

4. Bei der normalen und anaëroben Atmung lebender und erfrorener Pflanzen werden unter Umständen Aceton und andere mit fuchsinschwefliger Säure reagierende Substanzen gebildet.

Eine ausführliche Arbeit wird in der Zeitschrift für physiologische Chemie veröffentlicht.

St. Petersburg, Pflanzenphysiolog. Institut der Universität.

46. W. Zaleski: Über die Rolle der Enzyme bei der Umwandlung organischer Phosphorverbindungen in keimenden Samen.

□ Vorläufige Mitteilung.

Eingegangen am 12. Juni 1906.

Untersuchungen verschiedener Forscher und hauptsächlich die von IWANOFF¹⁾ und ZALESKI²⁾ haben gezeigt, dass sich die organischen Phosphorverbindungen während der Keimung der Samen unter Bildung von freien Phosphaten zersetzen.

Später hat IWANOFF³⁾ einen Versuch ausgeführt, der seiner Meinung nach für die enzymatische Natur der obengenannten Prozesse spricht. Zu diesem Zwecke hat der Verfasser vier Portionen von den an der Luft getrockneten und fein gepulverten dreitägigen *Vicia*-Keimlingen in Kolben gebracht, mit Wasser unter Thymolzusatz versetzt und drei Tage der Autodigestion bei 25° unterworfen. Zur Kontrolle wurden zwei Gefässe vorläufig eine Viertelstunde lang im Wasserbade erhitzt. Nach beendigtem Versuche wurde P₂O₅ der Eiweissstoffe und Phosphate bestimmt. So z. B.:

	Eiweiss-P ₂ O ₅	Phosphat-P ₂ O ₅
Gekocht	0,73	0,148
Ungekocht	0,44	0,550

IWANOFF hat daraus den Schluss gezogen, dass sich Nukleoalbumine und die löslichen organischen Phosphorverbindungen durch Enzyme unter der Bildung von Phosphaten zersetzen⁴⁾.

1) IWANOFF, diese Berichte, Bd. XX, 1902.

2) ZALESKI, diese Berichte 1902.

3) IWANOFF, Über die Umwandlungen des Phosphors in der Pflanze im Zusammenhange mit der Eiweissverwandlung (russische Arbeit), 1905.

4) HARLAY hat vor IWANOFF beobachtet, dass Enzyme der keimenden Samen die Nukleoalbumine, z. B. das Kasein, zersetzen. Compt. rend. 1900, p. 623.

IWANOFF löst die Frage über die enzymatische Zersetzung der organischen Phosphorverbindungen nur durch einen einzigen Versuch, ohne zweifache Bestimmungen zur Kontrolle zu machen.

Weiter spricht IWANOFF die Voraussetzung aus, dass die Lecithinzersetzung, die während der Keimung der Samen vor sich geht, ebenfalls durch Enzyme verursacht ist. Zugunsten dieser Ansicht führt IWANOFF einen Versuch an, der seiner Meinung nach für die Zersetzungsfähigkeit des Lecithins durch Enzyme spricht. Es wurden 50 Kotyledonen von *Phaseolus multiflorus* im Wasserdampf sterilisiert, und dann wurden 25 von diesen mit Sporen von *Aspergillus niger* besät, die anderen aber getrocknet und zur Lecithin- und Gesamtposphorbestimmung benutzt. Nach zehn Tagen wurde auch die erste Portion der Kotyledonen samt dem gewachsenen Mycel des *Aspergillus* getrocknet und analysiert:

	Gesamt- P ₂ O ₅	Lecithin- P ₂ O ₅	Lecithin-P ₂ O ₅ in Prozent der Gesamt-P ₂ O ₅
Kotyledonen ohne <i>Aspergillus</i> . .	0,95 pCt.	0,064 pCt.	6,7
„ mit „ . .	1,11 „	0,034 „	3,0

IWANOFF hat daraus den Schluss gezogen, dass *Aspergillus* Lecithin enzymatisch zersetzt hat.

Es war ganz unnötig, die Fähigkeit des lebenden Organismus Lecithin zu zersetzen, durch einen neuen Versuch zu beweisen, da dies schon längst bekannt ist. In keinem Falle gewinnt die Voraussetzung der enzymatischen Lecithinzersetzung während der Keimung der Samen mehr an Beweiskraft, wenn wir eine solche für *Aspergillus* vermuten. Um die enzymatische Natur der Lecithinzersetzung durch *Aspergillus* oder keimende Samen zu begründen, wäre es nötig gewesen, die Wirkung des getöteten, nicht aber des lebenden Organismus zu studieren.

Wenn es a priori sehr wahrscheinlich ist, dass die chemischen Prozesse im Organismus durch Enzyme verursacht werden, so ist es doch nicht zulässig, ohne entsprechende Versuche über die enzymatische Natur irgend eines Prozesses nur aus dem Grunde zu reden, weil er im lebenden Organismus vor sich geht.

Die Voraussetzung der enzymatischen Natur der Lecithinzersetzung während der Keimung der Samen hat früher schon SCHULZE¹⁾ ausgesprochen, indem er sagt: „Man darf vermuten, dass in den Pflanzen die Lecithine, ebenso wie im Tierkörper, durch Enzyme gespalten werden.“

Es war ausserdem nicht erforderlich von seiten IWANOFF's, den Beweis für die enzymatische Zersetzungsfähigkeit des Lecithins durch

1) SCHULZE und WINTERSTEIN, Zeitschr. für physiolog. Chemie, Bd. 40, S. 117.

noch dazu nicht beweiskräftigen Versuch erbringen zu wollen, da dies schon KUTSCHER¹⁾, CORIAT²⁾ und WALDVOGEL³⁾ gezeigt haben.

Vor kurzem hat auch MAYER⁴⁾ nachgewiesen, dass Steapsin und einige pflanzliche Enzyme Lecithin zersetzen können, aber zum Bedauern finden wir in dieser Mitteilung keine näheren Hinweise über die Enzyme, welche der Verfasser zu seinen Versuchen genommen hat.

Es ist der Zweck vorliegender Arbeit, die Natur der Verwandlungen, welche die organischen Phosphorverbindungen während der Keimung der Samen erleiden, zu studieren.

Zu diesem Zweck wurden die Keimlinge von *Lupinus angustifolius* in verschiedenen Altersstadien bei 37—39° C. getrocknet, gepulvert und das so erhaltene Mehl dann zu Autodigestionsversuchen genommen.

Es wurden die abgewogenen Mengen des Präparates in Gefässe eingeführt, mit sterilisiertem Wasser und Toluol versetzt und auf bestimmte Zeit bei 38—39° C. stehen gelassen. Zur Kontrolle wurden einige von diesen Gefässen eine Viertelstunde lang im Wasserbade erhitzt und nach Toluolzusatz wie jene bei denselben Bedingungen gestellt.

Nach beendigtem Versuche wurden die Eiweissstoffe durch 10 bis 15 Minuten langes Erhitzen im Wasserbade durch 0,2 pCt. Salzsäure ausgefällt, auf das Filter gebracht, mit derselben Säure gut ausgewaschen, getrocknet und zur Bestimmung des Eiweiss- und Lecithinphosphors zusammen benutzt. Parallel wurde der in oben beschriebener Weise aus einem anderen Versuchgefässe erhaltene Niederschlag zur Lecithinentfernung 20mal mit kochendem absoluten Alkohol und 10mal mit Äther ausgewaschen, um den Eiweissphosphor allein zu bestimmen. Die Differenz im Phosphorgehalt zwischen dem ersten und zweiten Niederschlage weist auf die Menge des Lecithinphosphors hin. In einem weiteren Falle (Versuch IV) wurde das Lecithin aus dem in oben beschriebener Weise erhaltenen Niederschlage, der Eiweissstoffe und Lecithin enthält, nach SCHULZE's Methode⁵⁾ extrahiert und nach Verdunstung der Lösung bestimmt.

Es ist richtiger, statt von Lecithin von Phosphatiden zu reden, wie dies WINTERSTEIN⁶⁾ neuerdings tut.

Die Bestimmung des Eiweiss- und Phosphatidenphosphors ge-

1) KUTSCHER und LOHMANN, ibidem, Bd. 39.

2) CORIAT, Americ. Journ. Physiol., Vol. XII, 1904; zitiert nach CZAPEK, Biochemie der Pflanzen, Bd. II, S. 956.

3) WALDVOGEL, Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 43.

4) MAYER, Berliner klinische Wochenschrift 1905.

5) SCHULZE und STEIGER, Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. 13, und SCHULZE und FRANKFURT, Landwirtsch. Versuchsstat., Bd. 43.

6) WINTERSTEIN, Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. 47.

schah nach NEUMANN's¹⁾ Verfahren durch Verbrennung mit Schwefel- und Salpetersäure in KJELDAHL's Kolben, worauf die ganz farblose Lösung mit destilliertem Wasser verdünnt, filtriert, mit Ammoniak neutralisiert und dann nach Salpetersäurezusatz nach der Molybdänmethode bestimmt wurde.

Das Filtrat des Eiweissniederschlages wurde in zwei Hälften geteilt. In einer Portion dieser Lösung wurden die anorganischen Phosphate nach Ammoniakzusatz mit Magnesiamixtur ausgefällt, auf dem Filter in Salpetersäure gelöst und nach der Molybdänmethode bestimmt. Die zweite Hälfte der oben genannten Lösung hatte, nachdem sie in KJELDAHL's Kolben eingedampft wurde, zur Bestimmung aller in salzsäurehaltigem Wasser löslichen Phosphorverbindungen gedient. Die auf organische wasserlösliche Phosphorverbindungen fallende Phosphormenge wurde aus der Differenz bestimmt.

Der Phosphor aller bestimmbaren Verbindungen wurde als P_2O_5 oder als P aus $Mg_2P_4O_7$ berechnet und dann in Prozenten der ursprünglichen Substanz (des Präparates) ausgedrückt.

Versuch I.

Präparat aus zwei- bis viertägigen Keimlingen:

Autodigestionsdauer	Eiweiss- P_2O_5		Eiweiss- P_2O_5 -Verlust in Prozent der anfänglichen Eiweiss- P_2O_5 pCt.
	gekocht pCt.	ungekocht pCt.	
9 Tage	0,7622	0,4000	— 47
13. „	0,7618	0,2559	— 66

Versuch II.

Präparat aus drei- bis viertägigen Keimlingen. Autodigestionsdauer 13 Tage.

	Gekocht		Eiweiss- P_2O_5 -Verlust in Prozent der anfänglichen Eiweiss- P_2O_5 pCt.
	pCt.	Ungekocht pCt.	
Eiweiss- P_2O_5	0,7493	0,2431	— 67
Phosphatiden- P_2O_5	0,1051	0,0520	—
Phosphat- P_2O_5	0,2263	0,8258	—

Versuch III.

Präparat aus zwei- bis viertägigen Keimlingen. Autodigestionsdauer 14 Tage.

Eiweiss- P_2O_5	0,8001	0,3012	— 62
Phosphatiden- P_2O_5	0,1250	0,0603	—
Phosphat- P_2O_5	0,2005	0,8153	—

1) NEUMANN, ibidem, Bd. 37.

Versuch IV.

Präparat aus zwei- bis viertägigen Keimlingen. Autodigestionsdauer 13 Tage.

	Gekocht pCt.	Ungekocht pCt.
Phosphatiden- P_2O_5	0,1150	0,0540
	0,1141	0,0480

Versuch V.

Präparat aus gequollenen Samen. Autodigestionsdauer 12 Tage.

P_2O_5 in organischen wasserlöslichen Verbindungen	0,4203	0,3534
Phosphat- P_2O_5	0,0175	0,6330

Versuch VI.

Präparat aus gequollenen Samen. Autodigestionsdauer 13 Tage.

P_2O_5 in organischen wasserlöslichen Verbindungen	0,4020	0,3210
Phosphat- P_2O_5	0,0199	0,6820

Aus den angeführten Versuchen ist zu ersehen, dass die phosphorhaltigen Eiweissstoffe und Phosphatide (hauptsächlich Lecithin) sich durch Enzyme unter der Bildung anorganischer Phosphate zersetzen, da sie im ungekochten Präparate keine Veränderung erfahren.

Die löslichen organischen Phosphorverbindungen fallen einer enzymatischen Zersetzung anheim, da die Menge von Phosphaten, die bei der Autodigestion der Keimlinge sich ansammeln, etwas grösser ist, als die Menge der Phosphate, die durch Zerfall nur der Eiweissstoffe und Phosphatide entstehen könnte. In den Versuchen (V und VI) wurde die Zersetzung dieser Verbindungen direkt nachgewiesen.

Es gehen also auch bei der Autolyse der Keimlinge solche Phosphorwandlungen vor sich, wie sie von IWANOFF¹⁾ und ZALESKI²⁾ während der Keimung der Samen beobachtet wurden.

Es ist weiter interessant zu untersuchen, bis zu welcher Grenze die enzymatische Zersetzung der phosphorhaltigen Eiweissstoffe geht. Zu diesem Zweck müssen wir Keimlinge der späteren Altersstadien der Autodigestion unterwerfen, da bei der Autolyse der drei- bis viertägigen Keimpflanzen noch eine bedeutende Menge des Eiweissphosphors unzersetzt bleibt, was durch Zerstörung der Enzyme oder durch Anhäufung autiproteolytisch wirkender Stoffe erklärt werden könnte.

1) IWANOFF, l. c.

2) ZALESKI, l. c.

Versuch VII.

Präparat aus 20- bis 22tägigen Keimlingen. Autodigestionsdauer 15 Tage.

	Präparat pCt.	Gekocht pCt.	Ungekocht pCt.
Gesamt-P	0,7665	—	—
Eiweiss-P	0,1304	0,1302	0,0151
Vom Gesamtphosphor fallen auf:			
Eiweiss-P	17	17	2

Versuch VIII.

Präparat aus 20tägigen Keimlingen. Autodigestionsdauer 13 Tage.

	Gekocht	Ungekocht
Gesamt-P	0,8025	—
Eiweiss-P	0,1214	0,0200
Vom Gesamtphosphor fallen auf:		
Eiweiss-P	15,0	2,5

Versuch IX.

Präparat aus 25tägigen Keimlingen. Autodigestionsdauer 13 Tage.

Gesamt-P	0,8210	—
Eiweiss-P	0,1284	0,0155
Vom Gesamtphosphor fallen auf:		
Eiweiss-P	15,6	1,9

Die phosphorhaltigen Eiweissstoffe fallen unter Wirkung der Enzyme einer sehr starken Zersetzung anheim, da nur 2 pCt. des Eiweissphosphors unzersetzt bleiben. Ob sie noch weiter sich autolytisch zersetzen können, bleibt zu erforschen.

Die phosphorhaltigen Eiweissstoffe der Samen sind hauptsächlich Reservestoffe und haben allem Anscheine nach die Natur von Nuklealbuminen (Phytovitellinen), was sehr wahrscheinlich geworden ist, seit WIMAN¹⁾ Pseudonukleïn im Legumin nachgewiesen hat.

Die Eiweissabspaltung geht weit rascher vor sich, als die Verwandlung des Eiweissstickstoffes in andere Verbindungen. Wenn wir z. B. in den oben beschriebenen Versuchen den Eiweiss-N-Verlust in Prozenten des anfänglichen Eiweiss-N bestimmen, so bekommen wir Zahlen (—47 pCt.), die weit geringer sind als solche für den Eiweiss-P-Verlust (—88 pCt.).

Man könnte meinen, dass die Keimlinge verschiedene Eiweissstoffe enthalten, deren Zerfall mit verschiedener Intensität durch Enzyme bewirkt wird, was zur allmählichen Verminderung des Ge-

1) WIMAN, MALY's Jahresbericht XXVII, 1897.

samteiweisses an Phosphor führt. Es scheint mir aber wahrscheinlicher, dass die Phosphorabspaltung aus Eiweissstoffen und die proteolytische Zersetzung derselben unabhängig voneinander stattfinden können, was aus folgenden Experimenten zu ersehen ist.

Versuch X.

Präparat aus Achsenorganen 30 tägiger Keimlinge. Autodigestionsdauer 14 Tage.

	Gekocht pCt.	Ungekocht pCt.	Eiweiss-P-Verlust in Prozent des anfänglichen Eiweiss-P pCt.
Eiweiss-P	0,0748	0,0185	— 75,2
Eiweiss-N	1,277	1.276	—

Versuch XI.

Präparat aus Achsenorganen 32 tägiger Keimlinge. Autodigestionsdauer 13 Tage.

Eiweiss-P	0,0820	0,0240	— 70,7
Eiweiss-N	1,265	1,267	—

Versuch XII.

Eiweiss-P	0,0700	0,0175	— 75,0
Eiweiss-N	1,285	1,289	—

In den angeführten Versuchen wurde nun eine enzymatische Phosphorabspaltung aus Eiweissstoffen ohne Zersetzung der Stickstoff führenden Bestandteile derselben beobachtet, da die Menge derselben nur in der Fehlergrenze der Analyse schwankt.

Man kann vermuten, dass die Keimlinge ein besonderes Enzym enthalten, dessen Wirkung sich in der Eiweissabspaltung äussert, da proteolytische Fermente, z. B. Pepsin und Trypsin, bei dem Zerfall von phosphorhaltigen Eiweissstoffen einen Rest mit höherem Phosphorgehalt zurücklassen.

Man kann sich aber auch vorstellen, dass es die Wirkung eines und desselben Enzymes ist, das je nach Umständen nur eine Phosphorabspaltung aus Eiweissstoffen ohne die Zersetzung der stickstoffhaltigen Teile derselben ausführen kann.

Es ist die weitere Aufgabe des Verfassers, die Enzyme, welche die Umwandlungen der organischen Phosphorverbindungen während der Keimung der Samen bedingen, näher zu studieren.

Charkow, Pflanzenphysiologisches Kabinet.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1906

Band/Volume: [24](#)

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

Artikel/Article: [Über die Rolle der Enzyme bei der Umwandlung organischer Phosphorverbindungen in keimenden Samen. 285-291](#)