

## 25. W. Zaleski: Über den Umsatz des Nucleoproteidphosphors in den Pflanzen.

(Eingegangen am 26. April 1909.)

Vorliegende Mitteilung stellt eine Fortsetzung der im Jahre 1902 von mir publizierten Arbeit dar<sup>1)</sup>, in welcher ich nachgewiesen habe, daß sich in den Stengelspitzen der etiolierten Keimpflanzen von *Vicia Faba* Windsor während der Kultur auf Wasser oder Zuckerlösung eine Abnahme des Eiweißphosphors beobachten läßt. Auf Grund dieser Versuche hat IWANOFF<sup>2)</sup> den Schluß gezogen, daß in den wachsenden Spitzen ein Abbau der Nucleoproteide stattfindet.

Ich habe später gezeigt<sup>3)</sup>, daß Stengelspitzen ein nucleinsäure-spaltendes Enzym enthalten, da man bei der Autolyse derselben die Verminderung der gebundenen Purinbasen und die Abnahme des Eiweißphosphors beobachten kann. Diese Tatsache kann aber nicht als Beweis für den Abbau der Nucleoproteide während des Wachstums der Spitzen dienen, da wir vorläufig die Bedingungen, unter welchen das oben genannte Enzym seine Wirkung entfaltet, nicht kennen.

Dies veranlaßte mich, die Untersuchung dieser Frage wieder aufzunehmen, soweit das mit den zurzeit zur Verfügung stehenden Methoden möglich ist.

Die Nucleoproteide bestehen aus einem Eiweißanteil und aus Nucleinsäure, welche durch ihre Spaltungsprodukte, hauptsächlich Phosphorsäure und Purinbasen, charakterisiert wird. Wir können zurzeit weder Nucleoproteide, noch Nucleinsäure direkt bestimmen und müssen uns vorläufig mit der Bestimmung der Menge des Purinbasenstickstoffs und des Phosphors derselben begnügen. Wenn wir also auf Grund solcher Bestimmungen über den Umsatz der Nucleinsäure oder der Nucleoproteide sprechen, so machen wir nur mehr oder weniger wahrscheinliche Voraussetzungen.

Die nächste Aufgabe der Biochemie der Nucleoproteide be-

1) W. ZALESKI, Diese Berichte, Bd. XX.

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

3) W. ZALESKI, Diese Berichte, Bd. XXV.

steht in dem Studium der Funktion der Bausteine des Moleküls derselben im Leben der Zellen. Von diesen Bausteinen stellen wir Phosphorsäure und Purinbasen in den Vordergrund, da wir zurzeit nur diese mit relativer Genauigkeit bestimmen können.

Es ist einstweilen der Zweck vorliegender Mitteilung, den Umsatz des Phosphors der Nucleinsäure oder der Nucleoproteide in den Spitzen der Keimpflanzen von *Vicia Faba* zu verfolgen.

Zuerst sei hier erwähnt, auf welche Weise wir den Phosphor der Nucleinsäure bestimmen können.

Die Pflanzen enthalten verschiedene phosphorhaltige Substanzen, welche teils frei, teils an Eiweißstoffe gebunden in den Zellen existieren. Über diese Verhältnisse wissen wir sehr wenig, da bei unseren Darstellungsmethoden neue Bedingungen, sowie Zerlegungen stattfinden können. Einige phosphorhaltige Substanzen (Phosphate, Phytin und Phosphatide) geben mit Eiweißstoffen Adsorptionsgemische oder lockere Verbindungen, welche durch verdünnte Mineralsäuren oder siedenden Alkohol in ihre Komponenten zerlegt werden. Andere phosphorhaltige Stoffe geben mit Eiweißstoffen fester gefügte Verbindungen, zu welchen außer den Nucleoproteiden eine Reihe von Eiweißstoffen gehören, die wir vorläufig gemeinsam als Phosphorproteine bezeichnen können, da die Frage über ihre Natur zurzeit noch ganz offen steht.

Zur Bestimmung des Phosphors der Nucleoproteide müssen wir also diese von anderen phosphorhaltigen Substanzen abtrennen. Zu diesem Zweck wenden einige Forscher die Methode der Verdauung der Eiweißstoffe mit Pepsinsalzsäure an, wodurch man einen unverdaulichen den Phosphor der Nucleinsäure enthaltenden Rest bekommt. Wenn bei diesem Verfahren einige Phosphorproteine, z. B. Nucleoalbumine, auch einen phosphorhaltigen Komplex abspalten, so geht dieser dann wieder in Lösung, wenn der Magensaft aktiv ist.

Die Verdauungsmethode ist aber nicht einwandfrei, da MILROY<sup>1)</sup> und UMBER<sup>2)</sup> behaupten, daß Magensaft auch Nucleoproteide lösen kann, obwohl es einem Zweifel unterliegt, ob diese Behauptung eine generelle Bedeutung hat.

Brauchbar ist zur Bestimmung des Nucleinsäurephosphors die Methode, welche vor kurzem PLIMMER<sup>3)</sup> vorgeschlagen hat.

1) MILROY, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXII.

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

3) PLIMMER, Journ. of the Chem. Soc. Bd. 93 und 94, cit. nach. Biochem. Centralbl., Bd. VIII, Nr. 3.

Der Verfasser digeriert die Substanz 24—48 Stunden lang bei 37° mit einer 1proz. Natronlauge und findet dabei, daß aller Phosphor der Phosphorproteine als Phosphorsäure abgespalten wird, während die Nucleinsäure keine Veränderung erleidet.

Um die Anwendbarkeit dieser Methoden zur Bestimmung des Nucleinsäurephosphors in unseren Objekten zu prüfen, wurde eine ziemlich bedeutende Menge der Spitzen getrocknet und pulverisiert. Um die Phosphate und das Phytin zu entfernen, wurde vorher die Substanz 2 Stunden lang in der Kälte mit 0,2 pCt. Salzsäure digeriert, auf das Filter gebracht, mit 1 proz. Lösung dieser Säure<sup>1)</sup> und dann zur Entfernung derselben gründlich mit Alkohol und Äther ausgewaschen und hierauf getrocknet.

In dem so erhaltenen Präparat bestimmte man Gesamteiweißphosphor, den Phosphor der unverdaulichen Eiweißstoffe, sowie den Eiweißphosphor nach PLIMMERS Methode, den wir als Nucleinsäure- oder Nucleoproteidphosphor bezeichnen werden.

Zur Bestimmung des Gesamteiweißphosphors wurde das Präparat längere Zeit mit Äther und Alkohol extrahiert<sup>2)</sup>, um die mit Eiweißstoffen locker verbundenen Phosphatide zu entfernen. Bei dem nachfolgenden Extrahieren mit Chloroform konnte man in dem Auszuge keinen Phosphor nachweisen, was auf die Vollständigkeit der Äther-Alkoholextraktion hindeutet. Dann wurde die Substanz zur Phosphorbestimmung benutzt.

Zur Bestimmung des Nucleinsäurephosphors wurde das Präparat mit 1 pCt. Natronlauge 24 Stunden lang bei 35° digeriert, dann mit Salzsäure neutralisiert und mit 1 pCt. Salzsäure enthaltendem Alkohol so lange versetzt, bis die Flüssigkeit 0,5—0,2 pCt. dieser Säure enthielt. Der Nucleinsäure enthaltende Niederschlag wurde auf das Filter gebracht, mit Salzsäure (0,2—0,5 pCt.) und dann zur Entfernung derselben mit Alkohol und Äther ausgewaschen und hierauf getrocknet. Dann wurde die Substanz noch mit Äther und Alkohol extrahiert, obwohl die Anwesenheit von Phosphatiden sehr zweifelhaft ist, da diese durch Natronlauge zersetzt werden. Die so erhaltene Substanz wurde dann zur Phosphorbestimmung benutzt.

Um unverdaulichen Eiweißphosphor zu bestimmen, wurde das Präparat der Pepsinwirkung unterworfen. Die Verdauungsflüssigkeit enthielt teils 0,2 pCt. Salzsäure, teils wurde die Menge derselben

1) Über diese Methode werde ich später berichten.

2) SCHULZE und STEIGER, Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. 13. SCHULZE und FRANKFURT, Landwirtsch. Versuchsstat., Bd. 43.

allmählich bis 0,5 pCt. gesteigert. Der Versuch dauerte 3 Tage bei 35—37°. Dann wurde die ungelöste Substanz mit Salzsäure (0,2 bis 0,5 pCt.) und hierauf mit Alkohol und Äther ausgewaschen und endlich getrocknet. Auch in diesem Falle wurde der unverdaute Rest mit Äther und Alkohol zur Phosphatidentifizierung extrahiert und dann zur Phosphorbestimmung benutzt.

Der Phosphor aller zu untersuchenden Verbindungen wurde nach NEUMANNs<sup>1)</sup> Verfahren bestimmt und als  $P_2O_5$  in Prozenten des Frischgewichtes der Objekte berechnet:

Gesamteiweiß - $P_2O_5$ . . . . .	0,1675 pCt.
$P_2O_5$ der unverdaulichen Eiweißstoffe	
Verdauungsflüssigkeit mit 0,2 pCt. Salzsäure . . . . .	0,0621 „
$P_2O_5$ der unverdaulichen Eiweißstoffe	
Verdauungsflüssigkeit mit 0,5 pCt. Salzsäure . . . . .	0,0529 „
Nucleoproteid - $P_2O_5$ . . . . .	0,0957 „
Von der Gesamteiweiß - $P_2O_5$ fallen auf:	
$P_2O_5$ der unverdaulichen Eiweißstoffe	
Verdauungsflüssigkeit mit 0,2 pCt. Salzsäure . . . . .	37 pCt.
$P_2O_5$ der unverdaulichen Eiweißstoffe	
Verdauungsflüssigkeit mit 0,5 pCt. Salzsäure . . . . .	31 „
Nucleoproteid - $P_2O_5$ . . . . .	57 „

Etwas mehr als die Hälfte des Eiweißphosphors fällt auf die Nucleoproteide. Die Spitzen enthalten eine große Menge von Phosphorproteinen, deren chemische Natur ganz unbekannt ist. Es ist nicht ausgeschlossen, daß wir in diesem Falle auch festgefügte Verbindungen der Eiweißstoffe mit Phosphatiden vor uns haben, welche nicht durch siedenden Alkohol, sondern durch Natronlauge zerlegt werden. Wenn nun solche Verbindungen tatsächlich existieren, so müssen wir sie zu den Phosphorproteinen zuzählen.

Die Menge des unverdaulichen Phosphors ist geringer, als die der Nucleoproteide, da die Verdauungsflüssigkeit diese löst oder die Salzsäure derselben einen Teil des Phosphors der Nucleinsäure abspaltet. Zu Gunsten der letzten Annahme spricht die Abhängigkeit zwischen der Konzentration der Salzsäure und der Menge des unverdaulichen Phosphors, sowie die Tatsache, daß dieser Zusammenhang derselbe bleibt, wenn man das Präparat mit Salzsäure allein drei Tage lang bei 35—37° digeriert. Wir werden unten sehen, daß diese Annahme wahrscheinlich ist. Die PLIMMERSche Methode

1) NEUMANN, Zeitschr. f. physiolog. Chemie, Bd. 37.

der Nucleinsäure-Phosphorbestimmung, welcher wir uns bedient haben, bedarf der weiteren Bearbeitung, da sie nicht für jedes Objekt anwendbar ist, weil man in einigen Fällen wegen ihrer Klebrigkeit schwer filtrierbare und auswaschbare Niederschläge bekommt. Diese Methode stellt aber zurzeit das beste Mittel dar, um Nucleoproteidphosphor in unseren Objekten zu bestimmen, was wir noch unten sehen werden.

Wenden wir uns zu den Versuchen mit Spitzen der etiolierten Keimpflanzen von *Vicia Faba* Windsor.

Für jeden Versuch wurde ein Quantum gleichartiger Spitzen ausgelesen, die dann in zwei Portionen von gleicher Spitzenanzahl und gleichem Frischgewicht eingeteilt wurden.

Die Spitzen wurden auf einer Nährlösung, welche 5 und 10 pCt. Rohrzucker enthielt, 4 und 8 Tage lang im Dunkeln und am Lichte kultiviert. Die Lösungen wurden vorher sterilisiert und während des Versuches zweimal täglich gewechselt. Bei jeder Erneuerung der Lösung wurden die Spitzen mehrmals mit sterilisiertem Wasser ausgewaschen. Die Spitzen schwammen auf diesen Lösungen, welche sich in geräumigen Kristallisierschalen befanden, die während des Versuches mit dünnen Glasscheiben bedeckt waren. In anderen Versuchen wurden die Spitzen drei Tage lang im Dunkeln auf destilliertem Wasser kultiviert.

Nach beendigtem Versuche wurden die Spitzen aus der Lösung herausgenommen, gut mit Wasser ausgewaschen und mit Fließpapier abgetrocknet. Dann wurden die Spitzen bei 70° getrocknet und zur Bestimmung des Phosphors, der Nucleoproteide und unverdaulichen Eiweißstoffe in der oben beschriebenen Weise benutzt. Die erhaltenen Analysenzahlen wurden in Prozenten des anfänglichen Frischgewichtes der Objekte berechnet.

### I. Versuch.

Die Spitzen der 29tägigen Keimpflanzen wurden auf destilliertem Wasser 3 Tage im Dunkeln kultiviert.

	Kontrollport.	Versuchsport.
Nucleoproteid- (bzw. Nucleinsäure) - P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	0,1020 pCt.	0,1018 pCt.
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> der unverdaulichen Eiweißstoffe		
Verdauungsflüssigkeit m. 0,2 pCt. Salzsäure	0,0659 „	0,0799 „
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> der unverdaulichen Eiweißstoffe		
Verdauungsflüssigkeit m. 0,5 pCt. Salzsäure	0,0558 „	0,0598 „

### II. Versuch.

Die Spitzen der 29tägigen Keimpflanzen wurden auf stickstofffreier Nährlösung mit 10 pCt. Rohrzucker 8 Tage lang im Dunkeln kultiviert.

	Kontrollport.	Versuchsport.
Nucleoproteid - P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . . . .	0,0957 pCt.	0,1021 pCt.
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> der unverdaulichen Eiweißstoffe		
Verdauungsflüssigkeit m. 0,2 pCt. Salzsäure	0,0621 „	0,1032 „
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> der unverdaulichen Eiweißstoffe		
Verdauungsflüssigkeit m. 0,5 pCt. Salzsäure	0,0529 „	0,0762 „

### III. Versuch.

Die Spitzen der 25tägigen Keimpflanzen wurden auf vollständiger Nährlösung mit 5 pCt. Rohrzucker 4 Tage lang am Lichte kultiviert.

	Kontrollport.	Versuchsport.
Nucleoproteid (Nucleinsäure) - P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . . . .	0,1075 pCt.	0,1095 pCt.
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> der unverdaulichen Eiweißstoffe		
Verdauungsflüssigkeit m. 0,2 pCt. Salzsäure	0,0670 „	0,1104 „
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> der unverdaulichen Eiweißstoffe		
Verdauungsflüssigkeit m. 0,5 pCt. Salzsäure	0,0521 „	0,0820 „

Unsere Versuche zeigen, daß während der Kultur der Stengelspitzen auf Wasser oder Zuckerlösung keine Veränderung der Menge des Nucleinsäurephosphors derselben stattfindet. Dem gegenüber zeigen unsere Versuche, daß Stengelspitzen bei Zuckerzufuhr und in Wasserkultur allein die Menge ihres unverdaulichen Phosphors vermehren.

Die Menge des unverdaulichen Phosphors stellt aber keine bestimmte Größe dar, da sie von der Konzentration der Salzsäure in der Verdauungsflüssigkeit abhängt. Wenn wir z. B. die Menge der Salzsäure in der Verdauungsflüssigkeit, mit welcher wir die Substanz digerieren, von 0,2 auf 0,5 pCt. steigern, so finden wir im letzten Falle eine geringere Phosphormenge in dem unverdaut gebliebenen Reste. Dieses Ergebnis haben wir oben dadurch erklärt, daß Pepsinsalzsäure die Abspaltung des Nucleoproteidphosphors herbeiführt, weshalb sie zur Bestimmung desselben nicht dienen kann.

Wir bemerken weiter eine volle Übereinstimmung der Menge des in der Verdauungsflüssigkeit mit 0,2 pCt. Salzsäure unlöslichen

Phosphors mit derjenigen der nach PLIMMER bestimmten Nucleoproteide, welche in den Versuchsportionen der mit Zucker ernährten Spitzen auftritt. In diesem Falle (Versuch II und III) stehen also diese zwei Methoden im Einklang, was keine zufällige Erscheinung darstellt und daher aussagt, daß die von uns angewandte PLIMMERsche Methode der Nucleoproteidphosphorsbestimmung richtige Zahlen gibt.

Es fragt sich aber weiter, warum wir keine solche Übereinstimmung zwischen der Menge des unverdaulichen Phosphors und dem der Nucleoproteide in den Kontrollportionen finden, in welchen die Quantität desselben an Nucleoproteiden größer, als in den unverdaulichen Eiweißstoffen ist? Mit anderen Worten, warum löst die Verdauungsflüssigkeit einen Teil der Nucleoproteide der Kontrollportionen, während sie diese in den Versuchsobjekten unverändert läßt. Am wahrscheinlichsten ist, daß während des Wachstums der Spitzen qualitative Veränderungen in der Zusammensetzung der Nucleoproteide vor sich gehen, durch welche der Phosphor derselben fester gefügt wird.

Noch mehr zugunsten dieser Annahme spricht ein folgender Versuch, in welchem die Substanz nicht der Pepsin- sondern der Trypsinwirkung unterworfen wurde. Zu diesem Zweck wurde die in der oben beschriebenen Weise vorbereitete Substanz mit alkalischer (0,2 pCt. Soda) Trypsinlösung<sup>1)</sup> drei Tage lang bei 35° bis 37° digeriert. Nach Verlauf dieser Zeit fügte man Salzsäure enthaltenden Alkohol, um die Nucleinsäure auszufällen, hinzu. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit 0,2—0,5 pCt. Salzsäure, dann mit Alkohol und Äther gut ausgewaschen und hierauf getrocknet. Dann wurde die Substanz mit Äther und Alkohol extrahiert und zur Phosphorbestimmung benutzt.

#### IV. Versuch.

Die Spitzen der 26 tägigen Keimpflanzen wurden auf stickstofffreier Nährlösung mit 10 pCt. Rohrzucker 8 Tage lang bei schwachem Lichte kultiviert

	Kontrollportion	Versuchsportion
Nucleinsäure-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> . . . . .	1,1030 pCt.	1,1060 pCt.
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> der Nucleinsäure nach Trypsinverdauungsmethode	0,0846 „	0,0988 „

1) Trypsin von MERCK.

Wir bemerken eine volle Übereinstimmung zwischen den Zahlen des nach der Trypsin- oder nach PLIMMERS Methode bestimmten Nucleoproteidphosphors, welche nur in den Versuchsportionen auftritt, während in den Kontrollobjekten die Verdauungsmethode mit Trypsin etwas geringere Zahlen gibt.

Wir bekommen also dasselbe Resultat, das wir bei der Anwendung von Pepsinsalzsäure erhalten haben, nur mit dem Unterschiede, daß die Trypsinmethode etwas höhere Zahlen für die Kontrollobjekte gibt und daher weniger von derjenigen PLIMMERS abweicht.

Mit drei verschiedenen Methoden der Nucleinsäurephosphorbestimmung erhalten wir für die Substanz der Versuchsportionen gleiche Zahlen, während diese für die Kontrollobjekte untereinander differieren. Das erklärt sich durch eine Abspaltung des Nucleinsäurephosphors durch die Wirkung der Trypsin- und der Pepsinsalzsäurelösungen. Da aber diese Abspaltung nur in den Kontrollobjekten hervortritt, so kann man daraus schließen, daß diese andere Nucleinsäuren enthalten, deren Phosphor leichter abgespalten wird. Es existieren Nucleinsäuren mit verschiedener Festigkeit der Bindung der Phosphorsäure. So hat MILROY<sup>1)</sup> nachgewiesen, daß bei der Trypsinverdauung der Thymusnucleinsäure nicht mehr als 8,7 pCt. Phosphorsäure, während bei derjenigen der Kernsubstanz des Entenblutes 47 pCt. dieser Säure abgespalten wird.

Mir erscheinen diese Deutungen als die wahrscheinlichsten, aber ich betrachte diese als vorläufigen Versuch in der Frage des Umsatzes der Nucleinsäure (oder Nucleoproteide). Wir können vorläufig nur behaupten, daß sich während des Wachstums der Spitzen keine Abnahme des Nucleoproteidphosphors beobachten läßt. Die Meinung IWANOFFS<sup>2)</sup>, daß während des Wachstums der Spitzen ein Abbau des Nucleoproteide unter Phosphorabspaltung stattfindet, ist also unbegründet.

Ich will an dieser Stelle noch hinzufügen, daß die Eiweißstoffe der Stengelspitzen von *Ficia Faba* reich an Diaminosäuren sind. Ich habe die Eiweißstoffe der Spitzen mit starker Schwefelsäure zersetzt<sup>3)</sup> und dabei folgende Stickstoffverteilung im Eiweißmolekül gefunden:

1) MILROY l. c.

2) IWANOFF l. c.

3) HAUSMANN, Zeitsch. f. physiol. Chem. Bd. 27. Rothern Hofm.-Beitz Bd. V. Gümbel ibid.

Amid-N . . . . .	13,7 pCt.
Monoamino-N . . . . .	40,5 „
Diamino-N . . . . .	45,7 „

Wir sehen, daß die Eiweißstoffe unserer Objekte reich an Diaminosäuren und arm an Monoaminosäuren sind. Es ist sehr wahrscheinlich, daß während des Wachstums der Spitzen eine Ausziehung der Eiweißstoffe derselben an Monoaminosäuren stattfindet. Ich möchte die Untersuchung dieser Frage mir vorbehalten.

Charkow, Pflanzenphysiologisches Kabinett.

## 26. Bruno Schröder: Phytoplankton von Westindien.

(Mit einer Abbildung im Texte.)

(Eingegangen am 29. April 1909.)

Herr Professor Dr. W. KÜKENTHAL in Breslau übergab mir 15 Gläser mit Plankton, von ihm und Herrn Dr. HARTMEYER in der ersten Hälfte des Jahres 1907 in westindischen Gewässern nahe der Küste gesammelt: Probe 1—4, St. Thomas (Anfang Januar); Probe 5, Kingston auf Jamaica und Probe 6—15, Loggerhead, Tortuga Islands (29. V., 4. VI. u. 20. VI.). Die Ausbeute an Phytoplankton war relativ gering; die Probe von Kingston planktonfrei. Noch am reichhaltigsten erwiesen sich die Fänge von St. Thomas mit mehr als 70 Formen meist tropischer Schwebepflanzen, während die von den Tortuga Islands ein weitaus stärkeres Überwiegen des Zooplanktons schon makroskopisch zu erkennen gaben. Konservierungsflüssigkeit Formol.

Die Formen aus den Proben von St. Thomas stehen unter I, und die von den Tortuga Islands sind, da qualitativ nur wenig unterschieden, unter II zusammengefaßt. (cc = sehr häufig, c = häufig, + vereinzelt, r = selten, rr = sehr selten.)

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1909

Band/Volume: [27](#)

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

Artikel/Article: [Über den Umsatz des Nucleoproteidphosphors in den Pflanzen.  
202-210](#)