

51. W. Zaleski: Über den Umsatz der Nucleinsäure in keimenden Samen.

Eingegangen am 26. Juni 1907.

Vorliegende Mitteilung stellt eine Fortsetzung der im Jahre 1902 von mir publizierten Arbeit dar¹⁾ und hat den Zweck, die Umwandlung des Eiweissphosphors, besonders den der Nucleinsäure in wachsenden Teilen der Keimpflanzen zu studieren.

Kurz vor meiner Mitteilung²⁾ hat IWANOFF³⁾ eine Arbeit veröffentlicht, in welcher er zu dem Schlusse kam, dass „die phosphorhaltigen Eiweissverbindungen (Nucleoalbumine und Nucleoproteide) sich leicht zersetzen, und dass dieselben — dies ist besonders wichtig — noch in der lebenden Pflanze fast gänzlich zerfallen“. Ein solches Ergebnis erschien dem Verfasser als unerwartet, da die während der Keimung der Samen vor sich gehende Vermehrung der lebenden Protoplasten, besonders die der Zellkerne, eine Zunahme „der Nucleinsubstanzen“ zur Folge haben müsste.

IWANOFF hat keinen Beweis für die Zersetzung der Nucleoproteide während der Keimung der Wickensamen geliefert, da er diese direkt nicht bestimmt hat; auch hat der Verfasser die vollständige Abwesenheit des Eiweissphosphors in 27—29 tägigen Wickenkeimlingen nicht durch Analyse konstatiert, da er die ganze Phosphormenge (6,3 pCt.), welche diese in Form von Lecithin und auch Eiweissstoffen zusammen enthielten, dem Lecithin allein, ohne eine besondere Analyse desselben zu machen, zugeschrieben hat.

Weiter spricht die Tatsache der Verminderung der phosphorhaltigen Eiweissstoffe während der Keimung der Samen nicht gegen einen Anteil derselben bei der Vermehrung der Protoplasten, da diese in den wachsenden, nicht aber in den als Reservestoffbehälter dienenden Teilen der Keimpflanzen vor sich geht.

So habe ich früher nachgewiesen,⁴⁾ dass während der Keimung der *Lupinus*-Samen Hand in Hand mit der fortschreitenden Abnahme des Eiweissstickstoffes in den Cotyledonen eine allmähliche Zunahme desselben in Axenorganen vor sich geht.

1) ZALESKI, diese Berichte, Bd. XX.

2) ZALESKI l. c.

3) IWANOFF, diese Berichte, Bd. XX.

4) ZALESKI, diese Berichte, Bd. XVIII.

Ich vermutete daher, dass ein solches Ergebnis auch für die phosphorhaltigen Eiweissstoffe zu beobachten sein wird, was ich in meiner oben zitierten Arbeit zu konstatieren versuchte.

Meine Versuche haben aber die erwartete Antwort auf diese Frage nicht gegeben, was aus der erwähnten Mitteilung zu ersehen ist. Ich habe damals zu den Versuchen die Axenorgane der *Lupinus*-Keimlinge von späten Stadien der Keimung genommen, in welchen der Eiweissaufbau, wenn solcher überhaupt stattfand, schon aufgehört hatte. So zeigten z. B. die Axenorgane 10-, 15- und 25tägiger Keimlinge nur einen geringen Unterschied in ihrem Gehalt an Eiweissphosphor. Es erwies sich daher als notwendig, die früheren Stadien der Keimung in dieser Beziehung einer Untersuchung zu unterwerfen.

Es ist der Zweck vorliegender Mitteilung, den Umsatz der phosphorhaltigen Eiweissstoffe, besonders der Nucleoproteide oder vorsichtiger gesagt den der Nucleinsäure in den wachsenden Teilen der Keimpflanzen vom Anfang der Keimung an zu verfolgen.

Lupinus-Samen sind zu diesen Versuchen wenig geeignet, da die Abtrennung der Axenorgane von den Cotyledonen auf sehr frühen Stadien der Keimung in der für die Analyse nötigen Zahl, welche wegen der geringen Grösse der Objekte eine bedeutende wird, eine umständliche Arbeit ist. Daher habe ich zu diesen Versuchen die Samen von *Vicia Faba Windsor* gewählt, da die wachsenden Teile derselben im Vergleich mit denen der Lupinen sehr gross sind und leicht zur Analyse in hinreichender Menge gesammelt werden können.

In den Versuchen wurde eine bestimmte Menge der im Dunkeln gekeimten Samen von *Vicia Faba* in Cotyledonen und Axenorgane zerlegt und dann diese allein bei 60–70° getrocknet und zur Analyse benutzt.

Dann bestimmte man Stickstoff und Phosphor der Eiweissstoffe und die Nucleinsäure.

Zuerst sei hier erwähnt, auf welche Weise wir Nucleinsäure bestimmen können. Die von STUTZER eingeführte Methode der Verdauung der Eiweissstoffe durch Pepsinsalzsäure mit der nachfolgenden Bestimmung des Stickstoffes im unverdaulichen Reste, welche einige Forscher zur Bestimmung der Nucleoproteide benutzten, wurde mit Recht von IWANOFF¹⁾ auf Grund der Untersuchungen von LUBAWIN,²⁾ UMBER,³⁾ SZUMOWSKY⁴⁾ und WIMANN⁵⁾ einer scharfen Kritik unterworfen.

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

2) LUBAWIN, Journ. Russ. Phys.-chem. Ges., Bd. XI.

3) UMBER, Zeitschr. für klinische Medizin, Bd. 43, 1901.

4) SZUMOWSKY, Zeitschr. für physiolog. Chem., Bd. XXXVI.

5) WIMANN, Maly's Jahresber., Bd. XXVII.

Ein zweites und bis jetzt einziges Mittel, die Nucleinsäure zu bestimmen, besteht in der Bestimmung der Purinbasen derselben, welche die charakteristischen Spaltungsprodukte der Nucleinsäure darstellen, obgleich man zugestehen muss, dass auch diese Methode an einigen Übelständen leidet. So haben wir keine ganz genaue Methode der Abscheidung der Nucleinbasen von anderen Stoffen, die gleichzeitig mit jenen während der Spaltung der Nucleinsäure durch Mineralsäuren entstehen. In jedem Falle gestattet sie aber bei gleicher Ausführung eine Vergleichung der relativen Werte.

Wenn wir also ein und dasselbe Objekt auf verschiedenen Stadien der Keimung verfolgen, so können wir bei einem bestimmten Unterschiede im Gehalt an Stickstoff der Purinbasen, die an Nucleinsäure gebunden sind, von der entsprechenden Umwandlung der letzteren sprechen.

Die Bestimmung des Purinbasenstickstoffes der Nucleinsäure wurde folgenderweise ausgeführt. Zuerst wurden die Nucleoproteide, eigentlich die phosphorhaltigen Eiweissstoffe, durch Erhitzen im Wasserbade mit 0,2 pCt. Salzsäure ausgefällt, auf das Filter gebracht und mit derselben Säure gut ausgewaschen. Der so erhaltene Niederschlag, welcher auch die Nucleinsäure enthält, wurde mit 1–4 pCt. Schwefelsäure am Rückflusskühler gekocht oder mit derselben Säure im Autoclaven bei 100° erhitzt. Die Lösung wurde abfiltriert, mit dem Washwasser vereinigt, neutralisiert und nach Essigsäurezusatz auf dem Wasserbade eingeengt. Dann wurden die Purinbasen nach Ammoniakzusatz mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt, mit Ammoniak und Wasser gewaschen und nach Ammoniakentfernung¹⁾ zur Bestimmung des Stickstoffes nach KJELDAHL benutzt. Zur Kontrolle wurden die Purinbasen auch nach KRÜGER's Methode²⁾ mit Natriumbisulfit und Kupfersulfat ausgefällt und dann nach Kupferentfernung mit ammoniakalischer Silberlösung versetzt, und der so erhaltene Niederschlag nach der entsprechenden Bearbeitung zur Bestimmung des Purinbasenstickstoffs benutzt.

Die Bestimmung des Eiweissphosphors geschah in der früher beschriebenen Weise.³⁾ Die durch 10 Minuten langes Erhitzen im Wasserbade durch 0,2 pCt. Salzsäure ausgefallenen Eiweissstoffe wurden mehrmals mit absolutem Alkohol und Äther zwecks Lecithinentfernung gekocht, dann mit Schwefel- und Salpetersäure nach NEUMANN's Verfahren verbrannt und zur Bestimmung des Phosphors

1) Der Niederschlag wurde von den letzten Spuren Ammoniaks durch Kochen mit überschüssiger Magnesia befreit.

2) HOPPE-SEYLER's Handbuch der phys. Anal. 1903. BURIAN und HOLL, Zeitschr. für physiol. Chem. XXXVIII.

3) ZALESKI, diese Berichte, Bd. XXIV.

in üblicher Weise verarbeitet. Der Stickstoff der nach STUTZER ausgefällten Eiweissstoffe wurde nach KJELDAHL bestimmt.

Die Menge aller bestimmbarer Substanzen wurde auf 100 Objekte berechnet. Ausserdem wurde noch der Koeffizient $\frac{P}{N}$ der Eiweissstoffe, dessen IWANOFF¹⁾ sich so oft bediente, um über den Anteil der Nucleoproteide in der Gesamtmenge der Eiweissstoffe zu urteilen, bestimmt.

1. Versuch.

100 Axenorgane der etiolierten Keimpflanzen von *Vicia Faba*.

Keimlinge	3tägige	9tägige
Eiweiss-N	0,0850	0,3755
Purinbasen-N	0,0075	0,0262
Eiweiss-P	0,0125	0,0337
Koeffizient $\frac{P}{N}$	$\frac{1}{6,8}$	$\frac{1}{11,1}$

2. Versuch.

100 Axenorgane der etiolierten Keimpflanzen von *Vicia Faba*.

Keimlinge	3tägige	9tägige
Eiweiss-N	0,0849	0,3760
Eiweiss-P	0,0120	0,0336
Koeffizient $\frac{P}{N}$	$\frac{1}{7}$	$\frac{1}{11}$

3. Versuch.

100 Axenorgane der etiolierten Keimpflanzen von *Vicia Faba*.

Keimlinge	3tägige	9tägige
Eiweiss-P	0,0123	0,0330

4. Versuch.

100 Axenorgane der etiolierten Keimpflanzen von *Vicia Faba*.

Keimlinge	3tägige	7—8tägige
Purinbasen-N	0,0070	0,0241

5. Versuch.²⁾

100 Axenorgane der etiolierten Keimpflanzen von *Vicia Faba*.

Keimlinge	2tägige	7—8tägige
Purinbasen-N	0,0044	0,0182

1) IWANOFF l. c.

2) In diesem Versuche wurden die Purinbasen nach KRÜGER bestimmt.

Die Anwesenheit der gebundenen Purinbasen in dem keimenden Embryo weist darauf hin, dass dieser Nucleinsäure enthält. Über den Reichtum der Embryonen an Nucleinsäure hat sich schon OSBORN¹⁾ ausgesprochen, der sie aus Weizenembryonen isoliert hat.

Es ergibt sich weiter, dass während der Keimung der Samen von *Vicia Faba* eine Zunahme des Eiweissphosphors in wachsenden Teilen der Keimpflanzen stattfindet. Da Hand in Hand mit der Vermehrung des Eiweissphosphors die der Purinbasen in den Axenorganen vor sich geht, so können wir sagen, dass während der Keimung unserer Samen die Nucleinsäure in den wachsenden Teilen derselben an Menge zunimmt. Da gleichzeitig mit der Zunahme der Nucleinsäure auch die Vermehrung des Eiweissstickstoffes in den Axenorganen der Keimpflanzen vor sich geht, so ist es wahrscheinlich, dass in diesem Falle auch die Bildung von Nucleoproteiden stattfindet.

Wir sehen weiter, dass der Koeffizient $\frac{P}{N}$ der Eiweissstoffe uns kein Mittel gibt, um über die Art der Eiweissstoffe, sowie über die Veränderung derselben zu urteilen. So z. B. bilden sich während der Keimung der Samen in den Axenteilen derselben Nucleoproteide ungeachtet der Verminderung des Koeffizienten $\frac{P}{N}$.

Es fragt sich jetzt, ob in unseren Versuchen die Bildung der Nucleinsäure in den Axenteilen der Keimpflanzen stattfindet oder sie diesen als solche aus den Cotyledonen zuströmt. Obgleich die endgültige Lösung dieser Frage weiteren Untersuchungen überlassen sein soll, so vermute ich doch, dass in den wachsenden Teilen der Keimpflanzen die Synthese der Nucleinsäure stattfindet, da es wenig wahrscheinlich ist, dass diese als solche den Axenorganen zuströmt, weil sie mit den Eiweissstoffen Ausfällungen gibt.

Es ist daher wahrscheinlicher, dass die Purinbasen und Phosphate den wachsenden Teilen der Keimpflanzen zuströmen, wo sie mit den anderen Verbindungen zum Aufbau der Nucleinsäure dienen. Zugunsten einer solchen Voraussetzung spricht auch das Vorhandensein in den Axenteilen der Keimpflanzen des Nucleinsäure spaltenden Enzyms, da trotz der Anwesenheit desselben in Axenorganen die Zunahme der Nucleinsäure stattfindet.

Zum Nachweis des Nucleinsäure spaltenden Enzyms in den Axenteilen der Keimpflanzen wurden folgende Versuche ausgeführt.

Zu diesen Versuchen wurden nur die Stengelspitzen der etiolierten Keimpflanzen von *Vicia Faba* benutzt, da sie eine bedeutende Menge der Nucleinsäure enthalten. Zu diesem Zweck

1) OSBORN und HARRIS, Zeitschr. für physiolog. Chem., Bd. XXXVI.

wurden die Spitzen bei 37° getrocknet, fein pulverisiert und dann zu Autolyseversuchen benutzt. Es wurden die abgewogenen Mengen des Präparates in Gefässe eingeführt, mit sterilisiertem Wasser und Toluol versetzt und auf bestimmte Zeit bei 38—39° stehen gelassen. Zur Kontrolle wurden einige von diesen Gefässen eine Viertelstunde lang im Wasserbade erhitzt und nach Toluolzusatz, wie jene bei denselben Bedingungen gehalten. Nach beendigtem Versuche wurden Eiweissphosphor und die Purinbasen der Nucleinsäure in oben beschriebener Weise bestimmt und auf 300 Stengelspitzen berechnet.

6. Versuch.

Präparat aus Spitzen 24tägiger Keimpflanzen von *Vicia Faba*.
Autodigestionsdauer 13 Tage.

	gekocht	ungekocht
Eiweiss-P	0,0738	0,0183

7. Versuch.

Präparat aus Spitzen 23tägiger Keimpflanzen von *Vicia Faba*.
Autodigestionsdauer 13 Tage.

	gekocht	ungekocht
Eiweiss-P	0,0712	0,0165

8. Versuch.

Präparat aus Spitzen 25tägiger Keimpflanzen von *Vicia Faba*.
Autodigestionsdauer 12 Tage.

	gekocht	ungekocht
Purinbasen-N	0,05409	0,00908

9. Versuch.

Präparat aus Spitzen 22tägiger Keimpflanzen von *Vicia Faba*.
Autodigestionsdauer 12 Tage.

	gekocht	ungekocht
Purinbasen-N	0,05425	0,00950

Bei der Autodigestion der Stengelspitzen von *Vicia Faba* zersetzt sich also die Nucleinsäure, da Hand in Hand mit der Abnahme des Eiweissphosphors auch die Verminderung der gebundenen Purinbasen während der Autolyse stattfindet. Es ist wahrscheinlich, dass die enzymatische Zersetzung der Nucleinsäure in den autolysierten Spitzen durch die Nuclease, welche von IWANOFF¹⁾ als ein besonderes Enzym charakterisiert wurde, verursacht wird. Ich habe

1) IWANOFF, Zeitschr. für physiolog. Chem. XXXIX.

auch in anderen Teilen der etiolierten Keimpflanzen Nuclease gefunden.

Die Zunahme der Nucleinsäure in den Axenteilen der Keimpflanzen und die Anwesenheit der vermutlichen Nuclease in den Stengelenden derselben führen zum Gedanken, dass in den Axenorganen, sei es an verschiedenen Stellen oder zu verschiedenen Zeiten, zwei entgegengesetzte Prozesse, wie der Aufbau und der Abbau der Nucleinsäure stattfinden. Es ist z. B. möglich, dass der Aufbau der Nucleinsäure zu den reversiblen enzymatischen Reaktionen gehört.

IWANOFF¹⁾ behauptet (auf Grund seiner²⁾ und besonders meiner früheren Versuche mit Stengelspitzen von *Vicia Faba*, dass Meristemwachstum immer mit der Zersetzung der organischen Phosphorverbindungen begleitet ist. So sagt IWANOFF z. B.: „Das hat auch ZALESKI bestätigt,³⁾ indem er (ZALESKI) die Menge des Eiweissphosphors während des Wachstums der Stengelspitzen von *Vicia Faba* bestimmt hat. Auf 48—56 Spitzen hat ZALESKI einen Eiweissphosphorverlust an 13—18,4 mg als $P_2Mg_2O_7$ bekommen. Da das Meristem fast seine ganze Phosphormenge in Form von Nucleoproteiden enthält, so wird durch ZALESKI's Versuche bewiesen, dass im Meristem die Zersetzung der Nucleoproteide stattfindet.“

Meine von IWANOFF zitierten Versuche sprechen nur für den Abbau der Nucleinsäure in den Stengelspitzen, aber geben keine Antwort darauf, ob die Zersetzung in dem Meristem oder an anderer Stelle der Keimpflanzen stattfindet, da das Meristem einen sehr kleinen Teil der Spitzen darstellt.

Ganz willkürlich ist auch IWANOFF's Behauptung über das Vorhandensein der Nuclease im Meristem, die er auf Grund des folgenden Versuches gezogen hat. Der Verfasser hat die Spitzen der Spargeln von der Länge 1 cm vom Stengel abgetrennt, mit Wasser zerrieben und den so erhaltenen Brei in zwei Portionen geteilt. Eine dieser Portionen wurde vorher gekocht und dann mit der anderen auf 4 Tage bei 34° der Autodigestion überlassen. Nach Verlauf dieser Zeit bestimmte der Verfasser den Phosphatgehalt in den abfiltrierten Flüssigkeiten:

		. P_2O_5
gekocht	13,6 mg
ungekocht	51,2 „

Es bleibt unentschieden, ob die Bildung der Phosphate auf Kosten der Nucleoproteide oder anderer organischer Phosphor-

1) IWANOFF l. c. (russische Arbeit).

2) IWANOFF, Jahrb. für wissenschaft. Bot., Bd. 36.

3) IWANOFF hat nur seine mikrochemischen Untersuchungen im Auge.

verbindungen vor sich ging. Meine Bestimmungen z. B. zeigen, dass die Stengelspitzen von *Vicia Faba* nur 58 pCt. Phosphor in Form von Eiweissstoffen enthalten. Ob sich die Nuclease tatsächlich im Meristem findet, bleibt zu erforschen, da das Meristem einen sehr geringen Teil der 1 cm langen Spitzen darstellt.

Ich kann auch IWANOFF auf Grund unserer in der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Versuche mit *Vicia Faba* nicht beistimmen, wenn er sagt: „So sehen wir, dass die Protoplasten der Keimpflanzen augenscheinlich nicht aus Nucleoproteiden oder Plastin, sondern aus Eiweissstoffen, die an Phosphor im Verhältnis zum Stickstoff sehr arm sind, aufgebaut werden. Dass Wickensamen keine Ausnahme in dieser Beziehung darstellen, zeigt der Versuch von ZALESKI mit *Lupinus*. was der Verfasser (ZALESKI) selbst augenscheinlich nicht bemerkt hat.“

Ich habe keine Voraussetzung über den Charakter der phosphorhaltigen Eiweissstoffe der Keimpflanzen von *Lupinus* ausgesprochen¹⁾ und habe auch niemals bezweifelt, dass die Nucleoproteide im Vergleich mit den anderen Eiweissstoffen des ganzen Samens einen kleinen Betrag darstellen, da der grösste Teil desselben aus Reservestoffen besteht. Ich habe daher damals die Veränderung der phosphorhaltigen Eiweissstoffe in Axenorganen, wo die Neubildung der Zellen erfolgt, zu verfolgen versucht.

Ich kann weiter eine Bemerkung IWANOFF's, die auch Bezug auf mich hat, nicht mit Stillschweigen übergehen.

IWANOFF²⁾ schreibt: „UMIKOFF und der ihn zitierende ZALESKI halten unrichtigerweise diese Zahlen³⁾ für anorganische Phosphate.“ IWANOFF hat diesen Schluss nur aus folgenden meinen Worten gezogen: „In der Tat hat UMIKOFF gefunden, dass der Phosphor der Samen und Knollen hauptsächlich in organischer Form gespeichert ist.“ Aus diesem Satze, welcher nichts über die Phosphate enthält, konnte man allenfalls eher den entgegengesetzten Schluss ziehen, als den von Seiten IWANOFF's gemachten. Denn „hat IWANOFF augenscheinlich nicht bemerkt“, dass ich in den *Lupinus*-Keimpflanzen ausser Phosphaten auch die wasserlöslichen organischen Phosphorverbindungen bestimmt habe, weshalb ich nicht der Meinung sein konnte, dass UMIKOFF's Zahlen, welche für alle in 0,2 pCt. Salzsäure lösliche Phosphorverbindungen gelten, nur anorganische Phosphate bezeichnen.

Charkow, Pflanzenphysiolog. Kabinett.

1) ZALESKI, diese Berichte, Bd. XX.

2) IWANOFF l. c. (russische Arbeit).

3) Diese Zahlen bezeichnen alle in 0,2 pCt. Salzsäure lösliche Phosphorverbindungen (UMIKOFF's Tabelle; ZALESKI, diese Berichte, Bd. XX).

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1907

Band/Volume: [25](#)

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

Artikel/Article: [Über den Umsatz der Nucleinsäure in keimenden Samen. 349-356](#)