

50. F. Czapek: Stoffwechselprocesse in der geotropisch gereizten Wurzelspitze und in phototropisch sensiblen Organen.

(Vorläufige Mittheilung).

Eingegangen am 9. October 1902.

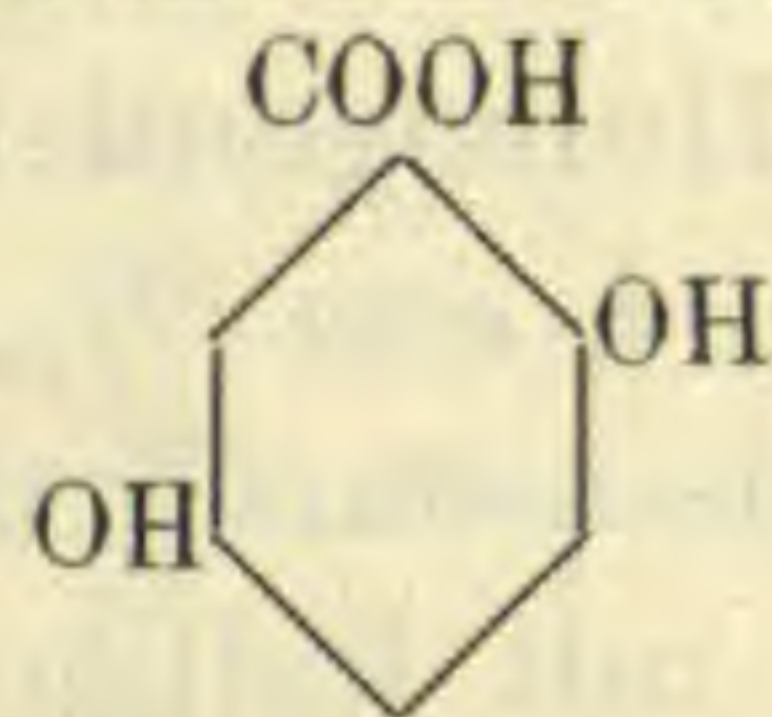
Im Jahre 1897 konnte ich an dieser Stelle¹⁾ über Befunde berichten, welche unzweideutig auf chemische Differenzen von geotropisch gereizten Wurzelspitzen im Vergleiche zu ungereizten Spitzen hinwiesen. Damals wurde constatirt, dass geotropisch gereizte Wurzelspitzen in ammoniakalischem Silbernitrat erwärmt eine viel stärkere Silberreduction zeigen, als ungereizte Controlobjecte. Die analytische Untersuchung ergab, dass die reducirende Substanz ein Benzolderivat sei, wahrscheinlich eine Phenolsäure, deren Identificirung sich jedoch nicht völlig durchführen liess. Mit vermehrtem Zuckergehalte hat, wie die Untersuchung ergab, diese Silberreduction nichts zu thun. Wegen der Unmöglichkeit die reducirende Substanz mit einem bekannten Stoffe zu identificiren, unterblieben quantitative Bestimmungsversuche. Als weitere Thatsache wurde festgestellt, dass sich gereizte Wurzelspitzen, in Guajakemulsion gelegt, merklich langsamer blau färbten, als nicht geotropisch inducirte Controlobjecte. Ebenso trat die Purpurfärbung mit alkalischer Lösung von α -Naphthol + p -Phenylendiamin, ferner die Bläuung einer durch Reductionsmittel entfärbten Lösung von Indigkarmin bei inducirten Wurzelspitzen deutlich später auf, als bei ungereizten Organen. Es gelang nachzuweisen, dass die Substanz, welche die obigen Farbenreactionen in der Wurzelspitze erzeugt, ein oxydasisches Enzym ist; es war aber unmöglich zu unterscheiden, ob diese Oxydase bei geotropischer Reizung vermindert wird, oder ob eine Hemmung der Wirkung auf anderem Wege stattfindet.

Dem Wunsche, in diesen Beobachtungen die Schätzung der festgestellten Differenzen durch quantitativ analytisch ermittelte Zahlen zu ersetzen, wurde die Erfüllung erst im vorigen Jahr zu Theil, als es gelungen war, die Beziehungen der silberreducirenden Substanz der Wurzelspitze zum Tyrosin aufzudecken und damit zur Sicher-

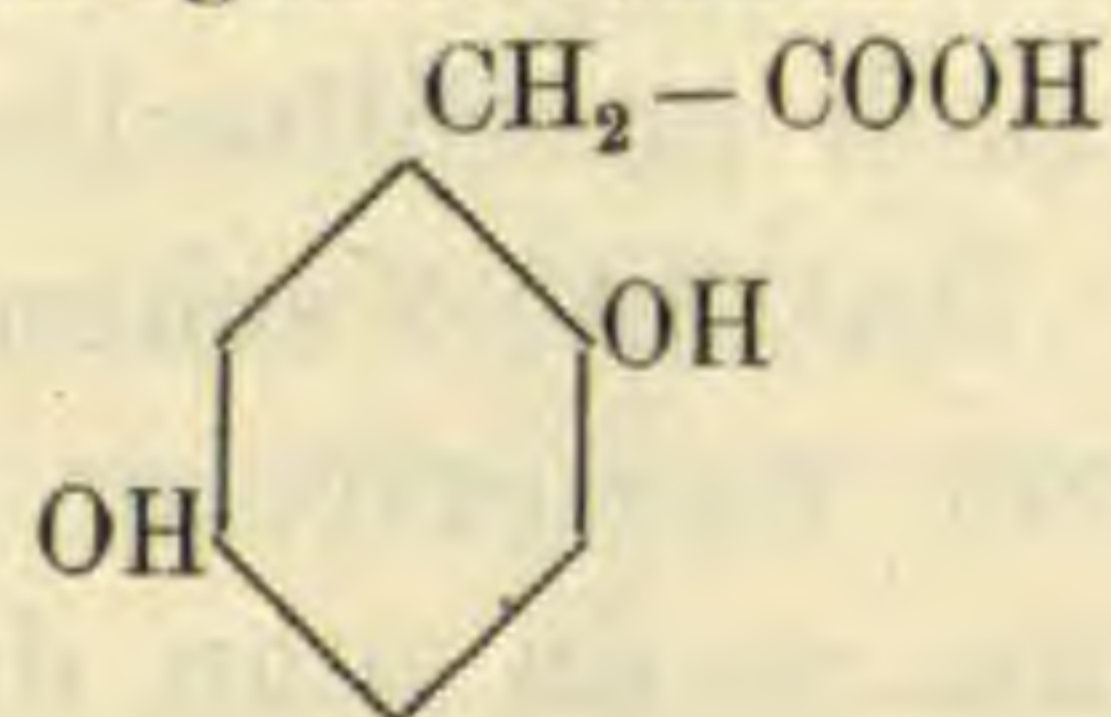
1) Ueber einen Befund an geotrop. gereizten Wurzeln. Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch., Bd. 15, S. 516 (1897). Ferner in meinen „Weit. Beiträgen zur Kenntniss der geotrop. Reizerscheinungen“ im Jahrb. für wissensch. Botanik, Bd. 32, S. 207 (1898).

stellung der chemischen Natur dieses Stoffes zu kommen. Es handelt sich um die durch WOLKOW und E. BAUMANN¹⁾ 1891 aus Alkaptonharnen isolirte und zuerst beschriebene Homogentisinsäure, dem nächst höheren Homologen der Gentisinsäure oder Hydrochinoncarbon-säure.

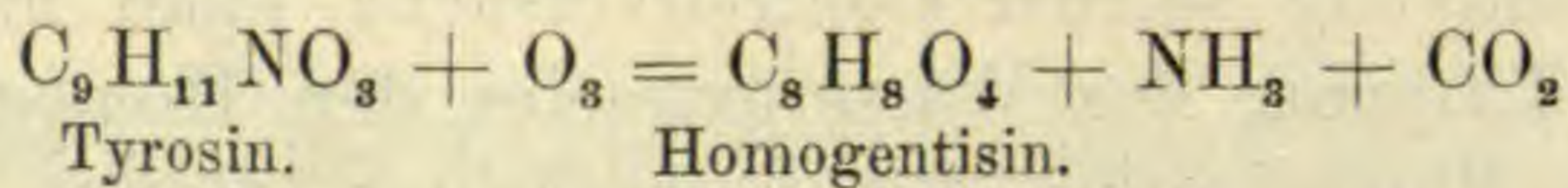
Gentisinsäure:



Homogentisinsäure:



BAUMANN und WOLKOW gelang es auch festzustellen, dass diese Säure im Organismus aus dem Tyrosin entsteht, und zwar durch Oxydation, Desamidirung und CO_2 -Abspaltung:



Wie BERTRAND²⁾ und weiter GONNERMANN³⁾ für die pflanzliche Biochemie und zahlreiche Forscher für die Thierphysiologie fanden, wird diese Ueberführung von Tyrosin in Homogentisinsäure im Organismus durch Enzyme (Tyrosinase) besorgt. Dass dies aber in wachsenden Wurzel- und Sprossspitzen, wie auch in Keimlingen allgemein stattfindet, hat die in meinem Laboratorium ausgeführte Bearbeitung des Gegenstandes durch Herrn R. BERTEL ergeben, welcher an anderer Stelle⁴⁾ ausführlicher hierüber berichtet. Bezüglich der Identificirung unserer reducirenden Substanz aus Wurzelspitzen mit Homogentisinsäure verweise ich daher auf diese Mittheilung. Ich will nur, als für uns hier von hervorragender Bedeutung, noch erwähnen, dass die Homogentisinsäure durch ein in Wurzelspitzen regelmässig vorkommendes Enzym vom Typus der BERTRAND'schen Laccase noch weiter in eine nicht mehr AgNO_3 reducirende Substanz oxydirt wird. BAUMANN und WOLKOW haben nun für Homogentisinsäure eine quantitative Bestimmungsmethode ausgearbeitet (Titrirung mit ammoniakalischer Silberlösung), welche sich mit geringen Aenderungen sehr wohl für meinen Zweck, die Stoffwechselforgänge in Wurzelspitzen zu untersuchen, eignete. Die genaue Beschreibung der Methode mit den anzuwendenden Cautelen soll der ausführlichen Arbeit vorbehalten bleiben. Die Methode ist hinreichend empfindlich, um 1 *mg* Homogentisinsäure sicher zu bestimmen. In jedem meiner Versuche wurden von 100 Wurzeln die Spitzen (2 *mm* lang)

1) M. WOLKOW und E. BAUMANN, Zeitschr. für physiol. Chem. Bd. 15, S. 228 (1891).

2) BERTRAND, Compt. rend. 122, S. 1215.

3) M. GONNERMANN, Pflüger's Arch., 82, S. 289 (1900).

4) R. BERTEL, Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch. Bd. 20 dieses Heft (1902).

abgeschnitten, mit Glasstaub fein verrieben, der Brei auf ein bestimmtes Volumen (25 *ccm*) aufgefüllt, und mit einem Theile (10 *ccm*) die Silbertitrierung ausgeführt. So war genug Material für zwei Bestimmungen in jedem Versuche vorhanden. Im wässerigen Extracte der Wurzelspitzen wird ein erheblicher Antheil der Silberlösung zur Fällung von Eiweiss u. s. w. verbraucht, und man darf nicht den ganzen Verbrauch an Silberlösung auf Homogentisinsäure unter Benutzung des BAUMANN'schen Factors 1 *ccm* $\frac{1}{10}$ Normal- AgNO_3 = 4,1 *mg* reiner wasserfreier Homogentisinsäure) umrechnen. Hingegen darf man, wenn man die Spitzen mit kaltem 96 pCt. Alkohol verreibt, den Brei filtrirt, das Filtrat eindunstet und den Rückstand mit Wasser aufnimmt, ohne einen in's Gewicht fallenden Fehler den ganzen Verbrauch an Silberlösung auf Homogentisinsäure beziehen. Mit Berücksichtigung solcher Controllversuche kann man auch aus der directen Titrierung des Wasserextractes den Homogentisinsäuregehalt durch Multiplication der verbrauchten Menge $\frac{1}{10}$ Normal- AgNO_3 in *ccm* mit 1,23 finden.

In Wurzelspitzen ist 20—25 pCt. der Trockensubstanz an Homogentisinsäure enthalten; eine so bedeutende Anhäufung eines Stoffes ist sonst nur von Reservestoffen im Pflanzenorganismus bekannt.

Mit Hülfe unserer Methode ist es nun ganz leicht die Vermehrung der Homogentisinsäure nach stattgehabter geotropischer Reizung in allen Wurzelspitzen, aber auch in Hypocotylen, Sprossen sicher zu stellen. Wenn die Reaction im Maximum angelangt ist, so beträgt die Vermehrung etwa 15 pCt. der im ungereizten Zustande vorhanden gewesenen Homogentisinsäure, und es ist eine Täuschung durch individuelle Schwankungen bei diesen Bestimmungen mit Sicherheit auszuschliessen. Die Vermehrung des Homogentisinsäuregehaltes der Wurzelspitzen tritt constant bedeutend früher auf als die ersten Anfänge der Reizkrümmung sichtbar werden. Meist trifft der Zeitpunkt des Eintrittes der Homogentisinsäurevermehrung ungefähr mit dem Ablaufe der Präsentationszeit zusammen, d. h. der geringsten Inductionsdauer, welche noch auf dem Klinostaten eine deutliche Nachkrümmung erzeugen kann; dies sind gewöhnlich 15 Minuten bei Keimwurzeln für Geotropismus. Das Maximum der Homogentisinsäurevermehrung ist stets bei Beginn der Reizkrümmung erreicht und tritt bei 18—20° C. etwa nach $\frac{1}{2}$ Stunde ein. Wenn die geotropische Krümmung deutlich sichtbar ist, beginnt sich der Homogentisinsäuregehalt der Wurzelspitzen zu vermindern, und er ist, sobald die Spitzen die Verticalstellung annähernd erreicht haben, immer bereits auf die normale Höhe herabgesunken. Als Beispiel führe ich an Bestimmungen des Homogentisinsäuregehaltes von 100 Keimwurzeln von *Lupinus albus* bei 18—20° C., verschieden langer Inductionszeit und steter Beifügung der bei Controllwurzeln

erhaltenen Resultate. Der fett gedruckte Theil der Tabelle betrifft die Zeit vom Auftreten der geotropischen Krümmung bis zur Vollendung der letzteren.

Reizungs- dauer Minuten	In 100, Wurzeln Ungereizt mg	Homogentisinsäure Gereizt mg
5	6,15	6,15
10	6,15	6,15
15	5,8	6,15
20	6,4	6,8
25	5,8	6,8
30	6,4	7,4
45	6,15	7,1
60	5,8	6,6
90	6,15	6,6
120	6,6	6,9
180	5,8	5,8

Wir dürfen mit aller Bestimmtheit annehmen, dass die beobachtete Homogentisinsäurevermehrung in nichts anderem eine Ursache haben kann, als in der stattgefundenen geotropischen Reizung; die geotropische Reaction ist somit mit chemischen Veränderungen im sensiblen Organe der Wurzel verknüpft.

Die Homogentisinsäure führende Zone in Wurzeln reicht aber über die geotropisch sensible Spitze noch hinauf in die Wachstumsregion, bis etwa in die Zone des stärksten Zuwachses. Auch hier ist, wie diesbezügliche Untersuchungen ergaben, eine Vermehrung der Homogentisinsäure nach geotropischer Induction nachweisbar. Die Differenzen sind jedoch nicht so gross, wie in den vordersten 2 mm der Spitze, auch treten sie merklich später auf und hören früher auf als in der Spitze. Es pflanzt sich demnach der chemische Vorgang aus der Spitze nach oben hin fort, und es dürfte dieses Fortschreiten möglicherweise in irgend einem, wenn auch indirecten, Zusammenhange mit der Fortleitung des geotropischen Reizes stehen. Specielle Versuche zeigten, dass die Homogentisinsäureansammlung in der oberen und unteren Hälfte der Spitze von horizontal gelegten Wurzeln gleichmässig stattfindet. Dies steht nicht etwa mit unserer Deutung der chemischen Vorgänge in der geotropisch gereizten Wurzelspitze im Widerspruche.

Ganz analoge Resultate erhielt ich auch mit den geotropisch gereizten Hypocotylen von *Sinapis alba* und Keimscheiden von *Avena*.

Aber auch phototropische Reizung löste bei diesen Objecten Homogentisinsäurevermehrung aus. Bei *Sinapis* war die Zunahme folgende:

Reizungsdauer Minuten	Geotropisch pCt.	Phototropisch pCt.
15	13	8
30	14	11
60	7	15

Das Maximum liegt für Phototropismus, soweit ich sah, auf derselben Höhe wie für Geotropismus. Doch tritt dasselbe bei den phototropischen Reizungen später auf, als bei Geotropismus, und sinkt auch langsamer ab.

Unsere neue chemische Methode erwies sich auch von Werth für die Anwendung in manchen Controversen auf dem Gebiete des Geotropismus.

Bekanntlich hat NĚMEC¹⁾ in neuester Zeit die Ansicht geäußert, dass die Perception des geotropischen Reizes in der Wurzelspitze ausschliesslich in gewissen Zellen der Wurzelhaube stattfindet, deren Stärkeinhalt die Function von „Statolithen“ bei Lageveränderungen der Wurzel ausübe. Die Begründung dieser ansprechenden Idee war bisher nicht streng durchgeführt worden; andererseits liess sie sich trotz mancher Bedenken noch nicht direct widerlegen. Es ist nun ohne Weiteres zuzugeben, dass die NĚMEC'sche Anschauung eine Erschütterung erfahren müsste, wenn es gelänge zu zeigen, dass auch in Wurzeln, welchen man die „sensiblen Wurzelhaubenzellen“ durch Resection der äussersten Spitze genommen hat, die Homogentisinsäurevermehrung nach Horizontallegen eintritt. Ist dies der Fall, so ist entweder unsere Meinung, dass die Homogentisinsäurevermehrung mit geotropischer Reizung zusammenhängt, falsch (was nach unseren Darlegungen ausgeschlossen ist) — oder die NĚMEC'sche Hypothese. In der That lässt sich nun bei Wurzeln, denen man $\frac{1}{2}$ mm Spitze genommen hat, welche also keine Statolithenzellen mehr enthalten können, die Vermehrung des Homogentisinsäuregehaltes nach Horizontallegen fast in normalem Grade nachweisen; ja auch nach Wegnahme von 1 mm der Spitze. Werden jedoch 1,5 mm beseitigt, so bleibt unsere biochemische Reaction aus. Ich komme demnach zum Schlusse, dass die sensible Spitzenregion, wie ich schon früher durch verschiedene experimentelle Erfahrungen bewogen, es als wahrscheinlich hinstellen konnte, bis zu 1 mm Distanz vom Vegetationspunkt hinaufreicht, dass also die stärkeführenden Haubenzellen allein, so wie es die strenge Form der NĚMEC'schen Hypothese annimmt, nicht das sensible Organ der Wurzeln darstellen.

Ich konnte andererseits feststellen, dass auch auf dem Klinostaten nach Verlauf mehrerer Umdrehungszeiten bei Wurzeln Vermehrung des Homogentisinsäuregehaltes der Spitze eintritt. Offenbar wirkt mit der Zeit die Klinostatenrotation als intermittirender geotropischer Reiz, wie von anderen Gründen ausgehend besonders NOLL²⁾ geltend gemacht hat.

1) B. NĚMEC, Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch., Bd. 18, S. 241 (1900) und Jahrb. für wissensch. Bot., Bd. 36, S. 55 (1901).

2) F. NOLL, Jahrb. für wissensch. Bot., Bd. 34, S. 461 (1900). Ber. der Deutschen Bot. Gesellsch. 20. Jahrg., S. 408 (1902).

Ueber weitere Versuche, welche Reizung unter verschieden grossem Neigungswinkel zum Gegenstande hatten, sowie das Verhalten von Seitenwurzeln, soll die ausführliche Arbeit berichten.

Ein ferneres Arbeitsgebiet betrifft die Frage, in welchem Verhältniss die bisher ausführlicher behandelte Homogentisinsäurevermehrung in gereizten Wurzelspitzen zu der Verzögerung oxydirender Wirkungen steht, welche ich gleichfalls bereits vor 5 Jahren feststellen konnte. Es kann a priori nicht entschieden werden, ob die Homogentisinsäurevermehrung an sich hemmende Wirkungen auf irgend welche Oxydase der Spitze entfaltet, oder ob eine Verminderung jener Oxydase, welche Homogentisinsäure angreift, das Primäre ist, oder endlich ob ganz andere hemmende Factoren im Spiele sind.

Die anzuwendende Untersuchungsmethode ergab sich einfach aus dem Umstande, dass es gelingt, die erwähnte Oxydationshemmung auch in Brei aus feinst zerriebenen Wurzelspitzen bei Digestion unter Chloroformzusatz bei 40° C. zu beobachten. Absichtlich zugesetzte Homogentisinsäure verschwindet in Digestionsproben aus geotropisch gereizten Wurzelspitzen bedeutend später als in Proben, die aus ungereizten Spitzen hergestellt worden sind. Als Beispiel diene folgender Versuch.

100 Lupinenwurzeln wurden 15 Minuten lang geotropisch inducirt. Hierauf wurden die Spitzen abgeschnitten und mit Glasstaub unter Zusatz von 10 *ccm* Wasser verrieben. Ganz dasselbe geschah mit 100 ungereizten gleichen Wurzeln. Beide wurden in ERLÉNMEYER-Kölbchen gespült und je 50 *ccm* wässrige Homogentisinsäurelösung zugesetzt, von der 10 *ccm* = 4,0 *ccm* $\frac{1}{10}$ Norm.-AgNO₃ waren. Das Volumen der Flüssigkeiten war genau gleich. Digestion in Chloroformwasser (Zusatz von 5 *ccm* Chloroform) bei 40° C. im Thermostaten. Zur Homogentisinsäurebestimmung wurden jedesmal 5 *ccm* abpipettirt und mit AgNO₃ titirt. Die nachfolgenden Zahlen bedeuten die Zahl von *ccm* $\frac{1}{10}$ Normalsilberlösung, welche von je 5 *ccm* Digestionsgemisch verbraucht wurden.

Datum	Ungereizt	Gereizt
21. April . . .	3,2	3,6
26. „ . . .	2,5	3,5
1. Mai. . . .	1,8	3,2
5. „	1,3	2,75
10. „	1,1	2,3

Dies zeigt die Verzögerung in der Probe aus gereizten Spitzen auf das Deutlichste. Diese Methode ist zugleich das feinste Reagens, um die ersten Veränderungen in gereizten Spitzen nachzuweisen. Schon sieben Minuten lange geotropische Induction genügt, um die erwähnten Differenzen ganz deutlich hervortreten zu lassen. Es treten also auch in Pflanzen augenscheinlich die Reizvorgänge sehr rasch ein, wenn auch die Reizbewegung relativ spät sichtbar wird.

Für Phototropismus wurde an den Keimscheiden von *Avena* die in Rede stehende Oxydationshemmung ebenfalls festgestellt.

Dass eine vermehrte Bildung von Homogentisinsäure aus vorhandenem Tyrosin bei geotropischer Reizung die primäre Ursache dieser Erscheinungen ist, wird dadurch ganz unwahrscheinlich gemacht, dass Wurzelspitzenbrei auf Tyrosinlösung unter allen Verhältnissen nur sehr wenig einwirkt. Es rückt daher alsbald die Frage in den Vordergrund, ob eine quantitative Verminderung der Spitzenoxydase nach geotropischer Reizung einsetzt. Ist dies der Fall, so muss in einer Probe, welche zu gleichen Theilen aus gereiztem und ungereiztem Spitzenbrei besteht, der Verlauf des Verschwindens der Homogentisinsäure ungefähr das Mittel halten zwischen Proben aus gereizten und Proben aus ungereizten Spitzen. Die in dieser Richtung ausgeführten Versuche ergaben aber sofort das bemerkenswerthe Resultat, dass solche Mischproben sich so verhalten, als ob sie zur Gänze aus gereizten Spitzen beständen. Ja, es genügt ein ganz geringer Zusatz von gereiztem Wurzelbrei zu einer „ungereizten Probe“, um in der letzteren eine namhafte Oxydationshemmung zu erzeugen, so dass man die Proben gewissermassen mit gereiztem Material „infectiren“ kann. Dies lässt sich durch die Annahme einer geringeren Oxydase menge in gereizten Spitzen nicht erklären, sondern führt zum Schlusse, dass bestimmte Substanzen in gereizten Spitzen gebildet werden, die hemmende Wirkungen auf die Spitzenoxydase äussern. Da schon kleine Quantitäten gereizten Spitzenbreies energisch hemmende Wirkungen äussern und Versuche ergaben, dass der hemmende Stoff in Wasser löslich, in Alkohol unlöslich ist und durch Kochen zerstört wird, möchte ich an ein Antienzym (Anti-oxydase) denken, welches in gereizten Wurzeln producirt wird.

Weiteres hierüber zu bringen sei der ausführlichen Mittheilung über unseren Gegenstand vorbehalten.

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): Czapek Friedrich

Artikel/Article: [Stoffwechselprocesse in der geotropisch gereizten Wurzelspitze und in phototropisch sensiblen Organen. 464-470](#)