachtenswerth ist auch der Umstand, dass im 4. Stadium, in welchem noch ein Drittel der Eiweissverbindungen vorhanden ist, der Phosphor schon fast gänzlich in anorganische Verbindungen übergegangen ist; an organische Verbindungen gebunden bleiben nur 6,3 pCt.

Aus welchen Verbindungen löst sich die bezeichnete Phosphormenge heraus?

Betrachten wir, welche Rolle hierbei dem Lecithin zufällt. Der Phosphorgehalt dieser Verbindung war für zwei Stadien bestimmt

1) PRIANISCHNIKOW, l. c.

worden und verändert sich, ausgedrückt in Procent der lufttrockenen Substanz, folgendermassen:

0	III
0,103	0,09

d. h. es scheint, als ob sich die Menge desselben kaum verändert, aber in Procenten des gesammten Phosphors erhalten wir:

0	III
11,6	6,6

Folglich geht eine Zersetzung wohl vor sich¹⁾, obgleich hierbei eine so geringe Menge P_2O_5 frei wird, dass man die Hauptmasse des erscheinenden anorganischen Phosphors anderen Verbindungen zuschreiben muss. Bemerkenswerth ist unter anderem auch die Beständigkeit des Phosphors in dieser Form. Im III. Stadium, in dem zwei Drittel der Eiweissstoffe zerfallen sind (vergl. unten), blieb noch die Hälfte der früheren Lecithinmenge übrig.

Der Eiweissphosphor verändert sich in folgender Weise:

	0	I	II	III	IV
In Procent der lufttrockenen Substanz	0,48	0,35	0,167	0,17	0?
In Procent des Gesammtphosphors	52,5	37,4	15	13,7	0?

Wir sehen, dass die Eiweiss- P_2O_5 , welche in den Samen mehr als die Hälfte des Gesammtphosphors ausmacht, im Laufe der ersten 10 Tage rasch zerfällt, worauf der Zerfall langsamer wird, dennoch aber bis an 0 herankommt. Wenigstens kam im IV. Stadium auf Lecithin + Eiweissverbindungen nur 6,3 pCt. des Gesammtphosphors. Da aber der Phosphor des Lecithins im vorhergehenden Stadium 6,6 pCt. beträgt und man, bei der geringen Veränderlichkeit dieser Verbindung, für das IV. Stadium eine wenig abweichende Zahl annehmen kann, so bleibt für die Eiweissstoffe eine unbedeutende Menge, welche 0 nahe ist.

Hieraus folgt, dass die phosphorhaltigen Eiweissverbindungen (Nucleoalbumine und Nucleoproteide) sich leicht zersetzen und dass dieselben — dieses ist besonders wichtig — noch in der lebenden Pflanze fast gänzlich zerfallen. Dieses Verhältniss kann man noch übersichtlicher machen, wenn wir in den Eiweissstoffen das Verhältniss $\frac{P}{N}$ berechnen. Die Menge des Eiweissstickstoffes betrug bezüglich der Trockensubstanz in Procenten:

0	I	II	III
4,09	3,62	2,24	2,19

oder nach Berücksichtigung des Verlustes durch Athmung:

0	I	II	III	IV
4,09	3,55	1,84	1,54	1,4

1) PRIANISCHNIKOW, l. c. — STOKLASA, Sitzungsber. der Kais. Akademie der Wiss. Wien 1896, VIII. Heft, S. 629—620.

Wenn wir durch diese Zahlen die entsprechenden für den Eiweissphosphor gefundenen Zahlen dividiren, nachdem letztere von P_2O_5 auf P_2 umgerechnet sind, so erhalten wir:

	0	I	II	III
	$\frac{0,20976}{4,09}$	$\frac{0,15295}{3,62}$	$\frac{0,0699}{2,24}$	$\frac{0,06992}{2,19}$
oder:	0	I	II	III
	$\frac{1}{19}$	$\frac{1}{24}$	$\frac{1}{33}$	$\frac{1}{31}$

Im IV. Stadium ist die Menge des Eiweissphosphors nahe an 0 und der Coefficient wahrscheinlich sehr klein. Folglich ist im Samen, in welchem die Eiweissstoffe hauptsächlich in Form von plastischen Reservestoffen vorkommen, der Coefficient $\frac{P}{N} = \frac{1}{19}$, d. h. er steht sehr nahe dem gleichen Coefficienten für die Nucleoalbumine und insbesondere des Caseïns. Diese Proportion $\frac{P}{N}$ wird kleiner vom Moment der Keimung an, wenn die Reserveeiweissstoffe theils zerstört werden, theils in den Plasmabestand der Kerne und Plastide übergehen, folglich indem sie formative Substanzen werden.

Vom Standpunkt der neuesten Vorstellungen von der chemischen Zusammensetzung des Kernes und des Plasmas, welche hauptsächlich auf mikrochemischen Reactionen beruhen, erscheint ein solches Ergebniss einigermassen unerwartet, da gerade die Nucleïne als die wichtigsten und unentbehrlichsten Bestandtheile des Kernes angesehen werden. Bei der Keimung hätte also die Vermehrung der Kerne und folglich, auch der Nucleïnsubstanzen, deren Coefficient $\frac{P}{N}$ zwischen $\frac{1}{12}$ (PETIT für Weizenembryonen) und $\frac{1}{25}$ (MIESCHER für Lachsperma) schwankt, unbedingt eine Vergrösserung dieser Coefficienten auch bei meinen Untersuchungen zur Folge haben müssen, was aber nicht beobachtet wurde.

Es ist noch zu bemerken, dass die Bestimmung der durch Magensaft unverdaulichen Eiweissmenge, wie sie PRIANISCHNIKOW ausgeführt hat¹⁾, ebenfalls keine Zunahme dieser Substanzen ergeben hat. Er erhielt nämlich für die auf einander folgenden Stadien an Nucleïn-N in Procenten der Trockensubstanz mit Correctur Gewichtsverlust:

	0	I	II	III	IV
	0,48	0,37	0,36	0,36	0,38

d. h., es wurde sogar eine kleine Verringerung bemerkt, welche in meinen Versuchen bei der Bestimmung des Coefficienten $\frac{P}{N}$ ganz augenscheinlich wird.

Ohne für's Erste dieses Ergebniss zu verallgemeinern, da ich dasselbe nur an einem Object festgestellt habe, glaube ich nur die

1) PRIANISCHNIKOW, l. c.

Vermuthung aussprechen zu dürfen, dass die Nucleoproteide (Nucleine, Chromatin?) zu den plastischen Substanzen gehören¹⁾.

Was die qualitativ nicht näher bestimmten löslichen organischen Phosphate betrifft, so veränderten sie sich, in Procenten des Gesamtposphors ausgedrückt, folgendermassen:

0	I	II	III
25,7	9,8	0	5,1

In die Augen fallend ist der grosse Gehalt an diesen Substanzen im Samen und ihre grosse Zersetzlichkeit bei der Keimung. Ihrem Auftreten im III. Stadium ist wohl keine Bedeutung zuzumessen, da beim Bestimmen nach Differenzen eine solche Zahl als Resultat eines Fehlers in der Analyse angesehen werden kann.

Zum Schluss ziehe ich die Ergebnisse meiner Arbeit in folgende Sätze zusammen:

1. Beim unmittelbaren Fällen durch Molybdänflüssigkeit erreicht man eine quantitative Abtrennung der organischen Phosphate von den anorganischen (Phosphat-Ionen), und zwar mit einer Genauigkeit, welche vollständig für physiologische Zwecke genügt.

2. Die Bestimmung des Phosphors in den Eiweissstoffen, welche in saurer Lösung durch Erwärmen gefällt werden, giebt (nach Abzug des Phosphors im Lecithin) die Menge des Eiweissphosphors an, welche mit der nach STUTZER bestimmten Menge des Eiweissstickstoffes verglichen werden kann.

3. Bei der Keimung erscheinen rasch und vermehren sich während der ganzen Zeit die anorganischen Phosphate (Phosphat-Ionen) und erreichen nach 30 Tagen 93 pCt. des Gesamtposphors.

4. Die grössten Phosphormengen machen die Eiweissstoffe frei, nach ihnen die löslichen Phosphate und am wenigsten — Lecithin.

5. Lecithin verändert sich bei der Keimung am wenigsten, es ist die beständigste Phosphorverbindung.

6. Die Eiweissstoffe verlieren bei der Keimung im Dunkeln immer mehr und mehr Phosphor, was durch die beständige Verringerung des Coefficienten $\frac{P}{N}$, der sich bis 0 nähert, ausgedrückt wird.

St. Petersburg, Forst-Institut.

1) Siehe auch PFEFFER, Pflanzenphysiologie. Bd. I, S. 458.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1902

Band/Volume: [20](#)

Autor(en)/Author(s): Iwanow(ff) Leonid

Artikel/Article: [Ueber die Umwandlungen des Phosphors beim Keimen der Wicke
366-372](#)