

- Fig. 3. Einige Tage älteres Stadium. Bezeichnung wie Fig. 1. *h b* die erste Zellreihe der künftigen Sklereidenschicht mit den Zäpfchen; die Aussenmembran dunkel gefärbt.
- „ 4. Die erste Zellreihe in der Aussenansicht mit den aufsitzenden Zäpfchen.
- „ 5. Einige Zellen der ersten Reihe mit den daranstossenden Sklereiden im Querschnitt; Beginn der Humification.
- „ 6. Die humificirten Zellen in der Längsansicht.
- „ 7. Partie eines Querschnittes durch das reife Perikarp; die Innenschichten fehlen. Bezeichnung wie in Fig. 1 und 3.

49. R. Bertel: Ueber Tyrosinabbau in Keimpflanzen.

Eingegangen am 9. October 1902.

Nach unserem heutigen Wissen ist die bei der Keimung der Samen stattfindende „Lösung“ der Reserveproteide ein recht complicirter Vorgang.

Durch die Forschungen von E. SCHULZE¹⁾ und dessen Schülern sowie anderen Autoren ist eine grosse Anzahl von Aminosäuren, Diaminosäuren und anderer N-haltiger Producte in Keimlingen gefunden worden, welche auch bei der tryptischen Eiweissverdauung und bei der Säurehydrolyse von Eiweisssubstanzen beobachtet sind.

Seit einiger Zeit ist es wahrscheinlich geworden, dass der Eiweissabbau in keimenden Samen durch ein tryptisches Enzym eingeleitet wird, welches die angegebenen Stoffe aus den Reserveproteiden bildet.

Die Befunde von BUTKEWITSCH²⁾, WINDISCH³⁾ u. a. aus den letzten Jahren haben die Annahme eines tryptischen Enzyms in keimenden Samen fester begründet. Wir besitzen aber auch mancherlei Erfahrungen, welche dahin gehen, dass das Aminosäurengemisch, welches in keimenden Samen vorhanden ist, in seiner Zusammensetzung qualitativ und quantitativ abweicht von den Producten, welche man im Reagensglase aus den Reserveproteiden durch enzymatische Spaltung oder Säurehydrolyse erhalten kann. Besonders SCHULZE hat sich in den letzten Jahren mehrfach mit derartigen Untersuchungen beschäftigt und hat es versucht, einigermaßen eine Erklärung für diese Differenzen zu geben. Man hat einmal die Möglichkeit, dass

1) E. SCHULZE, Zeitschrift für physiol. Chem. 9, 63 (1884). — Ders. *ibid.* 17, 193 (1892).

2) BUTKEWITSCH, WL., Zeitschrift für physiol. Chemie 32, 1 (1901).

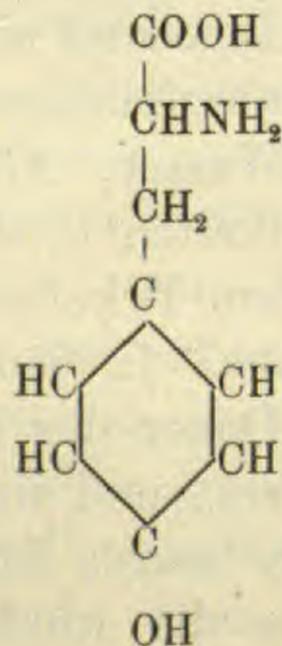
3) WINDISCH und SCHELLHORN, Wochenschrift für Brauerei, 1900, S. 334 ff.

sich primär durch Wirkung des Samentrypsins wirklich dieselben Producte bilden, die man im künstlichen Verdauungsgemisch erhält, und dass nur sofort sich anschliessende secundäre Vorgänge, die aber von der tryptischen Eiweisshydrolyse verschieden sind, die Differenz verursachen.

Es kommen aber auch noch andere Momente in Betracht. Es ist z. B. nicht gesagt, ob jede Eiweisshydrolyse auch dieselben Spaltungsproducte liefern muss. Es kann ferner vielleicht auch der Effect einer bestimmten Hydrolyse durch die äusseren Bedingungen modificirt werden. Jedenfalls muss man bedenken, dass im Organismus der Eiweissabbau nicht unbedingt so ablaufen muss, wie im Reagensglas.

Die hier mitzutheilenden Verhältnisse betreffs des Tyrosins können in manchen Stücken zum Vorangehenden eine wirksame Illustration geben.

Das Tyrosin ist eines der bestbekanntesten Spaltungsproducte des Eiweiss. Es repräsentirt eine der aromatischen Gruppen im Eiweiss und ist seiner Constitution nach eine Paraoxyphenyl- α -Aminopropionsäure.



Was sein Vorkommen in Keimlingen anlangt, so differiren die Angaben betreffs der Mengenverhältnisse bei den verschiedenen Autoren ziemlich stark, weil wohl immer verschiedene Alterstadien des Untersuchungsmaterials in Betracht kommen.

Meine vorliegenden Untersuchungen betreffen vorläufig nur die Keimlinge von *Lupinus albus*, und zwar vornehmlich die unterirdischen Organe.

Tyrosin wurde bei *Lupinus albus* nicht immer gefunden; z. B. konnte E. SCHULZE¹⁾ nie daraus Tyrosin darstellen. Auch WASSILIEFF²⁾ konnte es in den Keimpflanzen von *Lupinus albus* nicht nachweisen. Ich fand es dagegen reichlich bei Sauerstoffentziehung und Narkose.

Ich gehe hier von Beobachtungen aus, die ich an Lupinenwurzeln

1) SCHULZE, Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 20, S. 308, 1894.

2) N. J. WASSILIEFF, Landwirthsch. Versuchsst., 55, 45—77 (1901).

(2—3 Tage alt) machte, welche mittelst einer Wasserstrahl-Luftpumpe unter Wasser injicirt worden waren. Nach der Injection schieden sich nämlich stets in der Wurzel und im Hypocotyl der Keimlinge zahlreiche Sphärite aus, die stellenweise die Zellen ganz erfüllten. Sie sind von gelblich-weisser Farbe, schwach doppelbrechend und erreichen die Grösse von 10μ .

Ich ging nun daran, auch durch andere Mittel als durch Asphyxie die Sphäritbildung zu erzielen. Einen positiven Erfolg hatte ich bei Anwendung von Chloroformdampf, Chloroformwasser, Benzol, Toluol, Alkohol, Aether und Natriumbisulfit (5 pCt.). Und zwar erhält man bereits nach 2—3 Stunden zahlreiche Sphärite. Die Keimlinge wurden hierbei vollständig in dem betreffenden Medium untergetaucht.

Was die örtliche Vertheilung der Sphäritausscheidungen anlangt, so wurde sichergestellt, dass sie nicht in allen Theilen der Wurzel gleichmässig stattfand. Die Sphäritenregion reicht ununterbrochen vom Hypocotyl bis in die Wachstumszone der Wurzel, erleidet hier eine Unterbrechung und setzt sich dahinter wieder bis in die Wurzelspitze fort.

In der Wurzelhaube fanden sich nie Sphärite. Nach oben zu hört die Sphäritenregion im Hypocotyl allmählich auf. Auch in der Plumula konnten oft grosse Sphäritansammlungen beobachtet werden. Die Sphärite sind in kaltem Wasser, Alkohol und Aether unlöslich, in heissem Wasser oder in Alkalien lösen sie sich schnell auf. Aus heissem Wasser fallen nach dem Erkalten desselben die Sphärite in ihrer ursprünglichen Gestalt aus. In Säuren sind sie schwer löslich.

Um zu erfahren, welche Dauer der Chloroformnarkose zur Entstehung der Sphärite nöthig sei, und welchen Einfluss die Narkose auf das Leben der Zelle habe, wurde folgender Versuch aufgestellt. 30 Lupinus-Keimlinge (2 Tage alt) wurden in verdünntem (1:10) Chloroformwasser der Narkose ausgesetzt und in Zeiträumen von je 15 Minuten in Schnitten auf Sphäritbildung und Lebensfähigkeit untersucht. Letztere wurde nach der mit 5 pCt. Salpeterlösung eintretenden Plasmolyse beurtheilt.

Ich fand, dass die Sphäritbildung bereits nach 1 Stunde in der mittleren Wurzelpartie einsetzt und bei fortgehender Narkose sich steigert. Die Lebensfähigkeit der betreffenden Zellen konnte noch nach 3stündiger Narkose constatirt werden. Auch eine geotropische Krümmung war nach Unterbrechung der Narkose und bei Horizontalstellung im feuchten Raume noch erzielbar.

Bei jenen Versuchen ragten die Cotyledonen frei in die Luft und waren genügend mit Feuchtigkeit versorgt (Temperatur = $18\frac{1}{2}^{\circ}$ C.).

Die oben beschriebene Sphäritbildung lässt sich auch an Schnitten durch die Wurzeln hervorrufen und unter dem Mikroskope verfolgen. Bringt man einige durch die mittlere Wurzelregion geführte Schnitte

auf ein Deckglas in einen Tropfen Wasser und bedeckt damit eine auf einem Objectträger befestigte kleine feuchte Kammer, die mit Chloroform beschickt ist, so dass die Schnitte von den Chloroformdämpfen bestrichen werden, so kann man mittelst mikroskopischer Beobachtung bereits nach 30 Minuten, sicher aber nach 1 Stunde die Sphäritbildung constatiren. Mit den anderen oben angeführten Mitteln werden eben solche Sphärite erzielt wie mit Chloroform; nur Natriumbisulfit (5 pCt.) erzeugt nadelförmige Krystalle, die kranzartig an einander gelagert die Zellen erfüllen.

Die Fragen, die nun zunächst beantwortet werden mussten, waren:

1. Welche Substanz liegt in den Sphäriten vor?
2. In welcher Weise wird ihr Entstehen durch die angewandten Mittel beeinflusst?

Zur Beantwortung der ersten Frage musste zunächst eine grössere Menge der Substanz beschafft werden. Hierzu und um gleichzeitig etwas über die Wirkungsweise der Chloroformnarkose zu erfahren, wurden 3 Proben aufgestellt. Zu jeder wurden 50 g trockener Lupinussamen (*Lupinus albus*) in Sägemehl bis zu einer Wurzellänge von 4 cm keimen gelassen. Hierauf wurden die Wurzeln abgeschnitten und ihr Frischgewicht bestimmt. Die Wurzeln aus Probe I wurden ohne weitere Vorbehandlung zerkleinert und in 200 ccm Wasser $\frac{1}{2}$ Stunde lang ausgekocht; der entstandene Brei wurde heiss durch Leinwand colirt. Die colirte Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade auf das Volum von 50 ccm eingeeengt und erkalten gelassen. Beim Erkalten hatte sich ein weisser Niederschlag abgesetzt, der nach Absaugen der Mutterlauge auf einem Asbestfilter gesammelt wurde.

Die Wurzeln aus Probe II wurden zunächst mit Chloroformwasser beschickt und 1 Stunde darin belassen. Dann wurden sie zerkleinert und sonst ebenso behandelt wie die erste Probe.

In Probe III wurden die Wurzeln zerschnitten und fein zerrieben, hierauf chloroformirt und 1 Stunde der Narkose überlassen. Auch dieser Brei wurde $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht und dann wie die vorangehenden Proben behandelt.

In allen 3 Proben hatte sich nach dem Erkalten der colirten Flüssigkeit ein weisser Niederschlag von Sphäriten gebildet, die den oben beschriebenen in allen Eigenschaften glichen. Die Asbestfilter wurden hierauf mit Alkohol und Aether nachgewaschen, getrocknet und gewogen. Die Gewichtsverhältnisse der gewonnenen Substanz sind in der Tabelle auf S. 458 zusammengestellt:

Die vorliegende Substanz gab folgende qualitative Reactionen:

- In kaltem Wasser fast unlöslich,
- leicht löslich in heissem Wasser und Alkalien,
- unlöslich in Alkohol, Aether und Chloroform.

| Probe | Je 50 g Samen | Frischgewicht der Wurzeln <i>g</i> | Asbestfilter allein <i>g</i> | Filter + Rückstand <i>g</i> | Substanz <i>g</i> | Substanz auf 1 g Wurzelgewicht <i>mg</i> |
|-------|----------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|----------------------|---|
| I | Unchloroformirte Wurzeln | 34,85 | 44,0740 | 44,1116 | 0,0376 | 1,08 |
| II | Chloroformirte Wurzeln | 28,20 | 45,3618 | 45,3991 | 0,0373 | 1,32 |
| III | Chloroformirter Wurzelbrei | 33,75 | 45,7888 | 45,8481 | 0,0593 | 1,76 |

Die MILLON'sche Probe giebt die Substanz mit kirschrother Farbe. Den Stickstoffgehalt zeigte die Probe nach LASSAIGNE an. Diese Merkmale und die charakteristische Krystallisation in garbenförmigen Bündeln kennzeichneten die Substanz als Tyrosin.

Aus den obigen Zahlen kann man ersehen, dass es sich in den beiden chloroformirten Proben thatsächlich um ein Plus an Tyrosin handelt. Durch die Narkose wird die Wirkung des proteolytischen Enzyms jedenfalls nicht beeinträchtigt, und es schreitet die Tyrosinbildung wie bei den normalen Wurzeln fort. Nur die Weiterverwendung des Tyrosins wird in der Narkose gestört. In Folge dessen kann der Grad der Sättigung an Tyrosin in der Zelle überschritten und ein Auskrystallisiren des Ueberschusses bewirkt werden. Aber es ist auch nicht entschieden, ob nicht vielleicht bei Sauerstoffentziehung bezw. Narkose eine abnorme Tyrosinbildung erfolgt, zumal bei anderen Keimlingen diese Tyrosinabscheidung wie bei *Lupinus* nicht erzielt werden konnte.

Setzt man die Narkose bei den *Lupinus*keimlingen fort, so kann man schon nach 24 Stunden eine Abnahme der Tyrosinsphärite bemerken. Nach 3—4 Tagen sind wohl immer die Sphärite verschwunden. Es handelt sich hier also jedenfalls um eine Lösung des ausgefallenen Tyrosins und eine Weiterverarbeitung desselben. Es ist nun anzunehmen, dass dieser Process, da er in aseptischer Autolyse verläuft, durch ein Enzym besorgt wird.

Mit dem Verschwinden des Tyrosins lässt sich in den Wurzeln das Auftreten einer ammoniakalische AgNO_3 -Lösung stark reducirenden Substanz constatiren, die wohl aus dem Tyrosin hervorgegangen sein muss. Unchloroformirte Wurzeln zeigen nie eine derartig intensive Silberreduction ihrer ganzen Ausdehnung nach. Nur in der Wurzelspitze wurde seiner Zeit von CZAPEK¹⁾ eine derartige Reaction bemerkt, die bei gereizten Wurzelspitzen noch in verstärktem Masse auftrat.

In dem früher erwähnten Falle der chloroformirten Wurzeln

1) F. CZAPEK, Weitere Beiträge zur Kenntniss der geotrop. Reizbewegungen; in PRINGSH.'s Jahrb. für wissenschaftl. Bot., Bd. XXXII, S. 210 (1898).

lässt sich das Plus an silberreducirender Substanz aus dem Plus an Tyrosin erklären; es stimmt auch die Vertheilung der an silberreducirender Substanz reichsten Stellen mit den früher genannten Tyrosinherden der Wurzel überein.

Um auch an lebenden Wurzeln eine derartige Vermehrung der silberreducirenden Substanz zu erzielen, handelte es sich zunächst darum, eine Tyrosinanhäufung zu erzeugen und die Wege der Weiterführung des Tyrosins auszuschalten. Gleichzeitig konnte man dabei erfahren, wo der Hauptsitz des Tyrosin spaltenden Enzyms ist. Es wurden nun 3 Partien von Wurzeln resp. Keimlingen aufgestellt:

- I. Keimlinge mit 1 *cm* abgetragener Wurzelspitze (Weiterführung nach unten nicht möglich);
- II. Wurzeln ohne Hypocotyl und Cotyledonen (Weg nach oben ausgeschaltet);
- III. mittlere Wurzelpartie allein.

Diese Serie von Wurzeln wurde in Sägemehl weitergezogen und täglich auf silberreducirende Substanz geprüft.

Gleichzeitig wurde eine 2. Serie gleichbehandelter Wurzeln unter Chloroformwasser aufgestellt und täglich mit den obigen Versuchen verglichen. Die Beobachtungen wurden durch 11 Tage fortgesetzt und gaben folgendes Resultat.

Zunächst fiel ein Unterschied auf zwischen den decapitirten unchloroformirten und decapitirten chloroformirten Keimlingen.

Während bei letzteren schon nach 24 Stunden eine starke Silberreduction auftrat, zeigte sie sich bei den unchloroformirten erst am 3. Tage mit einer gewissen Deutlichkeit, erreichte aber auch später nicht die Intensität wie bei den chloroformirten Keimlingen. Nach der Ausbildung von Nebenwurzeln nahm sie sogar wieder beträchtlich ab, und schliesslich unterschieden sich diese Keimlinge betreffs ihrer Silberreduction nicht mehr von normalen.

Bei diesen unchloroformirten decapitirten Keimlingen konnte Tyrosinzufuhr hinlänglich stattfinden. Das Tyrosin wurde auch zu silberreducirender Substanz verarbeitet, jedoch die Weiterführung derselben unterblieb. Da nun erst nach Bildung der Nebenwurzeln eine Abnahme der silberreducirenden Substanz auftrat, so muss man annehmen, dass hier in den Spitzen der Nebenwurzeln, sonst in der Spitze der Hauptwurzel ein Einfluss thätig ist, welcher eine Umsetzung der silberreducirenden Substanz besorgt. Später zu erwähnende Versuche zeigten, dass es sich auch hier um eine Enzymwirkung handelt.

Bei den chloroformirten decapitirten Keimlingen fand in Folge der vorangegangenen Tyrosinanhäufung eine plötzlichere und intensivere Bildung von silberreducirender Substanz statt, die so lange

fortschritt, als Tyrosin nachgeführt wurde. Eine Umsetzung der silberreducirenden Substanz war hier nicht möglich, da keine Nebenwurzeln gebildet werden konnten, also ihr Spitzenenzym nicht in Kraft treten konnte.

Ein zweiter auffallender Unterschied war zwischen den chloroformirten decapitirten Keimlingen und den chloroformirten Wurzeln ohne Hypocotyl und Cotyledonen bemerkbar, indem letztere viel geringere Mengen von silberreducirender Substanz aufwiesen. — Diese Differenz ist so zu erklären, dass in den chloroformirten Wurzeln ohne Hypocotyl und Cotyledonen die Tyrosinzufuhr abgeschnitten war, also schon deswegen weniger silberreducirende Substanz gebildet werden konnte; andererseits aber blieb auch das Spitzenenzym wirksam und verarbeitete den grössten Theil der silberreducirenden Substanz.

Die unchloroformirten und chloroformirten Wurzelmitten verhielten sich gleich, indem sie nur eine schwache Vermehrung der silberreducirenden Substanz aufwiesen, da ja bei beiden die Tyrosinzufuhr ausgeschaltet war und auch das Spitzenenzym nicht eingreifen konnte.

Die unchloroformirten Wurzeln ohne Cotyledo und Hypocotyl unterschieden sich betreffs Silberreduction kaum von normalen.

Aus diesen Versuchen lässt sich kurz zusammenfassen, dass der obere und mittlere Theil der Wurzel der Hauptsitz des Tyrosin spaltenden Enzyms und des Tyrosins ist, welches letztere von jenem zu silberreducirender Substanz abgebaut wird; diese selbst aber wird vom Spitzenenzym weiter verarbeitet.

Zur Feststellung der Identität der silberreducirenden Substanz wurde eine grössere Anzahl von Wurzeln (ohne Spitzen) in Breiform mit Chloroformwasser digerirt.

Zu Anfang des Versuches gaben einige vom Brei abfiltrirte Tropfen eine deutliche MILLON'sche Probe, aber keine Silberreduction (Reaction des Breies sehr schwach sauer).

Bereits nach 24stündiger Digestion des Breies im OSTWALD'schen Thermostaten bei 45° C. zeigte der Brei eine deutliche Silberreduction, die nach weiteren 24 Stunden eine bedeutende Vermehrung erfuhr, während die MILLON'sche Probe negativ ausfiel. Auch von aussen dem Brei zugesetztes Tyrosin wurde nach 3 Tagen zu silberreducirender Substanz oxydirt. —

Die Wirkung pflanzlicher oxydirender Fermente, Oxydasen, ist schon seit längerem bekannt. BERTRAND¹⁾ und BOURQUELOT u. a. haben nachgewiesen, dass die Laccase, welche die Umwandlung des Rindensaftes des Lackbaumes in einen schwarzen Firnis besorgt, befähigt

1) BERTRAND, Compt. Rend. 122 (1896), p. 1132.

ist, viele aromatische Substanzen, besonders aber solche, welche mehrere OH- oder NH_2 -Gruppen im Kern enthalten, zu oxydiren. Nach BERTRAND¹⁾ findet sich in gewissen Pflanzen, z. B. in Pilzen (*Russula*), in Dahlien sowie in Runkelrüben neben jener Laccase ein durch seine spezifische Wirkung auf Tyrosin ausgezeichnetes Ferment, eine Tyrosinase, welche die Dunkelfärbung der Pflanzensäfte bedingt.

Auch im vorliegenden Falle konnte ich bemerken, dass beim Verschwinden des Tyrosins der Brei eine ziegelrothe Färbung annahm, die besonders bei grösseren Mengen von Wurzeln oder bei Darreichung von Tyrosin an Intensität zunahm. —

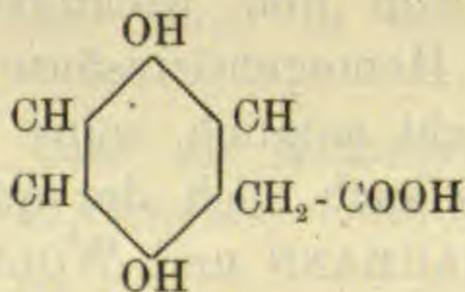
Ueber die farbebedingenden Substanzen bei dieser Tyrosinase-wirkung ist bisher noch nicht viel bekannt.

M. GONNERMANN²⁾ untersuchte in dieser Richtung dunkelgefärbte Rübensäfte und fand als farbebedingende Substanz die von BAUMANN³⁾ entdeckte Homogentisinsäure. Auch er sagt, dass die Dunkelfärbung von Pflanzensäften auf der Oxydation von Umwandlungsproducten des Tyrosins durch Enzyme beruhe; diese Enzyme erzeugen vorher das Tyrosin aus Albuminstoffen, und bei der Zersetzung des Tyrosins durch das Enzym entsteht Homogentisinsäure.

Diese wurde auch seiner Zeit als die farbebedingende Substanz des sogenannten Alkaptonharns von WOLKOW und BAUMANN⁴⁾ erkannt.

Sie führen die Homogentisinsäure auch auf das Tyrosin zurück und konnten auch durch Eingabe von Tyrosin eine Vermehrung der Homogentisinsäure im Harn feststellen.

Betreffs der Constitution der Homogentisinsäure sei angeführt, dass BAUMANN sie als einen Abkömmling des Hydrochinons $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})_2$ 1:4 ansieht, in welchem ein Wasserstoffatom durch den Rest der Essigsäure ersetzt ist. Sie ist also eine Dioxyphenyl-essigsäure:



Da die Homogentisinsäure die Eigenschaft hat, ammoniakalische AgNO_3 -Lösung zu reduciren, so schien mir mit Rücksicht auf das

1) BERTRAND, Sur la présence simultanée de la laccase et de la tyrosinase dans le suc de quelques champignons. *Compt. rend.* **123** (1896), 463.

2) M. GONNERMANN, *PFLÜGER'S Archiv*, **82**, 289—302, 1900. Referat im *Chem. Centralblatt*, 1900, II, S. 934.

3) WOLKOW und BAUMANN, *Zeitschrift für physiol. Chem.*, Bd. 15 (1891).

4) WOLKOW und BAUMANN, Ueber das Wesen der Alkaptonurie. *HOPPE-SEYLER, Zeitschrift für physiol. Chemie*, Bd. 15, S. 228 (1891).

Verschwinden des Tyrosins auch im vorliegenden Falle die entstehende silberreducirende Substanz Homogentisinsäure zu sein. Es stimmten aber auch andere qualitative Reactionen überein:

Die Löslichkeitsverhältnisse,
die Eisenreaction, Braunfärbung mit Alkalien, Gelbfärbung mit MILLON'schem Reagens (beim Erhitzen ziegelrother Niederschlag).

Auch die nach WOLKOW und BAUMANN¹⁾ durchgeführte Herstellung des Homogentisinsäure-Aethylesters gelang.

Hiermit war das Abbauproduct der Tyrosins festgestellt.

Auch überzeugte ich mich, dass die Tyrosinase ihren Sitz nur in der Wurzelmitte hat. Während nämlich ein aus Wurzelmitten angefertigter Brei dargereichtes Tyrosin ziemlich rasch in Homogentisinsäure umsetzte, blieb ein Brei aus Wurzelspitzen in dieser Hinsicht unwirksam.

Anders stand es mit ihrer Einwirkung auf Homogentisinsäure, die ich mir durch Extraction von chloroformirtem Brei aus 100 Lupinenwurzeln bereitet hatte.

Es wurden 50 Wurzelspitzen in 5 *ccm* Wasser zerrieben und mit 5 *ccm* einer Homogentisinsäure-Lösung versetzt. Zur Controle wurde letztere auch ohne Breizusatz aufgestellt. Der Versuch verlief bei der Temperatur von 45° C. Nach 2 Tagen zeigte sich eine deutliche Abnahme der Silberreduction, die nach 6 Tagen ganz verschwand.

Da ich die oxydative Wirkung eines Spitzenenzym im Auge hatte, so gewährte ich den Proben Sauerstoffzutritt, indem ich die Kölbchen offen liess und täglich kräftig durchschüttelte. Es zeigte sich auch thatsächlich bei verschlossenen Kölbchen eine bedeutende Retardation des Processes. —

Obwohl ich mich von den wichtigsten Eigenschaften dieses Oxydationsproductes der Homogentisinsäure in Kenntniss setzte, war es mir bis jetzt noch nicht möglich, seine Identität festzustellen.

An dieser Stelle sei auch noch der quantitativen Bestimmungsmethode gedacht, die BAUMANN und WOLKOW²⁾ für die Homogentisinsäure ausgearbeitet haben. Sie beruht im Wesentlichen darauf, dass die reducirte Menge einer $\frac{1}{10}$ -Silbernitratlösung als Mass für die Homogentisinsäure angenommen wird. Diese Methode erlaubt selbst sehr geringe Quantitätenunterschiede zu ermitteln.

Will man eine Probe auf Homogentisinsäure untersuchen, so versetzt man sie mit soviel Kubikcentimeter Ammoniak, als die Probe Flüssigkeit enthält; hierauf lässt man einige Kubikcentimeter

1) L. c., S. 247.

2) L. c., S. 260.

$\frac{1}{10}$ Normalsilberlösung zufließen und kocht die Probe auf. Nach dem Erkalten ist die Reduction beendet. Um das fein vertheilte reducirte Silber abfiltriren zu können, erzeugt man in der Probe einen Niederschlag von Calciumcarbonat (5 Tropfen 10procentige CaCl_2 -Lösung + 10 Tropfen 10procentiges Ammoniumcarbonat), der jenes einhüllt. Giebt nun das Filtrat einen Niederschlag mit HCl , so ist überschüssiges Silbernitrat verwendet worden, im anderen Falle kann man weitere Reduction beobachten. — Bei kleineren Zusätzen von Silbernitratlösung kann man etwas schwer die Reduction erkennen. Doch die Reduction von 0,3 *ccm* AgNO_3 -Lösung lässt sich noch mit Sicherheit constatiren.

Will man die Fehlergrenze näher ziehen, so ist es rathsam, zwei bis drei Bestimmungen mit grösseren Quantitäten (10—20 *ccm*) der zu untersuchenden Flüssigkeit vorzunehmen.

Auf diese Weise kann man, da 1 *ccm* der $\frac{1}{10}$ Silberlösung 4 *mg* Homogentisinsäure entspricht, Unterschiede von 1,2 *mg* noch nachweisen. —

Schliesslich sei noch zusammenfassend der Gang der Tyrosinentstehung und Verarbeitung in wachsenden Organen geschildert.

Aus den Versuchen hat sich ergeben, dass in den Keimlingen reichlich Tyrosin aus den Reserveproteiden der Cotyledonen entsteht, dass es herabwandert in die Wurzel und zum Theil schon in den oberen Wurzeltheilen in Homogentisinsäure oxydirt wird. Diese wird in die Wurzelspitze geleitet und dort weiter oxydirt.

Andererseits wandert Tyrosin in jedem wachsenden jungen Spross oder in jeder Wurzel in den Siebröhren dem Vegetationspunkte zu und dient dort als Material zur Eiweissynthese beim Aufbau der jungen Zellen. Werden die Zellen älter, so liefern sie im Laufe degressiver Prozesse neuerlich Tyrosin aus ihrem Eiweiss und auch Homogentisinsäure, die aber noch in weitere Oxydationsproducte übergeht.

Bemerkenswerth ist, dass die Homogentisinsäurebildung unter Sauerstoffaufnahme und CO_2 -Abgabe verläuft, somit unter die Athmungsprocesse zu zählen ist.

Zum Schlusse sei noch darauf hingewiesen, dass die dargelegte Untersuchungsmethode geeignet ist, um zur Controle des Eiweissumsatzes bei der Keimung und in wachsenden Organen zu dienen, was zu zeigen speciell Aufgabe einer weiteren Arbeit sein soll.

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): Bertel Rudolf

Artikel/Article: [Ueber Tyrosinabbau in Keimpflanzen 454-463](#)