

Wenn die Färbung gut gelungen ist, und dies geschieht nach einiger Übung sehr leicht, dann sind die Zellkerne dunkel, das Cytoplasma hat einen leichten, grünblauen Ton angenommen und die Zellwände treten äusserst scharf hervor als dunkelviolette, oder (wenn das Hämatoxylin nicht lange genug gefärbt hat) dunkelgrüne Linien. Am deutlichsten erscheinen die Präparate, wenn die Zellwände violett gefärbt sind.

Leider kennen wir die Methode noch nicht lange genug, um über die Haltbarkeit weitere Mitteilungen machen zu können. Ein Präparat von einer *Fontinalis*-Knospe hat sich am Fenster nun schon während dreier Monate gut erhalten, und im Dunkeln aufbewahrt, wird es wohl viel länger dauern.

Wir können diese beiden Methoden am meisten empfehlen; speziell die letzte ist bequem und gibt schöne Zellwandfärbungen.

68. J. Kovchoff; Enzymatische Eiweisszersetzung in erfrorenen Pflanzen.

(Eingegangen am 22. Oktober 1907.)

Die von Prof. PALLADIN ausgearbeitete Erfrierungsmethode lieferte bei dem Studium der Atmungsenzyme höchst wertvolle Resultate¹⁾; es war daher von Interesse zu prüfen, in wie weit sich die genaunte Methode zur Erforschung der Tätigkeit proteolytischer Enzyme eignet. Behufs vorläufiger Orientierung habe ich auf Vorschlag und unter Leitung des Herrn Prof. PALLADIN folgende Versuche ausgeführt.

Hinsichtlich der einschlägigen Litteratur möge Folgendes erwähnt werden: BUTKEWITSCH²⁾ hat dargetan, dass bei der 10 Tage dauernden Selbstverdauung zerkleinerter Samenlappen der 6 tägigen Keimlinge von *Lupinus angustifolius* bei 35°—40° eine 48 pCt. betragende Abnahme des Eiweissstickstoffs erfolgt (die Samensubstanz wurde vorerst mit Äther bearbeitet). ZALESKI³⁾ hat beobachtet, dass in den mit Wasser versetzten Acetonpräparaten der reifenden

1) PALLADIN, diese Berichte, 1905, S. 240. — PALLADIN, Zeitschr. f. physiolog. Chemie, B. 47, 1906, S. 407. — KRASNOSSELSKY, diese Berichte, 1905, S. 142.

2) BUTKEWITSCH, Zeitschrift für physiol. Chemie. XXX. 1900.

3) ZALESKI, diese Berichte, 1905, S. 138, 1906.

Phaseolussamen eine Abspaltung von 39 pCt. Eiweissstickstoff stattfindet. WEIS¹⁾ hat neuerdings erwiesen, dass auch in erfrorenen Objekten Eiweissabbau erfolgt.

Bei meinen eigenen Versuchen habe ich das Versuchsmaterial in einige gleiche Portionen geteilt; eine davon wurde sogleich getrocknet (anfangs bei 100°, dann bei 70°), die übrigen wurden erfroren und zu den Versuchszwecken benutzt. Nach Beendigung je eines Versuches wurden sämtliche Portionen getrocknet, bzw. ausgekocht und analysiert. Die Versuche wurden bei Zimmertemperatur ausgeführt; der Gesamtstickstoff wurde nach KJELDAHL, der Proteinstickstoff wurde nach STUTZER bestimmt. Die mikroskopische Kontrolle ergab, dass in keinem einzigen Versuche Bakterienentwicklung stattgefunden hat.

Versuch 1.

17 tägige Weizenkeimlinge wurden oberhalb der Erde abgeschnitten und in 6 Portionen geteilt. 2 Portionen wurden sofort getrocknet, die übrigen 4 Portionen wurden erfroren (Dauer der Erfrierung 24 Stunden). 2 Portionen wurden auf Wasser, die übrigen auf 40 pCt. Saccharoselösung gelegt (ein jeder Kolben wurde mit 75 cc Wasser bzw. Saccharoselösung und 3 cc Toluol beschickt, alsdann zugestopft und bei Zimmertemperatur aufbewahrt). Versuchsdauer 5 Wochen; eine jede Portion wurde im Ganzen analysiert.

Portionen	Eiweissstickstoff in 12 g der Frischsubstanz	Mittel	In pCt. des Eiweissstickstoffs der Kontrollportion	Menge des abgespaltenen Eiweissstickstoffs in pCt. des Eiweissstickstoffs der Kontrollportion
Kontroll	0 05236 0,05104	{ 0,05170	100	—
Auf Wasser	0,02684 0,02640	{ 0,02662	51,4	48,6
Auf Zuckerlösung	0,03432 0,03476	{ 0,03454	66 8	33,2

Aus diesem Versuche ist ersichtlich, dass in erfrorenen Weizenkeimlingen eine intensive Eiweisszersetzung stattfindet; das betreffende Enzym wird also durch Erfrierung nicht getötet und seine Tätigkeit

1) WEIS, Comptes rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg, v. 5 1903, pag. 243.

durch von GÖRKE¹⁾ die in erfrorenen Pflanzen wahrgenommene Koagulation der Eiweissstoffe nicht gestört. PALLADIN²⁾ hat ebenfalls einen beträchtlichen Eiweisszerfall in Weizenkeimlingen beobachtet: derselbe erreichte 54,3 pCt. im Verlauf von 7 Tagen in Dunkelheit bei vollem Luftzutritt. Auf Zuckerlösung war der Eiweisszerfall in meinem obigen Versuche geringer, als auf Wasser; dieses Resultat stimmt mit demjenigen von Fr. GROMOW³⁾ überein, die den Einfluss der Saccharose auf die Selbstverdauung des Zymins studiert hat. In obigen Versuchen ZALESKI's⁴⁾ hat Saccharose den Eiweisszerfall nur in späteren Stadien des Reifeprozesses verzögert, übte dagegen keine Wirkung auf die Substanz der im Anfangsstadium der Reife begriffenen Samen.

Versuch 2.

Erbsensamen wurden im Verlauf von einem Tage in Wasser eingeweicht, dann abgeschält und je 6 Portionen zu je 2,2 g (5 Stück) geteilt. 2 Portionen wurden sogleich analysiert (Kontrollportionen); die übrigen wurden erfroren und am folgenden Tage in eine grosse feuchte Kammer gebracht, durch welche alsdann mit Toluoldampf gesättigte Luft geleitet wurde; da sich in der Kammer noch eine mit Toluol gefüllte flache Schale befand, so war die Atmosphäre der Kammer mit Toluol vollständig gesättigt.

Portionen	Eiweissstickstoff	Mittel	in pCt. des Eiweissstickstoffs der Kontrollportion	Menge des abspaltenen Eiweissstickstoffs in pCt. des Eiweissstickstoffs der Kontrollportion
Kontroll	{ 0,07276 0,07476	{ 0,07361	100	—
Nach 5 Tagen	{ 0,06468 0,06996	{ 0,06732	91,4	8,6
Nach 7 Tagen	{ 0,06562	{ 0,06262	89,1	10,9

Versuch 3.

Erbsensamen wurden nach 5 Tage dauernder Keimung abgeschält und in zwei Portionen zu je 25 g geteilt. Eine Portion wurde sogleich getrocknet, die andere wurde erfroren, dann zerrieben und mit 100 cc Wasser und 3 cc Toluol in einen Kolben gebracht. Der

1) GÖRKE. Landwirtschaftl. Versuchsstationen, B. 65, 1906, S. 149.

2) PALLADIN. Diese Berichte, B. 6, 1888, S. 205.

3) GROMOW. Zeitschr. f. physiolog. Chemie, B. 42, 1904, H. 4.

4) ZALESKI. l. c. S. 137.

Kolben wurde bei Zimmertemperatur belassen und von Zeit zu Zeit durchgeschüttelt. Nach Ablauf von 5 Wochen wurde die Versuchsportion ausgekocht. In beiden Portionen wurde Eiweiss nach STUTZER ausgefällt und abfiltriert, das Filtrat wurde mit dem Waschwasser vereinigt und bis auf 1 Liter mit Wasser verdünnt; dann wurden Portionen zu je 100 cc entnommen und zur Stickstoffbestimmung (nach KJELDAHL) verwendet. Auf diese Weise wurde die Menge des Nichteisweissstickstoffs ermittelt.

Portionen	In 100 cc		In der ganzen Portion	In pCt. der Kontrollportion
	Menge des Nichteisweissstickstoffs	Mittel		
Kontroll	0,00816	0,00793	0,0793	100,0
	0,00782			
	0,00782			
Versuch	0,01156	0,01179	0,1179	148,7
	0,01190			
	0,01190			

Die Menge des Nichteisweissstickstoffs hat sich also um 48,7 pCt. vergrössert.

Versuch 4.

60 g etiolierter Stengelgipfel von *Vicia Faba* wurden in zwei Portionen geteilt. Eine Portion wurde sogleich getrocknet. Die andere Portion wurde erfroren und in ein U-Rohr gebracht, durch welches alsdann die mit Toluoldampf gesättigte Luft geleitet wurde. Der Versuch dauerte 2 Tage.

		Trocken- substanz	Stickstoff	In pCt. der Trocken- substanz	Mittel	Eiweiss- stickstoff in pCt. des Gesamt- stickstoffs	Eiweiss- zer- setzung
Kontroll	Gesamt- stickstoff	0,717	0,0612	8,535	8,592	76,93	
		0,718	0,0621	8,649			
	Eiweiss- stickstoff	0,761	0,0500	6,570	6,610		
		0,421	0,0280	6,650			
Versuch	Gesamt- stickstoff	0,560	0,0513	9,160	9,255	71,05	—7,6
		0,647	0,0605	9,350			
	Eiweiss- stickstoff	0,852	0,0559	6,561	6,576		
		0,399	0,0263	6,591			

Versuch 5.

75 g etiolierter Blätter von *Vicia Faba* wurden in 2 Portionen geteilt. Eine Portion wurde sofort getrocknet. Die andere Portion wurde erfroren und in ein U-Rohr gebracht, durch welches alsdann der mit Toudampf gesättigte Wasserstoff geleitet wurde. Der Versuch dauerte 4 Tage.

		Trocken- substanz	Stickstoff	In pCt. der Trocken- substanz	Mittel	Eiweiss- stickstoff in pCt. des Gesamt- stickstoffs	Eiweis- zer- setzung
Kontroll	Gesamt- stickstoff	{ 0,2420	0,02403	9,929	} 10,161		
		{ 0,2570	0,02671	10,393			
	Eiweiss- stickstoff	{ 0,3370	0,02361	7,006	} 7,004	68,93	
		{ 0,3345	0,02342	7,001			
Versuch	Gesamt- stickstoff	{ 0,2735	0,02690	9,835	} 9,852		
		{ 0,2720	0,02684	9,867			
	Eiweiss- stickstoff	{ 0,3445	0,02177	6,319	} 6,364	64,59	- 6,3
		{ 0,3415	0,02189	6,409			

Versuch 6.

Grüne Blätter von *Vicia Faba* wurden in 16 Portionen zu je 4 g geteilt und im Verlauf von fünf Tagen auf 10 pCt. Saccharoselösung kultiviert. Zwei Portionen wurden getrocknet und die übrigen Portionen erfroren. Die erfrorenen Portionen wurden auf 50 cm der 10prozentigen Saccharoselösung + 0,25 g phosphorsaures Natrium + 2 cm Toluol gelegt.

	Eiweiss-N	Mittel	In Pro- zenten des Eiweiss-N der Kontroll- portion	Eiweiss- zersetzung in pCt.
Kontrollportion {	0,053 68 0,055 44	} 0,054 56	100,0	—
5 Tage {	0,044 44 0,048 40	} 0,046 42	85,1	14,9
10 Tage {	0,046 20 0,049 28	} 0,047 74	87,5	12,5
15 Tage {	0,046 58 0,046 92	} 0,046 75	85,7	14,3
20 Tage {	0,046 24 0,046 24	} 0,046 24	84,8	15,2

Man bemerkt also die starke Eiweisszersetzung nur während der ersten fünf Tage.

Versuch 7.

Etiolierte Blätter von *Vicia Faba* wurden in 6 Portionen zu je 3 g geteilt. 2 Portionen wurden getrocknet und die übrigen Portionen erfroren. Die erfrorenen Portionen wurden auf 40prozentige Saccharoselösung mit Toluol gelegt.

	Eiweiss-N	Mittel	In Pro- zenten der Eiweiss-N der Kontroll- portion	Eiweiss- zersetzung in pCt.
Kontrollportion {	0,038 08 0,040 12	} 0,039 10	100,0	—
17 Tage {	0,035 36 0,036 38	} 0,035 87	91,7	8,3
34 Tage {	0,035 70 0,035 70	} 0,035 70	91,3	8,7

Versuch 8.

12. XI. wurden 56 g etiulierter Blätter von *Vicia Faba* abgehoben und in 4 Portionen zu je 14 g geteilt.

1. Portion wurde sogleich getrocknet.
2. Portion wurde erfroren.
3. und 4. Portion wurden auf 10prozentige Saccharoselösung gelegt.

13. XI. 2. Portion wurde in ein U-Rohr gebracht, durch welches alsdann die mit Toluoldampf gesättigte Luft geleitet wurde.

16. XI. 3. und 4. Portion wurden von der Zuckerlösung abgehoben. 3. Portion wurde getrocknet, 4. Portion wurde erfroren.

17. XI. 4. Portion wurde in ein U-Rohr gebracht, durch welches alsdann die mit Toluoldampf gesättigte Luft geleitet wurde. Der Versuch (2. und 4. Portion) dauerte vier Tage.

Die Hauptergebnisse der beschriebenen Versuche lassen sich folgendermassen zusammenfassen:

1. Das proteolytische Enzym wird durch Erfrierung der Pflanzen nicht zerstört; die von PALLADIN erfundene Erfrierungsmethode lässt sich also bei dem Studium des proteolytischen Enzyms anwenden.
2. Die Tätigkeit des proteolytischen Enzyms wird in einigen Fällen durch Saccharose abgeschwächt.

		Menge der Trocken- substanz	Menge des Stickstoffs	Menge des Stickstoffs in pCt. der Trocken- substanz	Mittel	In pCt. des Gesamt- stickstoffs	Differenz des Eiweiss- N in pCt. des Eiweiss-N der Kontrollportion
Mit Zucker nicht ernährt:							
Kontroll	Gesamt-N . . . {	0,2680	0,026 41	9,854	} 9,869		
		0,2080	0,020 56	9,884			
Kontroll	Eiweiss-N . . . {	0,2860	0,021 47	7,507	} 7,522	76,22	
		0,2890	0,021 78	7,536			
Versuch	Gesamt-N . . . {	0,2300	0,022 27	9,682	} 9,681		
		0,2805	0,027 15	9,679			
Versuch	Eiweiss-N . . . {	0,3415	0,024 40	7,148	} 7,160	73,96	- 3,0
		0,2935	0,021 05	7,172			
Mit Zucker ernährt:							
Kontroll	Gesamt-N . . . {	0,4000	0,020 92	5,230	} 5,237		
		0,3665	0,019 22	5,244			
Kontroll	Eiweiss-N . . . {	0,4930	0,020 98	4,255	} 4,259	81,32	
		0,5395	0,023 00	4,263			
Versuch	Gesamt-N . . . {	0,4960	0,027 69	5,582	} 5,581		
		0,5915	0,033 00	5,579			
Versuch	Eiweiss-N . . . {	0,5800	0,026 96	4,648	} 4,695	84,12	+ 3,4
		0,5520	0,026 17	4,741			

St. Petersburg, Pflanzenphysiologisches Institut der Universität.

69. L. Wittmack: Funde in alten chilenischen Gräbern.

Eingegangen am 25. Oktober 1907.

Herr Dr. WALTER LEHMANN, wissenschaftlicher Hilfsarbeiter im Königl. Museum für Völkerkunde in Berlin, übergab mir vor einiger Zeit einige Gegenstände zur Bestimmung, welche ein schwedischer Forscher, Herr ERIK BOMANN, Mitglied der „Mission scientifique du COMTE DE CREQUI-MONTFORT“ in alten Indianergräbern zu Calama im nördlichen Chile, 2266 m auf der Puna, nahe

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): Kovchoff J.

Artikel/Article: [Enzymatische Eiweisszersetzung in erfrorenen Pflanzen.
473-479](#)