

18. W. Zaleski: Beiträge zur Kenntnis der Eiweissbildung in reifenden Samen.

Vorläufige Mitteilung.

Eingegangen am 20. März 1905.

Die Umwandlung der stickstoffhaltigen Stoffe bei reifenden Samen hat bis jetzt nur wenig die Aufmerksamkeit der Physiologen, die sich mehr für die Frage über die Umsetzung dieser Stoffe bei dem Keimungsprozesse interessierten, auf sich gezogen.

KELLNER¹⁾, HORNBERGER²⁾, EMMERLING³⁾, NEDOKUTSCHAJEFF⁴⁾ und WASILJEW⁵⁾ haben gezeigt, dass beim Reifen der Samen Hand in Hand mit der fortschreitenden Zunahme von Eiweissstoffen eine stetige Abnahme von anderen, nicht eiweissartigen Stickstoffverbindungen, wie Amidosäuren, Amidn und organischen Basen vor sich geht. WASILJEW⁶⁾ hat ausserdem durch qualitative Untersuchungen nachgewiesen, dass unreife Samen einiger Leguminosen ein Gemenge derselben Stickstoffverbindungen enthalten, die bei der Keimung der Samen auftreten. So z. B. hat dieser Forscher Asparagin, Phenylamin, Amidovaleriansäure, Hystidin und Arginin im unreifen Samen gefunden.

Schliesslich konstatierte NEDOKUTSCHAJEW⁷⁾ im unreifen Samen einiger Getreidearten die Anwesenheit von Albumosen, die bei der Reifung derselben in echte Eiweissstoffe übergehen.

Durch diese Befunde werden unsere Kenntnisse über die Umwandlung von stickstoffhaltigen Stoffen beim Reifen der Samen erschöpft. Somit sind wir bis jetzt nur wenig unterrichtet über die chemische Natur der stickstoffhaltigen Stoffe, die in reifende Samen aus anderen Teilen der Pflanze übergehen, über weitere Umsetzungen derselben, die Bedingungen der Eiweissynthese und die Verbindungen,

1) KELLNER, Landwirtsch. Jahrbücher, Bd. VIII, 1. Suppl., 1879.

2) HORNBERGER, Landwirtsch. Jahrbücher, Bd. XXI, 1882, und Landwirtsch. Versuchsstat., Bd. XXXI, 1885.

3) EMMERLING, Landwirtsch. Versuchsstat., Bd. XXIV, 1880, Bd. XXXIV, 1887, Bd. LIV, 1900.

4) NEDOKUTSCHAJEW, Landwirtschaftl. Versuchsstationen, Bd. LVI, 1902, Bd. LVIII, 1904.

5) WASILJEW, Die Umwandlung der stickstoffhaltigen Stoffe in reifenden Leguminosensamen. Journal für experimentelle Landwirtschaft (russisch).

6) WASILJEW, l. c.

7) NEDOKUTSCHAJEW, l. c.

aus denen sich Eiweissstoffe bilden, wie überhaupt über die Umwandlungen, welche letztere beim Reifen der Samen erleiden.

Es ist der Zweck vorliegender Mitteilung, einige Resultate mitzuteilen, die ich beim Studium der Frage der Eiweissbildung bei reifenden Samen erhalten habe.

Alle Forscher, die eine Umwandlung der stickstoffhaltigen Stoffe in reifenden Samen studiert hatten, verfolgten die quantitativen Veränderungen, welche verschiedene Stickstoffverbindungen, wie Eiweissstoffe, Amide, Amidosäuren und organische Basen mit dem Alter der Samen erleiden. In diesem Falle kann man nicht immer mit Bestimmtheit von der Verminderung der einen oder anderen Verbindung sprechen, da die Quantität der Trockensubstanz oder des Gesamtstickstoffes, auf die wir den Prozentgehalt anderer Stoffe beziehen, nicht konstant bleibt. Demnach ist es richtiger, das Verhalten von unreifen Samen zu studieren.

Unsere Versuche wurden mit reifenden Erbsen ausgeführt. Die Samen wurden aus den Hülsen genommen und in zwei gleichartige Teile mit einem scharfen Rasiermesser oder Skalpell zerlegt. Das Zerschneiden der Objekte hat den Zweck, die Eiweiss-synthese zu befördern oder zu beschleunigen, da unsere früheren Untersuchungen¹⁾ gezeigt haben, dass die vermehrte Sauerstoffzufuhr, die durch Zerschneiden der Objekte bewirkt wird, eine grosse Rolle bei der Eiweiss-synthese spielt.

Darauf wurde eine Portion (Kontrollportion) bei 70° getrocknet, eine andere aber mit einer Glasglocke bedeckt und ins Dunkle gebracht. Unter die Glasglocke wurde ein Gefäss mit Wasser oder konzentrierter Schwefelsäure eingeführt. Im ersteren Falle befanden sich die Objekte im dampfgesättigten Raume, in letzterem aber in trockener Luft, da es a priori als sehr wahrscheinlich erschien, dass der Wasserentzug beim Austrocknen die Prozesse der Kondensation fördern würde. Der Versuch dauerte drei Tage. Nach beendetem Versuche wurde auch diese Portion getrocknet.

In anderen Versuchen wurden die Samen ohne vorheriges Zerschneiden derselben in zwei Portionen von gleicher Anzahl gleichartiger Samen geteilt. Die Kontrollportion wurde sofort bei 70° getrocknet, die andere aber unter die Glasglocke eingeführt und ins Dunkle gestellt. Unter die Glasglocke wurde ein Gefäss mit Wasser eingeführt. Der Versuch dauerte fünf Tage, und dann wurden die Samen getrocknet.

Das getrocknete Versuchsmaterial wurde in eine feine Form gebracht und zur Analyse benutzt. Die quantitative Bestimmung des

1) W. ZALESKI, Über die Bedingungen der Eiweissbildung in den Pflanzen. 1900 (russisch).

Proteinstickstoffs geschah nach STUTZER's Verfahren, nach welchem die Eiweissstoffe durch Erhitzen mit Kupferoxydhydrat ausgefällt wurden. Aus dem Filtrate des Kupferniederschlages wurde der Stickstoff der Basen und Ammoniaksalze mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der Gesamtstickstoff und der Stickstoff anderer Verbindungen wurden nach KJELDAHL bestimmt. Darauf bestimmte man den Stickstoff solcher Verbindungen, die beim Erhitzen von eiweiss- und ammoniaksalzfreien Extrakten mit Salzsäure Ammoniak abspalten. Diese Stickstoffmenge wurde dem Asparagin zugeschrieben. Die auf andere Stickstoffverbindungen fallende Stickstoffmenge wurde aus der Differenz bestimmt.

In einigen Versuchen wurden die Eiweissstoffe durch Tannin, Uranacetat und Zinnchlorür zur Kontrolle der Methode STUTZER's ausgefällt und dann diese Fällungen ebenfalls zur Stickstoffbestimmung benutzt. Der Stickstoff aller Verbindungen ist in Prozenten des Gesamtstickstoffes berechnet.

I. Versuch.

Nach dem Zerschneiden der Samen wurde eine Versuchsportion derselben in den dampfgesättigten Raum auf drei Tage eingeführt:

	Vom Gesamtstickstoff fallen auf	
	Kontrollportion	Versuchsportion
Eiweiss-N im Zinnchlorür-Niederschlag	69,1 pCt.	80,2 pCt.
„ „ Uranacetat-Niederschlag	78,7 „	88,9 „
„ „ Kupferoxydhydrat-Niederschlag	79,1 „	89,0 „
„ „ Tannin-Niederschlag	79,2 „	89,2 „
N in Asparagin	8,7 „	4,6 „
N im Phosphorwolframsäure-Niederschlag	10,8 „	5,6 „
N in anderen Verbindungen (Differenz)	1,4 „	0,8 „

II. Versuch.

Nach dem Zerschneiden der Samen wurde eine Versuchsportion derselben in den dampfgesättigten Raum auf drei Tage eingeführt:

	Vom Gesamtstickstoff fallen auf	
	Kontrollportion	Versuchsportion
Eiweiss-N im Zinnchlorür-Niederschlag	69,0 pCt.	80,3 pCt.
„ „ Uranacetat-Niederschlag	78,6 „	88,8 „
„ „ Kupferoxydhydrat-Niederschlag	79,1 „	89,1 „
„ „ Tannin-Niederschlag	79,3 „	89,4 „
N in Asparagin	9,0 „	5,1 „
N im Phosphorwolframsäure-Niederschlag	10,2 „	4,8 „
N in anderen Verbindungen (Differenz)	1,7 „	1,0 „

III. Versuch.

Nach dem Zerschneiden der Samen wurde eine Versuchsportion derselben in den dampfgesättigten Raum auf drei Tage eingeführt:

	Vom Gesamtstickstoff fallen auf	
	Kontrollportion	Versuchsportion
Eiweiss-N	53,4 pCt.	75,0 pCt.
Asparagin-N	15,7 "	9,7 "

IV. Versuch.

Nach dem Zerschneiden der Samen wurde eine Versuchsportion derselben in den trockenen Raum auf drei Tage eingeführt:

	Vom Gesamtstickstoff fallen auf	
	Kontrollportion	Versuchsportion
Eiweiss N	79,0 pCt.	90,7 pCt.
Asparagin-N	8,7 "	4,9 "

V. Versuch.

Nach dem Zerschneiden der Samen wurde eine Versuchsportion derselben in den trockenen Raum auf drei Tage eingeführt:

	Vom Gesamtstickstoff fallen auf	
	Kontrollportion	Versuchsportion
Eiweiss N	79,1 pCt.	90,9 pCt.
Asparagin-N	7,2 "	3,4 "

VI. Versuch.

Die Samen wurden ohne vorheriges Zerschneiden in den dampfgesättigten Raum auf fünf Tage eingeführt:

	Vom Gesamtstickstoff fallen auf	
	Kontrollportion	Versuchsportion
Eiweiss-N	62,1 pCt.	48,0 pCt.
Asparagin-N	12,6 "	19,1 "

VII. Versuch.

Die Samen wurden ohne vorheriges Zerschneiden in den dampfgesättigten Raum auf fünf Tage eingeführt:

	Vom Gesamtstickstoff fallen auf	
	Kontrollportion	Versuchsportion
Eiweiss-N	60,0 pCt.	46,2 pCt.
Asparagin-N	12,8 "	19,6 "

Aus den angeführten Versuchen ist zu entnehmen, dass die Zunahme an Eiweissstoffen im unreifen Samen von der Verminderung einzelner Gruppen von stickstoffhaltigen Verbindungen, wie Amidosäuren, Amidn und organischen Basen begleitet ist.

Es ergibt sich weiter, dass die Eiweissfällungen mit Uranacetat, Kupferoxydhydrat und Tannin identische Resultate aufweisen. Da indessen die Zinnchlorürfällung weit geringer ist als die drei oben genannten Eiweissfällungen, so kann man daraus schliessen, dass unreife Samen Albumosen enthalten, da diese mit Zinnchlorür nicht

fällbar sind¹⁾. Da die Grösse der Eiweissynthese in unseren Versuchen mit der anfänglichen Albumosenquantität zusammenfällt und da die Albumosen nachher wieder dieselbe Grösse erreichen, so kann man behaupten, dass Albumosen sich aus Amidosubstanzen bilden und eine Vorstufe der Eiweissstoffe darstellen.

Das Reifen der Samen stellt seiner chemischen Natur nach einen umgekehrten Prozess im Vergleich mit der Keimung derselben dar. Bei der Keimung der Samen bildet sich ein Gemenge von stickstoffhaltigen Verbindungen, die direkt oder indirekt der Zerspaltung von Eiweissstoffen entstammen. Im Reifeprozess der Samen verschwinden diese Stickstoffverbindungen, indem sie allmählich sich in Eiweissstoffe verwandeln.

Der Chemismus der Eiweissbildung ist ein sehr verwickelter Vorgang und bis jetzt ganz und gar unbekannt. Wir können uns der Ansicht nicht anschliessen, nach welcher Asparagin, Ammoniak oder Aminosäuren die erste Phase der Eiweissynthese darstellen.

Nach dem Zerschneiden der Samen geht in ihnen, wie unsere Versuche zeigen, die Eiweissbildung vor sich, gleichwohl ob diese in trockener Luft oder im dampfgesättigten Raum sich befinden. Es ist interessant, dass die Grösse der Eiweissbildung in beiden Fällen gleich ist.

Demgegenüber findet in unverletzten unreifen Samen, die in dampfgesättigter Luft sich befanden, nur Eiweisszersetzung statt.

Diese Eiweisszersetzung ist verursacht durch die Tätigkeit eines proteolytischen Enzyms, über welches ich eine Mitteilung zu machen gedenke. Ob dieses Enzym auch bei normalen Verhältnissen eine Rolle spielt und so die Eiweissbildung und Eiweisszersetzung gleichzeitig in reifenden Samen vor sich gehen, steht noch zu erforschen.

Es geht aus den Untersuchungen der letzten Jahre hervor, dass zahlreiche Vorgänge im Organismus nichts anderes als Enzymwirkungen sind. Die Zahl der durch Enzyme ausgelösten Vorgänge ist so gross, dass die Vermutung sehr nahe liegt, dass alle Reaktionen des Stoffwechsels durch Enzyme verursacht werden. Es drängt sich die Vermutung auf, dass der Eiweissbildungsprozess zu den enzymatischen Reaktionen gehört.

Schon im Jahre 1900 veranlasste mich zur Erforschung dieser Frage die Geschwindigkeit und die Grösse der Eiweissbildung, die in zerschnittenen Zwiebeln stattfindet²⁾. Die in dieser Richtung angestellten Versuche misslangen. Erst später erschien die Arbeit

1) VAUBEL, Die physikalischen und chemischen Methoden der quantitativen Bestimmung organischer Verbindungen, 1 Bd. — WEIS, Étude sur les enzymes protéolytiques de l'orge en germination. Moniteur scientifique 1904.

2) W. ZALESKI, l. c.

von LAURENT¹⁾, der aus seinen Versuchen den Schluss zog, dass ein solches Enzym in Pflanzen nicht existiert.

Nach erfolglosen Versuchen, die auf den Nachweis der Enzyme der Eiweiss-synthese in *Helianthus*-Blättern und Hefen gerichtet wurden, habe ich unreife Samen von Erbsen zu diesem Zweck benutzt.

Es ist a priori zu erwarten, dass die Samen ein besonderes eiweissbildendes Enzym enthalten oder die Eiweissbildung zu reversiblen enzymatischen Reaktionen gehört. Im ersteren Falle muss man die passenden physiko-chemischen Bedingungen für die Tätigkeit des gesuchten Enzyms nachweisen und die Wirkung des entgegengesetzten proteolytischen Enzyms hemmen. Wenn aber die Eiweissbildung umkehrbar ist, so müssen wir die Proteolyse vor sich gehen lassen, um dann die Reversion der Eiweissstoffe aus den Zerfallsprodukten derselben zu konstatieren.

Bei dem Studium der Enzymwirkungen hat die Autodigestionsmethode eine grosse Rolle gespielt, daher wurden unsere Versuche nach dieser Methode angestellt. Zu diesem Zweck wurden ganz und gar gleichartige unreife Erbsensamen aus den Hülsen genommen und dann in einige Portionen mit gleicher Samenanzahl und von fast gleichem Frischgewicht geteilt. Eine Portion der Samen (Kontrollportion) wurde sofort zur Eiweissbestimmung nach STUTZER's Methode benutzt, die anderen aber mit vorher geglühtem Sand sorgfältig zerrieben, mit 1 pCt. Schwefelammonium oder 0,75 pCt. Asparagin versetzt und in Gefässe mit gut geschliffenen Stopfen nach Toluolzusatz (3 pCt.) eingeführt. Die Gefässe wie die Lösungen wurden vorher sterilisiert und dann mit dem Inhalt gut geschüttelt und im Zimmer stehen gelassen. Nach einiger Zeit wurde eins von diesen Gefässen bis 100° erwärmt, abermals geschlossen und wieder stehen gelassen. Dasselbe geschah nach einiger Zeit mit dem anderen Gefäss usw., bis die letzte Portion genommen wurde, und dann wurden in allen Portionen gleichzeitig die Eiweissstoffe ausgefällt.

Indem wir nach gewissen Intervallen die Gefässe erhitzen und enzymatische Reaktionen verhindern, können wir den allmählichen Gang der Verwandlung der Eiweissstoffe verfolgen. Der Stickstoff des Eiweissniederschlages wurde nach KJELDAHL bestimmt und auf eine gleiche Quantität von Frischgewicht berechnet.

I. Versuch.

Von fünf Portionen der Erbsensamen mit einem Frischgewicht von 10,11 bis 10,22 g wurden vier mit Sand zerrieben, mit 0,75 pCt. Asparaginlösung versetzt und nach Toluolzusatz (3 pCt.) am 4. August in Gefässe eingeführt. Am 4. August wurde die erste Portion ge-

1) LAURENT et MARSCHAL, Bulletins de l'Académie Royale de Belgique, 1903.
Ber. der deutschen bot. Gesellsch. XXIII.

kocht und dann stehen gelassen. Dasselbe geschah mit der zweiten Portion am 11. August, mit der dritten am 25. August. Am 11. September wurde die vierte Portion gekocht, und dann wurden in allen Portionen die Eiweissstoffe ausgefällt und der Stickstoff derselben auf 10 g des Frischgewichts berechnet:

	Frischgewicht <i>g</i>	Eiweiss-N <i>g</i>	Eiweiss-N in 10 <i>g</i> des Frischgewichts <i>g</i>	Eiweiss-N, Differenz in pCt. des anfänglichen Eiweiss-N
Kontrollportion . . .	10,22	0,10752	0,10520	—
Erste Portion . . .	10,12	0,10710	0,10583	+ 0,6
Zweite Portion . . .	10,20	0,10192	0,09992	— 5
Dritte Portion . . .	10,19	0,09282	0,09109	— 13,4
Vierte Portion . . .	10,11	0,09870	0,09762	— 7,2

II. Versuch.

Von fünf Portionen der Erbsensamen mit einem Frischgewicht von 10,12 bis 10,20 g wurden vier mit Sand zerrieben, mit 0,75 pCt. Asparagininlösung versetzt und nach Toluolzusatz (3 pCt.) am 5. August in Gefässe eingeführt. Am 5. August wurde die erste Portion gekocht und dann stehen gelassen. Dasselbe geschah mit der zweiten Portion am 12. August und mit der dritten am 26. August. Am 13. September wurde die vierte Portion gekocht und dann in allen Portionen die Eiweissstoffe ausgefällt und der Stickstoff derselben auf 10 g des Frischgewichts berechnet:

	Frischgewicht <i>g</i>	Eiweiss-N <i>g</i>	Eiweiss-N in 10 <i>g</i> des Frischgewichts <i>g</i>	Eiweiss-N Differenz in pCt. des anfänglichen Eiweiss-N
Kontrollportion . . .	10,20	0,10690	0,10480	—
Erste Portion . . .	10,15	0,10571	0,10414	— 0,6
Zweite Portion . . .	10,12	0,09623	0,09508	— 9,2
Dritte Portion . . .	10,14	0,09001	0,08876	— 15,3
Vierte Portion . . .	10,16	0,09748	0,09594	— 8,4

III. Versuch.

Von fünf Portionen der Erbsensamen mit einem Frischgewicht von 10,72 bis 11,08 g wurden vier mit Sand zerrieben, mit 1 pCt. schwefelsaurer Ammoniumlösung versetzt und nach Toluolzusatz (3 pCt.) am 6. August stehen gelassen. Dasselbe geschah mit der zweiten Portion am 13. August, mit der dritten am 27. August. Am 15. September wurde die vierte Portion gekocht, und dann wurden in allen Portionen die Eiweissstoffe ausgefällt und der Stickstoff derselben auf 10 g des Frischgewichts berechnet:

	Frischgewicht <i>g</i>	Eiweiss-N <i>g</i>	Eiweiss-N in 10 <i>g</i> des Frischgewichts <i>g</i>	Eiweiss-N, Differenz in pCt. des anfänglichen Eiweiss-N
Kontrollportion . . .	10,72	0,05124	0,04779	—
Erste Portion . . .	11,00	0,05180	0,04709	— 1,4
Zweite Portion . . .	10,81	0,04382	0,04053	— 15,1
Dritte Portion . . .	11,08	0,03864	0,03487	— 27,0
Vierte Portion . . .	10,68	0,04340	0,04063	— 14,9

Aus den angeführten und ähnlichen Versuchen, die ich der Kürze wegen hier nicht anführe, ist zu ersehen, dass am Anfang des Versuches die Proteolyse vor sich geht, die eine Verminderung der Eiweissstoffe verursacht. Nach einiger Zeit beobachten wir eine Eiweissvermehrung, deren Grösse allmählich zunimmt, obwohl sie niemals den anfänglichen Eiweissgehalt erreicht, somit auf eine unvollständige Reversion hinweist.

Ob in unseren Versuchen das Ammonium und Asparagin, deren Zugabe eine Vergrösserung der stickstoffhaltigen Verbindungen bezweckte, irgend eine Rolle gespielt haben, sind wir nicht in der Lage zu beantworten. Es fehlen dazu die nötigen Kontrollversuche, welche aus Zeitmangel nicht ausgeführt wurden, da die Bedingungen für eine Abschwächung des proteolytischen Enzyms und das Suchen nach den geeigneten physiko-chemischen Bedingungen für die Tätigkeit des gesuchten synthetischen Enzyms viel Mühe beanspruchten.

Andererseits gebe ich den gefundenen Tatsachen nur die wahrscheinlichste Deutung, wenn ich von einer enzymatischen Reversion der Eiweissstoffe spreche, mich dabei nur auf die Bestimmungen derselben nach STUTZER's Methode stützend, da noch zu untersuchen bleibt, ob dieses Resultat nicht durch die Bildung gewisser durch dieses Reagens fällbaren Verbindungen hervorgerufen wurde. Es erübrigt auch noch die Bedeutung des Alters der Samen und der Temperatur zu studieren, da nicht mit allen Samen und nur bei Zimmertemperatur positive Resultate erhalten wurden.

Charkow, Pflanzenphysiologisches Kabinett.

19. W. Zaleski: Zur Kenntnis der proteolytischen Enzyme der reifenden Samen.

Vorläufige Mitteilung.

Eingegangen am 20. März 1905.

Die Beteiligung der proteolytischen Enzyme an den Prozessen der Eiweissumsetzung im Organismus ist zurzeit fest begründet. Bisher widmeten aber die Forscher ihre Aufmerksamkeit dem Nachweis der proteolytischen Enzyme hauptsächlich in keimenden Samen. Die Frage über die Anwesenheit dieser Enzyme in reifenden Samen ist, so viel ich weiss, nur von FERMI und BUSCAGLIONI¹⁾ berührt

1) FERMI und BUSCAGLIONI, Centralbl. für Bakt. Zweite Abteil. Bd. V. 1899.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1905

Band/Volume: [23](#)

Autor(en)/Author(s): Zaleski W.

Artikel/Article: [Beiträge zur Kenntnis der Eiweissbildung in reifenden Samen.
126-133](#)