

Zur Kenntnis der Stoffwechselprozesse in reifenden Samen.

Erste Mitteilung: Über den Umsatz der Stickstoffverbindungen.

Von

W. Zaleski.

Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium der Universität Charkow.

Im Organismus setzt sich der Stoffwechsel aus zwei entgegengesetzten Prozessen, dem Aufbau und Abbau, zusammen. Obgleich diese Prozesse gleichzeitig vor sich gehen, so werden doch verschiedene Perioden des Lebens des Organismus und seiner Organe durch das Vorherrschen des einen oder des anderen dieser Prozesse charakterisiert. Diese Verschiedenheit im Charakter der chemischen Prozesse tritt scharf in dem Samen während der Keimung und Reifung hervor. Während der Keimung der Samen dominieren hydrolytische Prozesse, durch die komplizierte Verbindungen in einfachere und leichter lösliche übergehen. Beim Reifen der Samen hingegen beobachten wir das Vorherrschen der Kondensationsprozesse, durch die sich die Verbindungen mit einem größeren Molekulargewicht bilden, wobei diese Stoffe sich meistens in unlöslicher Form ablagern.

Die Untersuchung der chemischen Umwandlungen in den reifenden Samen gibt uns die Möglichkeit, die Aufbauprozesse einiger Stoffe in den Pflanzen näher zu studieren; leider haben wir, was diese Frage anbelangt, bis jetzt nur ein unvollständiges Material.

Es ist der Zweck vorliegender Arbeit, nur jene Resultate mitzuteilen, die ich beim Studium der Stickstoffumwandlung in reifenden Samen erhalten habe, da die schon begonnenen Untersuchungen über den Umsatz anderer Stoffe (Phosphorverbindungen, Kohlenhydrate und Fette) noch nicht zum Abschluß gekommen sind.

Hornberger¹⁾ und Emmerling²⁾ waren die ersten, die gezeigt haben, daß beim Reifen der Samen Hand in Hand mit der

¹⁾ Hornberger, Landw. Jahrb. Bd. 21; Landw. Versuchsstat. Bd. 31.

²⁾ Emmerling, Landw. Versuchsstat. Bd. 24. 34. 54.

fortschreitenden Zunahme von Eiweißstoffen eine stetige Abnahme von anderen nicht eiweißartigen Stickstoffverbindungen vor sich geht. Diese Stickstoffverbindungen werden nach Emmerling in reife Samen aus anderen Organen der Pflanze transportiert und dort zur Eiweißbildung verbraucht. So zeigte Emmerling, daß beim Reifen der Samen von *Vicia Faba* die Menge der Amidosäuren und Amide sich parallel der Vermehrung der Eiweißstoffe vermindert. Außerdem beobachtete der Verfasser die Abnahme organischer Basen in den frühesten Stadien der Reifung. Hier ist jedoch zu bemerken, daß Emmerling unter organischen Basen überhaupt alle nichteiweißartigen Stickstoffverbindungen, Amidosäuren ausgenommen, versteht; infolgedessen kann man auf Grund seiner Analyse keine richtige Vorstellung über den wirklichen Umsatz dieser Verbindungen während der Reifung der Samen bekommen. So hat demnach Emmerling zuerst festgestellt, daß während der Reifung der Samen die Beziehungen zwischen den Eiweißstoffen und den anderen Stickstoffverbindungen sich so verändern, daß die Menge der ersteren zunimmt, die der anderen sich vermindert.

Die Untersuchungen von Emmerling wurden durch die Arbeiten anderer Forscher bestätigt und erweitert. So zeigte Nedokutschajew¹⁾, daß beim Reifen der Getreidesamen parallel mit der Zunahme von Eiweißstoffen eine Abnahme von anderen nichteiweißartigen Stickstoffverbindungen, wie Amidosäuren, Amidn und organischen Basen vor sich geht. Nach der Meinung des Verfassers gilt das Asparagin als Zwischensubstanz, da seine Quantität beim Reifen der Samen unverändert bleibt. Der Verfasser schließt jedoch die Möglichkeit der Teilnahme des Asparagins an dem Aufbau der Eiweißstoffe im reifenden Samen nicht aus. Außerdem fand Nedokutschajew in den unreifen Getreidesamen Albumosen, deren Quantität beim Reifen sich ebenfalls verringerte. Der Verfasser meint, daß die Albumosen eine Zwischensubstanz bei der Eiweißbildung aus Stickstoffverbindungen darstellen, die in Samen aus den anderen Teilen der Pflanze übergehen. Weiter weist der Verfasser auch darauf hin, daß reife Samen eine bedeutende Menge der nichteiweißartigen Stickstoffverbindungen enthalten, z. B. ungefähr 30%²⁾ im Roggen und 9—13% beim Hafer.

Weiter beobachtete Wassilieff³⁾ beim Reifen verschiedener Samen die Abnahme der nichteiweißartigen Stickstoffverbindungen (Asparagins, Amidosäuren und organischer Basen) gleich der entsprechenden Vermehrung der Menge der Eiweißstoffe. Am meisten verbrauchten sich zur Eiweißbildung Amidosäuren und Asparagin, die Abnahme der Basen war im Gegenteil weniger bedeutend. So enthielten z. B. die unreifen Samen von *Lupinus angustifolius* bis zu 30% des nichteiweißartigen Stickstoffs, während die Menge des letzteren im reifen Samen nur 7% beträgt. Weiter fiel im

¹⁾ Nedokutschajew, Landw. Versuchsstat. Bd. 56 und 58.

²⁾ Vom Gesamtstickstoff.

³⁾ Wassilieff, Journal f. experiment. Landw. (russisch). Bd. V. 1904.

unreifen Samen derselben Pflanze 14% des Stickstoffs auf Anteil der Amidosäuren und 9,8% auf den des Asparagins. Außerdem enthielten die unreifen Samen 6,7% Stickstoff in Form der organischen Basen. Im Gegenteil enthielten die reifen Samen von *Lupinus* kein Asparagin, sondern nur organische Basen und zwar in der Menge von 5%. Die unreifen Samen von *Robinia Pseudacacia* enthielten 25% des nichteiweißartigen Stickstoffs, dessen Hauptanteil und zwar 20% des Gesamtstickstoffs auf Aminosäuren fiel. Wassilieff hat auch qualitative Untersuchungen der nicht-eiweißartigen Stickstoffverbindungen ausgeführt, die sich in dem unreifen Samen befinden. Dem Verfasser ist es gelungen, in den unreifen Lupinus- und Robiniasamen Asparagin, Histidin, Arginin und aller Wahrscheinlichkeit nach Phenylalanin und Amidovaleriansäure zu finden. Weiter hat der Verfasser in den Samen von *Lupinus albus* Phenylalanin, allem Anschein nach Aminovaleriansäure, sowie auch Histidin, Arginin und Asparagin nachgewiesen.

Schon früher fanden Bourquelot und Menozzi¹⁾ in grünen Bohnen Tyrosin und Leucin. Hierauf fand Schulze²⁾ in den reifen Samen von *Lupinus luteus* Arginin und in den Samen von *Arachis* Tyrosin, Arginin und Vernin. Schulze und Winterstein³⁾ fanden in den unreifen Samen der Zuckererbse Asparagin und Arginin und aus milchreifen Samen von Weizen konnten sie Leucin und eine kleine Menge organischer Basen ausscheiden. Später fand Pfénninger⁴⁾ im unreifen Bohnensamen Tyrosin, Arginin und Verbindungen, die beim Kochen mit verdünnter Salzsäure Ammoniak abspalten. Vor kurzem haben Schulze und Winterstein⁵⁾ aus den unreifen Samen von *Pisum sativum* Asparagin, Glutamin, Tyrosin, Arginin, Histidin, Alloxurbasen und Vernin isoliert; aus milchreifen Weizensamen dagegen konnten sie nur Monsaminosäuren ausscheiden.

Durch die Arbeiten der oben erwähnten Forscher wurde festgestellt, daß während der Reifung der Samen die Vermehrung der Eiweißstoffe und parallel eine Abnahme von anderen Stickstoffverbindungen, wie Amidosäuren, Amidn und Basen stattfindet. Die wahrscheinlichste Erklärung dieser Tatsache war die Voraussetzung, daß aus diesen Verbindungen sich in reifendem Samen Eiweißstoffe bilden. Zu Gunsten dieser Vermutung sprechen auch qualitative Untersuchungen, welche zeigen, daß unreife Samen dieselben Verbindungen enthalten, die als Eiweißspaltungsprodukte in keimenden Samen auftreten. Allein feste Beweise zu Gunsten dieser Vermutung sind bis jetzt noch nicht aufgefunden worden. Mit Recht sagt Czapek⁶⁾: „Die spärlichen Untersuchungen, welche bezüglich der Eiweißbildung in reifenden Samen vorliegen, haben eigentlich nur die eine Tatsache zutage gefördert, daß Amino-

¹⁾ Bourquelot und Menozzi, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. Bd. 21. 1888.

²⁾ Schulze, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 51. 1904.

³⁾ Schulze und Winterstein, Landw. Jahrb. Bd. 35. 1906.

⁴⁾ Pfénninger, Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. 27. 1909.

⁵⁾ Schulze und Winterstein, Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. 65. 1910.

⁶⁾ Czapek, Biochemie der Pflanzen. Bd. II. p. 187.

säuren im unreifen Samen in größeren Mengen vorkommen und im reifen Samen bis auf geringe Spuren verschwunden sind.“

Streng gesagt, ist die Verminderung der nichteiweißartigen Stickstoffverbindungen, die sich in den reifenden Samen befinden, und die Bildung der Eiweißstoffe auf deren Kosten noch nicht erwiesen worden, da die Forscher die absolute Menge der betreffenden Verbindungen nicht bestimmten, sondern nur ihre relative Veränderung in Prozenten der Trockensubstanz oder des Gesamtstickstoffs, welche einer gleichzeitigen quantitativen Veränderung unterworfen sind. Auf diese Weise wurde nur die Veränderung der quantitativen Verhältnisse zwischen den Eiweißstoffen und den anderen Stickstoffverbindungen bestimmt.

In der Tat hat vor kurzem Pfenninger¹⁾ gezeigt, daß sich während des Reifens der Samen von *Phaseolus vulgaris* nicht nur Eiweißstickstoff, sondern auch Nichteiweißstickstoff vermehrt. So z. B.

100 Samen	Gesamt-N	Eiweiß-N	Nichteiweiß-N
Erstes Stadium	0,0284	0,0204	0,0080
Zweites „	0,3325	0,2858	0,0467
Drittes „	1,903	1,804	0,0989

Denselben Schluß konnte man früher auch aus den Berechnungen von Nedokutschajew ziehen.

Aus der Arbeit Pfenningers ist zu ersehen, daß wir kein Recht zu der Behauptung haben, daß die Eiweißstoffe sich auf Kosten derjenigen nichteiweißartigen Stickstoffverbindungen bilden, welche wir im unreifen Samen finden, da ihre absolute Menge sich während der Reifung nicht vermindert, sondern sogar zunimmt. Es kann sein, daß diese Verbindungen nichts weiter, als Eiweißspaltungsprodukte der unreifen Samen darstellen oder in die Samen einwandern und dort in beiden Fällen keinen Verbrauch zur Eiweißbildung finden.

Die Frage über die Bildungsquelle der Eiweißstoffe in reifendem Samen kann nicht durch die quantitativen Untersuchungen der Samen, die im Zusammenhange mit der Pflanze stehen, gelöst werden, da während des Reifens der Prozeß der Wanderung von Stickstoffverbindungen, deren Natur wir nicht kennen, stattfindet. Auf diese Weise kann auch die Frage über den Verlauf der Eiweißsynthese und die Bedingungen derselben nicht gelöst werden.

Zur Lösung dieser Fragen ist es notwendig, die Einwanderung der Stickstoffverbindungen in reifende Samen zu beseitigen und die Umwandlung derjenigen Stoffe zu untersuchen, welche im gegebenen Moment da sind, das heißt, es muß mit den Samen gearbeitet werden, die von der Pflanze abgetrennt worden sind.

Der erste Versuch in dieser Richtung ist von Johannsen²⁾ gemacht worden. Wenn der Verfasser die Eiweißstoffe nicht direkt bestimmt hat, so gelang es ihm doch nachzuweisen, daß zur Zeit der Nachreifung der Samen in denselben eine Abnahme der Stick-

¹⁾ Pfenninger, l. c.

²⁾ Johannsen, cit. nach Just. Bot. Jahresber. Bd. I. 1897.

stoffverbindungen stattfindet, die keinen Niederschlag mit Bleiessig bilden und denen er allgemeine Bezeichnung „Amide“ zukommen läßt.

Zur genaueren Erklärung dieser Frage ist von mir¹⁾ schon im Jahre 1905 der Versuch gemacht worden, die Umwandlung der Stickstoffverbindungen in dem von der Pflanze abgetrennten Samen zu studieren.

Zu diesen Versuchen bediente ich mich der Erbsensamen, weil dieselben ein recht gleichartiges Material liefern. 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 Eiweißsynthese zu befördern oder zu beschleunigen. Darauf wurde eine Portion der Objekte (Kontrollportion) bei 70% getrocknet, die andere aber mit einer Glasglocke bedeckt und ins Dunkle auf 2—5 Tage 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 apriori als sehr wahrscheinlich erschien, daß der Wasserentzug die Prozesse der Kondensation fördern würde. Nach beendeten Versuche wurde auch diese Portion getrocknet.

Das getrocknete Versuchsmaterial wurde in eine feine Form gebracht und zur Analyse benutzt. Die quantitative Bestimmung des Proteinstickstoffs geschah nach Stutzers Verfahren. Die organischen Basen und Ammoniak wurden mit Phosphorwolframsäure in üblicher Weise gefällt. Der Stickstoff dieser Verbindungen wurde nach Kjeldahl bestimmt. Darauf bestimmte man den Stickstoff der Amide nach Sachsens Methode. 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 Stutzers ausgefällt und dann diese Fällungen ebenfalls zur Stickstoffbestimmung benutzt. Der Stickstoff aller Verbindungen ist in Prozenten des Gesamtstickstoffs berechnet.

Später wurden diese Versuche auch mit ganzen Samen ausgeführt.

1. 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	80,2
„ „ Uranacetat-Niederschlag	78,7	88,9
„ „ Kupferoxydhydrat-Niederschlag	79,1	89,0
„ „ Tannin-Niederschlag	79,2	89,2
N in Amidem	8,7	4,6
N in Phosphorwolframsäure-Niederschlag	10,8	5,6
N in anderen Verbindungen (Differenz)	1,4	0,8

¹⁾ Zaleski, W., Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. 23. 1905.

2. Versuch.

Die Versuchsportion der halbierten Samen wurde in den dampfgesättigten Raum auf drei Tage eingeführt.

Vom Gesamtstickstoff fallen auf:

	Kontrollportion:	Versuchsportion:
	%	%
Eiweiß-N im Zinnchlorür-Niederschlag	69,0	80,3
„ „ Uranacetat-Niederschlag	78,6	88,8
„ „ Kupferoxydhydrat-Niederschlag	79,1	89,1
„ „ Tannin-Niederschlag	79,3	89,4
N der Amide	9,0	5,1
N in Phosphorwolframsäure-Niederschlag	10,2	4,8
N in anderen Verbindungen (Differenz)	1,7	1,0

3. Versuch.

Die Versuchsportion der halbierten Samen wurde in den trockenen Raum auf drei Tage eingeführt.

Vom Gesamtstickstoff fallen auf:

	Kontrollportion:	Versuchsportion:
	%	%
Eiweiß-N	79,0	90,7
Amid-N	8,7	4,9

4. Versuch.

Die Versuchsportion der halbierten Samen wurde in den trockenen Raum auf drei Tage eingeführt.

Vom Gesamtstickstoff fallen auf:

	Kontrollportion:	Versuchsportion:
	%	%
Eiweiß-N	79,1	90,9
N der Amide	7,2	3,4

5. Versuch.

Die Versuchsportion der ganzen Samen wurde in den trockenen Raum auf fünf Tage eingeführt.

Vom Gesamtstickstoff fallen auf:

	Kontrollportion:	Versuchsportion:
	%	%
Eiweiß-N	75,5	86,9

6. Versuch.

Die Versuchsportion der ganzen Samen wurde in den trockenen Raum auf fünf Tage eingeführt.

Vom Gesamtstickstoff fallen auf:

	Kontrollportion:	Versuchsportion:
	%	%
Eiweiß-N	79,0	89,2
N der Amide	9,1	5,0
N in Phosphorwolframsäure-Niederschlag	10,1	4,8
N in anderen Verbindungen (Differenz)	1,8	1,0

Unsere Versuche zeigen, daß die von der Pflanze abgetrennten Samen Eiweißstoffe auf Kosten der anderen Stickstoffverbindungen, wie Amidosäuren, Amide und Basen bilden, deren Quantität bei entsprechender Vermehrung der Eiweißstoffe abnimmt. Es ergibt sich weiter, daß die Eiweißfällungen mit Uranacetat, Kupferoxydhydrat und Tannin identische Resultate aufweisen. Die Eiweißbildung findet wie im trockenen, so auch im dampfgesättigten Raume statt und dabei in ganzen, wie in halbierten Samen.

Drei Jahre nach meiner Mitteilung erschien die Arbeit von Wassilieff¹⁾, in welcher er die von mir erhaltenen Resultate bestätigte. Der Verfasser hat einen Versuch mit dem unreifen Samen von *Lupinus albus* im trockenen und dampfgesättigten Raume angestellt. So z. B.:

	Kontrollportion:	In trockenem Raume	In dampfgesätt. Raume
	%	%	%
Eiweiß-N	69,88	84,09	83,46
N in Phosphorwolframsäure-Niederschlag	11,09	9,47	7,24
N in Asparagin	12,34	3,41	2,79
N in anderen Amidverbindungen	6,69	3,62	6,51

Aus den Versuchen von Wassilieff ist zu ersehen, daß beim Nachreifen der Samen der Aufbau der Eiweißstoffe auf Kosten der anderen Stickstoffverbindungen, wie Asparagin, organische Basen und Aminosäuren stattfindet. Die Menge der Aminosäuren blieb unverändert in den Samen, welche sich in der feuchten Atmosphäre befanden, und verminderte sich in denjenigen, die im trockenen Raume waren. Der Verfasser schließt daraus, daß die Samen Eiweißstoffe aus Amidverbindungen und hauptsächlich aus Asparagin bilden. Zu diesen Schlußfolgerungen des Verfassers werden wir noch später zurückkehren. Weiter hat Wassilieff gezeigt, daß der Aufbau der Eiweißstoffe nur in den Samen stattfindet, da in den Hülsen nur der Abbau derselben Stoffe und die Vermehrung der Amidosäuren vor sich geht. Der Verfasser zeigte auch, daß die Samenhülsen Stickstoffverbindungen an die reifenden Samen abgeben und demnach als Reservestoffbehälter dienen.

Bei weiterem Studium der Frage über die Umwandlung der Stickstoffverbindungen in reifenden Samen blieb ich bei der Untersuchung der Bedingungen, welche die Bildung der Eiweißstoffe fördern, stehen und lenkte meine besondere Aufmerksamkeit auf den Einfluß des Lichtes, der Feuchtigkeit, des Sauerstoffs und der Temperatur auf diesen Prozeß.

7. Versuch.

Reifende Erbsensamen im feuchten Raume am Licht und im Dunkeln fünf Tage lang.

	Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N
Kontrollportion	69,4
Versuchsportion am Licht	80,0
Versuchsportion im Dunkeln	79,9

¹⁾ Wassilieff, Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 26. 1908.

8. Versuch.

Reifende Samen wurden in den trockenen und feuchten Raum auf fünf Tage eingeführt.

	Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N
Kontrollportion	69,3
Versuchsportion in trockenem Raume	80,2
Versuchsportion in dampfgesättigtem Raume	80,1

Aus diesen Versuchen ist zu ersehen, daß weder Licht noch Feuchtigkeit der umgebenden Luft irgend welche Rolle beim Aufbau der Eiweißstoffe spielen. Richtiger wäre es jedoch, zu sagen, daß diese Faktoren die Größe der Eiweißsynthese nicht verändern, aber sie sind von Wichtigkeit bei der kurz dauernden Wirkung. So beschleunigt die Trockenheit diesen Prozeß, welcher dabei so schnell verläuft, daß es gar nicht notwendig ist, die Samen 3—5 Tage zu halten, wie ich und später Wassilieff es taten. So zum Beispiel:

9. Versuch.

Reifende Erbsensamen wurden in den trockenen und feuchten Raum auf zwei und fünf Tage eingeführt.

	Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N	
Versuchsdauer in Tagen	2	5
Kontrollportion	69,4	—
Versuchsportion in trockenem Raume	79,0	79,8
Versuchsportion in dampfgesättigtem Raume	72,0	79,4

Auch können aller Wahrscheinlichkeit nach Licht und Temperatur diesen Prozeß beschleunigen, indem sie das Trocknen der Samen befördern. Es ist sehr wahrscheinlich, daß Halbieren der Samen diesen Prozeß nicht nur deshalb befördert, weil sie die Atmungsenergie verstärkt, sondern auch dadurch, daß sie das schnellere Trocknen verursacht. So kann man z. B. bei den halbierten Samen, die in den trockenen Raum eingeführt oder direkt der Luft ausgesetzt sind, einen vollständigen Aufbau der Eiweißstoffe in 24 Stunden hervorrufen.

Es ist klar, daß die nicht eiweißartigen Stickstoffverbindungen rasch zur Eiweißsynthese verwendet werden. Es ist daher verständlich, daß die den Samen während des Reifens derselben zufließenden Stickstoffverbindungen so rasch zur Eiweißbildung verwendet werden, daß es zu einer ziemlichen Anhäufung derselben gar nicht kommt.

Es ist a priori wahrscheinlich, daß der Eiweißaufbau, welcher einen typischen Kondensationsprozeß darstellt, auch ohne Sauerstoff vor sich gehen kann, um so mehr, als reifende Samen unter normalen Bedingungen über eine gewisse Menge von Sauerstoff verfügen, und da sie leichter als andere Organe der Pflanze Anaerobiose vertragen. Der Versuch rechtfertigte diese Voraussetzung. So zum Beispiel:

10. Versuch.

Halbierte Erbsensamen. Versuchsdauer fünf Tage.

	Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N
Kontrollportion	82,3
Gewöhnliche Luft	87,7
Sauerstofffreie Atmosphäre (trocken)	85,0

11. Versuch.

Halbierte Erbsensamen. Versuchsdauer vier Tage.

	Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N
Kontrollportion	71,9
Gewöhnliche Luft	85,4
Sauerstofffreie Atmosphäre (trocken)	77,2

12. Versuch.

Halbierte Erbsensamen. Versuchsdauer fünf Tage.

	Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N
Kontrollportion	71,4
Gewöhnliche Luft	85,0
Sauerstofffreie Atmosphäre (trocken)	77,8

Wir sehen also, daß ohne Sauerstoffzutritt in reifenden Samen eine Eiweißsynthese vor sich geht. Bei Sauerstoffgegenwart bilden die reifenden Samen fast die doppelte Menge des Eiweißstickstoffes im Vergleich zur sauerstofffreien Atmosphäre. Es ist sehr möglich, daß dieses Resultat durch die weit geringere Quantität der Energie, über welche die Samen während der Anaerobiose verfügen können, bedingt wird. Außerdem wird wahrscheinlich die Eiweißzunahme in sauerstofffreier Atmosphäre bald sistiert, da die Samen ohne Sauerstoffzutritt allmählich abzusterben beginnen.

Im Jahre 1905 gelang es mir in zwei Versuchen mit Samen, die in einen feuchten Raum eingeführt waren, einen Zerfall der Eiweißstoffe zu beobachten. So zum Beispiel:

13. und 14. Versuch.

Die Samen werden ohne vorheriges Zerschneiden in den dampfgesättigten Raum auf fünf Tage eingeführt.

	Vom Gesamtstickstoff fallen auf Eiweiß-N	
	%	%
Kontrollportion	62,1	60,0
Versuchsportion	48,0	46,2

Später ist es mir nicht mehr gelungen, solche Erscheinung zu beobachten, wie es auch Wasilliew mit Lupinussamen nicht gelungen war. Gegenwärtig fällt es mir schwer, diesen Tatsachen

eine Erklärung zu geben und ich denke, daß die Ursache derselben wahrscheinlich das Material gewesen ist, welches zu diesen Versuchen genommen wurde. Die Schoten, welche diesen Versuchen dienten, waren auf dem Markte gekauft worden.

Es ist zu bemerken, daß die inneren Bedingungen der Eiweißsynthese uns unbekannt sind. Wie aus folgenden Versuchen zu ersehen ist, kann die Größe der Eiweißbildung verschieden sein, ungeachtet des, daß vor dem Versuche die Menge der Eiweißstoffe fast gleich war. Diese Versuche wurden zu verschiedenen Zeiten, aber bei denselben Bedingungen mit den reifenden Erbsensamen ausgeführt, und wir führen sie tabellarisch an:

	Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N			
Kontrollportion	82,3	71,9	76,8	78,0
Versuchsportion (Dauer des Versuches 5 Tage	87,7	85,5	89,8	80,9
Differenz	5,4	13,6	13,0	2,9

Es ist möglich, daß dieses Resultat von der Quantität der Stickstoffverbindungen abhängt, die sich im gegebenen Moment in den Samen befinden, oder auch von der Menge der löslichen Kohlehydrate, da das Verbrauchen derselben in den Samen sehr bedeutend ist. Die oben angeführten Versuche wurden mit halbierten Samen ausgeführt, um möglichst gleichartiges Material zu haben.

Dasselbe zeigen uns auch die Versuche mit anderen Samen So zum Beispiel:

15. und 16. Versuch.

Reifende Samen von *Zea Mays*. Versuchsdauer vier Tage.

	Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N	
Kontrollportion	87,7	90,0
Versuchsportion	90,5	94,1
Differenz	+ 2,8	+ 4,1

17.—19. Versuch.

Reifende Samen von *Cucurbita Pepo*. Versuchsdauer fünf Tage.

	Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N		
Kontrollportion	86,7	91,0	95,6
Versuchsportion	88,4	92,1	96,9
Differenz	+ 1,7	+ 1,0	+ 1,3

Wir sehen einen geringen Aufbau der Eiweißstoffe in den Maissamen, obwohl er wohl bedeutender sein könnte, wenn wir die Menge der Eiweißstoffe der reifen Samen in Betracht ziehen. Noch bedeutender könnte die Eiweißsynthese in den Samen von Kürbis sein.

In den Sonnenblumensamen fanden wir gar keine Eiweißsynthese, sondern eher einen Zerfall der Eiweißstoffe. So zum Beispiel:

20. und 21. Versuch.

Die reifenden Samen von *Helianthus*. Versuchsdauer fünf Tage.

	Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N	
Kontrollportion	92,4	90,7
Versuchsportion	89,6	88,0
Differenz	— 2,8	— 2,7

Wenden wir uns jetzt zu der Frage über die Natur der Stickstoffverbindungen, aus welchen sich die Eiweißstoffe in reifenden Samen bilden.

Meine Untersuchungen haben gezeigt, daß in den von der Pflanze abgetrennten Samen die Zunahme von Eiweißstoffen und eine entsprechende Abnahme von anderen stickstoffhaltigen Verbindungen, wie Amide, Aminosäuren und organische Basen stattfindet. Unzweifelhaft ist, daß diese Verbindungen das Material zur Eiweißbildung liefern, ob sie aber direkt an diesem Aufbau teilnehmen, ist eine Frage, zu deren Lösung wir über kein tatsächliches Material, sondern nur über mehr oder minder wahrscheinliche Vermutungen verfügen.

Wassilieff¹⁾ hat die Ansicht ausgesprochen, daß die Bildung der Eiweißstoffe in reifenden Samen hauptsächlich auf Kosten des Asparagins vor sich geht. Der Verfasser meint, daß Aminosäuren zuerst in Asparagin übergehen, das dann zu Eiweiß verarbeitet wird. Schulze²⁾ sagt auch, daß Asparagin in einer bedeutenden Menge aus den Hülsen in reife Samen übergeht und in diesen rasch zur Eiweißbildung verbraucht wird.

Es ist bisher unentschieden, ob die Amide in Eiweißstoffen enthalten sind. Es ist daher unklar, wie der Aufbau der Eiweißstoffe aus den Amidien sich chemisch vollzieht. Eher wäre es anzunehmen, daß Amide keinen direkten Anteil an der Bildung der Eiweißstoffe haben.

In der Tat verfügen wir bis jetzt über keine Tatsachen zu Gunsten des direkten Anteils des Asparagins am Aufbau der Eiweißstoffe und schließen uns der Meinung von Mercadante³⁾ an, welcher vermutet, daß Asparagin die Verbindung darstellt, in Form deren sich einstweilen solche Stoffe ablagern, die dann direkt zur Eiweißbildung verbraucht werden. Asparagin befindet sich in den Hülsen in viel größerer Menge, als in den unreifen Samen. Wassilieff⁴⁾ hat gezeigt, daß beim Aufbewahren der unreifen Früchte von *Lupinus angustifolius* Asparagin sich auf Kosten anderer Stickstoffverbindungen bildet. Die Samenhülsen dienen als Reservestoffbehälter und sammeln Asparagin transitorisch an. Zu erwähnen ist, daß die Zuckerrübe im Zustande der Reife Amide in den Wurzeln anhäuft. Ich habe auch gezeigt⁵⁾, daß Asparagin

¹⁾ Wassilieff, Ber. d. Deutsch. bot. Ges. l. c.

²⁾ Schulze und Winterstein, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 65. 1910.

³⁾ Mercadante, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 8. 1875.

⁴⁾ Wassilieff. l. c.

⁵⁾ Zaleski, W., Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. 16. 1898.

während der Keimung der Zwiebel von *Allium Cepa* zur Eiweißbildung nicht verbraucht wird.

Man kann vermuten, daß Stickstoffverbindungen der reifenden Samen unter Ammoniakbildung abgebaut werden und daß aus letzterem unter Mitwirkung der stickstofffreien Substanzen sich die Eiweißstoffe bilden. Wenn Schulze¹⁾ keine Asparaginzerersetzung während der Autolyse der reifenden Samen beobachtet, und wenn ich keine autolytische Ammoniakbildung in diesen Objekten finde, so sprechen diese Tatsachen noch nicht gegen die Möglichkeit der Ammoniakbildung in den reifenden Samen, da die entsprechenden Enzyme höchst empfindlich sein können.

Loew²⁾ und Pfeffer³⁾ nehmen an, daß die Eiweißbildung direkt aus Ammoniak und stickstofffreien Substanzen vor sich gehen kann. So sagt Pfeffer: „Es ist nicht notwendig, daß z. B. Amide als Zwischenstufen zur realen Entstehung stehen können, da sehr wohl die im Eiweiß vorhandenen Atomgruppen gleichzeitig mit der Verkettung zum Eiweißmolekül auftreten könnten.“

Es ist sehr wahrscheinlich, daß Ammoniak sich in den reifenden Samen aus Amidn und vielleicht Aminosäuren bildet, aber wir können nicht annehmen, daß es direkt zu Eiweiß verarbeitet wird, da wir überhaupt über keine Tatsachen verfügen, die dafür sprechen könnten, daß Ammoniak bei den höheren Pflanzen direkt an dem Aufbau der Eiweißstoffe teilnimmt.

Viele Tatsachen zwingen uns zu der Annahme, daß die reifenden Samen Eiweißstoffe aus Aminosäuren bilden. Zu Gunsten dieser Ansicht sprechen nicht nur die beim Studium der Konstitution der Eiweißstoffe erhaltenen Resultate⁴⁾, sondern auch die von Physiologen gemachten Beobachtungen.

Die Untersuchungen über die Zusammensetzung der Eiweißstoffe haben gezeigt, daß diese aus verschiedenen konstituierten Aminosäuren bestehen, die als Bausteine jener Substanzen anzusehen sind. Wie die Untersuchungen Abderhaldens⁵⁾ zeigen, muß der Tierorganismus zur Bildung der Eiweißstoffe die Aminosäuren erhalten, aus welchen die Proteinstoffe desselben bestehen. Wenn z. B. in der Mischung der Aminosäuren Tryptophan fehlt, so ist sie als Nahrung untauglich. Ich habe weiter gezeigt⁶⁾, daß die keimenden Zwiebel von *Allium Cepa* die Eiweißstoffe aus Aminosäuren bilden. Man kann sich vorstellen, daß Aminosäuren in reifenden Samen durch die Verkettung zu höheren Komplexen und schließlich zu Eiweiß selbst verknüpft werden. In der Tat haben wir schon oben gesehen, daß die reifenden Samen verschiedene Aminosäuren enthalten. So haben verschiedene Forscher im unreifen Samen verschiedener Pflanzen Tyrosin, Leucin, Phenylalanin,

1) Schulze und Winterstein, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1. c.

2) Loew, Die chemische Energie der lebenden Zellen. 1906. 2. Aufl.

3) Pfeffer, Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. Bd. I.

4) Fischer, Emil, Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine. 1906.

5) Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. 57.

6) Zaleski, W., Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1. c.

Aminovaleriansäure, Lysin, Arginin und Histidin nachgewiesen. Weiter hat Schulze¹⁾ gezeigt, daß die Samenhülsen von *Pisum* und *Phaseolus* Arginin, Histidin, Tryptophan, Leucin und Valin enthalten. Wenn nicht alle Aminosäuren, die zur Eiweißbildung nötig sind, im gegebenen Moment im unreifen Samen vorhanden sind, so kann eine Synthese derselben stattfinden. So sagen Schulze und Winterstein²⁾, daß man eine synthetische Bildung von Arginin im unreifen Samen annehmen muß. Die Bildung der Aminosäuren geht vielleicht auf Kosten von Ammoniak und stickstofffreien Substanzen vor sich. Dieses Ammoniak bildet sich auf Kosten der Amide und Aminosäuren. Die reifenden Samen und besonders die Früchte, welche als Stoffbehälter dienen, enthalten eine ansehnliche Menge des Asparagins. Schulze hat in den unreifen Samen auch Glutamin gefunden und das ist ganz verständlich, da die Glutaminsäure in Eiweißstoffen enthalten ist und manchmal in bedeutender Menge. So z. B. kommt die Glutaminsäure in Eiweißstoffen in sehr großen Mengen vor, z. B. in Kasein zu 12% in Gliadin der Weizen und Roggen und in Hordein der Gerste zu 36%.

Es ist auch verständlich, daß die Größe der Eiweißsynthese in reifenden Samen je nach Bedingungen verschieden ist. Wir haben keine Eiweißsynthese während des Nachreifens der Samen von *Cucurbita* und *Helianthus* und fast keine in den von *Zea Mays* gefunden. Diese Tatsachen können wir durch die Abwesenheit einiger zur Eiweißbildung nötigen Aminosäuren erklären, die bei normalen Bedingungen in reife Samen aus anderen Teilen der Pflanze übergehen oder sich in den Samen bilden. Wir finden auch in ganz reifen Samen einen Rest der Stickstoffverbindungen, die der Eiweißbildung entgehen.

Es ist interessant, die Zusammensetzung der Eiweißstoffe der reifenden Samen und Früchte in verschiedenen Stadien der Reifung zu untersuchen.

Ich stehe auf dem Standpunkte der Reversibilität der Keimungs- und Reifungsprozesse. Während der Keimung der Samen werden die Eiweißstoffe derselben abgebaut, indem sie die Aminosäuren geben, aus den sich in Form von sekundären Produkten Asparagin bildet. Während des Reifens der Samen hingegen verwandeln sich Aminosäuren in Eiweißstoffe. Asparagin hat auch keinen direkten Anteil an diesem Prozesse und tritt nur als Zwischensubstanz auf. Da Wassilieff³⁾ sagt, daß die Ansicht über den Gegensatz der Umwandlung der Stickstoffverbindungen beim Keimen und Reifen der Samen von ihm schon früher ausgesprochen worden ist, so halte ich es für notwendig, zu bemerken, daß unsere Ansichten verschieden sind. Der Verfasser sagt, daß Asparagin sich direkt am Aufbau der Eiweißstoffe beteiligt und meint sogar, daß Aminosäuren in Asparagin übergehen: „Wir haben wahrscheinlich hier eine Umgestaltung der Amidosäuren in Asparagin vor uns und dann

¹⁾ Schulze und Winterstein, Zeitschr. f. phys. Chem. 1. c.

²⁾ Schulze und Winterstein, Ibid.

³⁾ Wassilieff, Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1. c.

einen Verbrauch desselben zur Eiweißbildung.“ Also handelt es sich hier nicht um die Umkehrung der Prozesse, und der ganze Unterschied zwischen den Prozessen der Keimung und Reifung nach der Meinung von Wassilieff besteht darin, daß im ersteren Falle die Bildung und im zweiten der Zerfall der Eiweißstoffe stattfindet, was schon längst bekannt ist.

Der Eiweißabbau ist ein hydrolytischer Vorgang, die Eiweißbildung dagegen stellt einen Kondensationsprozeß dar. Die reifenden Samen bilden aus Aminosäuren durch eine Art der Wasserentziehung höher molekulare Komplexe und schließlich Eiweißstoffe. Am einfachsten wäre es der Fall, daß diese Vorgänge die beiden verschiedenen Richtungen einer und derselben reversiblen Reaktion darstellen, welche durch ein und dasselbe Enzym bewirkt wird. Wenn dem so ist, so müßten die unreifen Samen proteolytische Enzyme enthalten.

Die Frage über die Anwesenheit proteolytischer Enzyme in reifenden Samen ist, so viel ich weiß, nur von Fermi und Buscaglioni¹⁾ berührt worden, die in unreifen Phaseolussamen ein Gelatine verflüssigendes Ferment gefunden hatten.

Zum Nachweis der proteolytischen Enzyme bediente ich mich verschiedener Methoden. Zuerst habe ich die Autodigestionsmethode, die von Salkowski mit so großem Erfolge in die Physiologie eingeführt wurde, bei meinen Versuchen benutzt. Die unreifen Erbsensamen wurden zuerst gut zerrieben, in das mehrfache Volumen reinen Acetons eingetragen und unter häufigem Umrühren und einmaligem Wechsel der Flüssigkeit 10 Minuten darin gelassen. Dann wurde die Samensubstanz auf dem Filter durch Absaugen rasch vom Aceton befreit, in Äther auf 3 Minuten eingetragen, wiederum auf den Filter gebracht und mit Äther gewaschen. Nach Verdunsten des Äthers wurde die Samensubstanz in eine feine Form gebracht und bis zum Trockenwerden bei 35° stehen gelassen. In anderen Versuchen wurden die Samen bei 37° getrocknet, fein pulverisiert und in diesem Zustande zu Versuchen benutzt. Die Versuche mit den zwei oben genannten Präparaten wurden folgenderweise angestellt. 40—50 ccm Wasser oder einer bestimmten Lösung wurden in Gefäße eingeführt und sterilisiert; darauf wurde in diese eine bestimmte Menge des Acetonpulvers oder der getrockneten Samensubstanz gebracht und nach Toluolzusatz (70—80 Tropfen) der Inhalt durchgeschüttelt. Dann wurden die Gefäße gut geschlossen und im Thermostaten oder Zimmer auf eine bestimmte Zeit stehen gelassen. Nach beendigtem Versuche wurden alle Gefäße erhitzt und zur Eiweißfällung nach Stutzers Methode benutzt, worauf der Stickstoff des Niederschlages nach Kjeldahl bestimmt wurde. Die Bestimmung des Eiweißstickstoffs geschah auch im ursprünglichen Präparat. In anderen Versuchen wurden ganz und gar gleichartige Erbsensamen in einige Portionen mit gleicher Samenanzahl und von fast gleichem Frischgewicht geteilt. Eine Portion der Samen (Kontrollportion) wurde sofort zur Eiweiß-

¹⁾ Fermi und Buscaglioni, Centr. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. 1899.

bestimmung benutzt, die anderen aber mit vorher geglühtem Sand sorgfältig zerrieben, in sterilisierte Gefäße eingeführt und dann mit der sterilisierten Lösung versetzt. Nach Toluolzusatz wurden diese Gefäße gut geschüttelt, geschlossen und im Thermostaten auf eine bestimmte Zeit stehen gelassen. Nach beendigtem Versuche wurde in allen Gefäßen der Eiweißstickstoff bestimmt. Vorläufige Versuche, die ich hier nicht anführe, zeigten, daß nach dem Erhitzen des Inhaltes der Gefäße keine Verdauung der Eiweißstoffe stattfindet, was für die enzymatische Natur der Proteolyse der unten beschriebenen Versuche spricht.

Es wurden auch Autolyseversuche mit dem Preßsaft der Samen ausgeführt. Zu diesem Zweck wurden die Samen mit Quarzsand zu einem Brei zerrieben und dann in Buchnerscher Presse bei 300 Atmosphären abgepreßt. Die Flüssigkeit wurde abfiltriert und in gleiche Portionen von 25—30 ccm geteilt. Die Kontrollportionen wurden auf dem Wasserbade erhitzt. Nach Toluolzusatz wurden die Gefäße gut geschlossen und im Thermostaten oder Zimmer stehen gelassen.

Wenden wir uns zu Versuchen.

22. Versuch.

Acetonpräparat mit 69,5% Eiweißstickstoff.

Dauer des Versuches:	Eiweiß-N in Proz. der Substanz:	Eiweiß-N-Verlust in Proz. des anfänglichen Eiweiß-N:
Kontrollportion	3,401	—
Versuchsportion 22 Stunden	2,542	— 25,2
Versuchsportion 48 Stunden	2,237	— 34,2

23. Versuch.

Acetonpräparat mit 78,1% Eiweißstickstoff.

Versuchsdauer:	Eiweiß-N in Proz. der Substanz:	Eiweiß-N-Verlust in Proz. des anfänglichen Eiweiß-N:
Kontrollportion	3,627	—
Versuchsportion 22 Stunden	3,267	— 9,9
Versuchsportion 48 Stunden	2,888	— 20,3

24. Versuch.

Die Samen wurden mit Sand zerrieben. Autodigestionsdauer fünf Tage bei 32°. Das Durchschnittsgewicht eines Samens 0,1 gr.

Lösung:	Eiweiß-N in Proz. der Substanz:	Verlust an Eiweiß-N in Proz. d. Eiweiß-N d. Kontrollportion:
Kontrollportion	0,4178	—
Wasser	0,2600	— 37,7
20% Saccharose	0,2385	— 42,7
40% Saccharose	0,2755	— 34,0

25. Versuch.

Die Samen wurden mit Sand zerrieben. Autodigestionsdauer fünf Tage bei 32°. Das Durchschnittsgewicht eines Samens 0,36 gr.

78 Zaleski, Zur Kenntnis der Stoffwechselprozesse in reifenden Samen.

Lösung:	Eiweiß-N in Proz. des Frischgewichtes:	Verlust an Eiweiß-N in Proz. d. Eiweiß-N d. Kontrollportion:
Kontrollportion	0,8100	—
Wasser	0,5764	— 28,8
20% Saccharose	0,6245	— 22,9
40% Saccharose	0,7025	— 13,2

26. Versuch.

Die Samen wurden mit Sand zerrieben. Autodigestionsdauer fünf Tage bei 32°. Das Durchschnittsgewicht eines Samens 0,48 gr.

Lösung:	Eiweiß-N in Proz. des Frischgewichtes:	Verlust an Eiweiß-N in Proz. d. Eiweiß-N d. Kontrollportion:
Kontrollportion	1,2933	—
Wasser	0,9715	— 24,8
15% Saccharose	1,0615	— 17,9

27. Versuch.

Präparat aus den bei 37° getrockneten Samen mit 68% des Eiweißstickstoffs. Autodigestionsdauer 6 Tage bei 36°.

Lösung:	Eiweiß-N in Proz. der Substanz:	Eiweiß-N-Verlust in Proz. des anfänglichen Eiweiß-N:
Kontrollportion	3,341	—
Wasser	2,365	— 29,2
20% Saccharose	2,320	— 30,5
40% Saccharose	2,339	— 30,0
50% Saccharose	2,353	— 29,6

28. Versuch.

Acetonpräparat mit 69,5% Eiweißstickstoff. Autodigestionsdauer 48 Stunden bei 42°.

Lösung:	Eiweiß-N in Proz. der Substanz:	Eiweiß-N-Verlust in Proz. d. anfänglichen Eiweiß-N:
Kontrollportion	3,401	—
Wasser	2,072	— 39,0

29. Versuch.

Acetonpräparat mit 78% Eiweißstickstoff. Autodigestionsdauer 48 Stunden bei 42°.

Lösung:	Eiweiß-N in Proz. der Substanz:	Eiweiß-N-Verlust in Proz. d. anfänglichen Eiweiß-N:
Kontrollportion	3,627	—
Wasser	3,125	— 13,8

30. Versuch.

Acetonpräparat. Digestionsdauer fünf Tage bei 32°.

Lösung:	Eiweiß-N in Proz. der Substanz:	Eiweiß-N-Verlust in Proz. d. anfänglichen Eiweiß-N:
Kontrollportion	2,902	—
Wasser	2,498	— 13,9
0,1% Zitronensäure	2,648	— 8,7
0,3% Zitronensäure	2,681	— 7,6
0,2% Soda	2,425	— 16,4
0,4% Soda	2,816	— 2,8

31. Versuch.

Acetonpräparat. Digestionsdauer 25 Stunden.

Temperatur:	Eiweiß-N in Proz. der Substanz:	Eiweiß-N-Verlust in Proz. d. anfänglichen Eiweiß-N:
Kontrollportion	3,401	—
30—31°	2,409	— 29,1
35—36°	2,358	— 30,6
41—43°	2,154	— 36,6
49—50°	2,154	— 36,6

32. Versuch.

Samenpulver. Digestionsdauer 12 Tage bei 35°.

Lösung:	Eiweiß-N in Proz. der Substanz:	Eiweiß-N-Verlust in Proz. d. anfänglichen Eiweiß-N:
Kontrollportion	2,8463	—
Wasser	1,3328	— 53,1
0,2% Soda	1,6478	— 42,1
0,15% Zitronensäure	1,5313	— 46,2

33. Versuch.

Die Antolyse der ganzen (nichtpulverisierten) Samen. Autodigestionsdauer 40 Tage bei Zimmertemperatur.

	Eiweiß-N in Proz. der Substanz:	Eiweiß-N-Verlust in Proz. d. anfänglichen Eiweiß-N:
Kontrollportion	0,18556	—
Versuchsportion	0,16243	— 12,4

34. Versuch.

Preßsaft. Autodigestionsdauer 7 Tage.

	Eiweiß-N:	Eiweiß-N-Verlust in Proz. d. Eiweiß-N d. Kontrollportion:
Kontrollportion	0,10796	—
Versuchsportion	0,09254	— 14,2

35. Versuch.

Preßsaft. Autodigestionsdauer 30 Tage bei Zimmertemperatur.

	Eiweiß-N:	Eiweiß-N-Verlust in Proz. d. Eiweiß-N d. Kontrollportion:
Kontrollportion	0,10796	—
Versuchsportion	0,08579	— 20,5

Es findet die Proteolyse im getrockneten, zerriebenen und mit Aceton bearbeiteten Samen, sowie im Preßsaft derselben statt. Die Proteasen der reifenden Erbsensamen wirken bei der sauren und alkalischen Reaktion und sind gegen Alkali sehr empfindlich. Das Optimum der Proteolyse liegt zwischen 42—50°. Die Wirkung der Saccharose auf die Proteolyse wird desto merklicher, je mehr die Samen der Reife entgegen gehen. So wirkt Saccharose im Anfangsstadium der Reife fast gar nicht auf die Proteolyse, da eine 48 prozentige Lösung dieselbe kaum verlangsamt, eine 20 prozentige dagegen eher etwas beschleunigt. In späteren Stadien des

Reifeprozesses aber schwächt eine 40 prozentige Saccharoselösung die Proteolyse schon sehr beträchtlich, eine 20 prozentige und sogar eine 15 prozentige, wenn auch, in schwächerem Maße, so doch merklich. Ich habe früher gezeigt, daß Salpeter (1—3 %) keinen Einfluß auf die Proteasen der reifenden Erbsensamen ausübt¹⁾. Mit dem Reifen der Samen findet eine allmähliche Verminderung der Energie der Proteolyse statt. Dieses Resultat wird verursacht durch die allmähliche Zerstörung der proteolytischen Fermente, durch den Übergang in einen inaktiven Zustand oder durch Hemmungswirkungen, die durch die Anhäufung der anti-proteolytisch wirkenden Stoffe stattfinden. Zur Erklärung dieser Frage wurden getrocknete Samen der früheren und späteren Reifestadien pulverisiert und dann zu den Versuchen genommen. Von jeder Portion der Samen wurden je 0,5 gr des Pulvers genommen und vermischt. Im zweiten Falle wurde das Pulver der Samen von früheren Stadien erhitzt, um das Ferment zu töten; und dann wurde das Pulver der späteren Stadien hinzugefügt. Im dritten Falle wurde das Pulver der späteren Stadien erhitzt und dann das Pulver der Samen von früheren Stadien hinzugefügt. In allen Fällen waren also die Menge der Eiweißstoffe und Charakter des Mediums gleich und der ganze Unterschied bestand nur darin, daß in einem Falle die Enzyme der beiden Portionen unverändert blieben, im zweiten das Ferment der Samen von früheren Stadien und im dritten das der von späteren Stadien getötet wurde. So zum Beispiel:

36. Versuch.

0,5 gr der Samen von früheren Stadien und 0,5 gr der Samen von späteren Reifungsstadien enthalten zusammen je 0,02860 Eiweißstickstoff. Autodigestionsdauer fünf Tage bei 35°.

Samen	Eiweiß-N
0,5 gr Pulver des Samen von früheren Stadien + 0,5 gr des von späteren	0,01918
0,5 gr Pulver des Samen von früheren Stadien erhitzt + 0,5 gr des von späteren nicht erhitzt	0,02444
0,5 gr Pulver der Samen von späteren Stadien erhitzt + 0,5 gr des von früheren Stadien nicht erhitzt	0,01807

Der Versuch zeigt, daß die Vernichtung des Enzyms der Samen von späteren Reifungsstadien die Energie der Proteolyse des Gemisches nicht verändert und daß im Gegenteil bei der Tötung derselben in den Samen von früheren Reifungsstadien die Proteolyse stark geschwächt wird. Dieses Resultat hängt von der Verminderung der Menge des Enzyms beim Reifen der Samen, oder eher von seiner allmählichen Inaktivierung ab (Übergang in Profermentstadium). So hat Abderhalden²⁾ gezeigt, daß peptolytische Enzyme in ruhenden Samen vielleicht in inaktiver Form

¹⁾ Zaleski, W., Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. 23. 1905.

²⁾ Abderhalden und Schittenhelm, Zeitschr. f. physiol. Chem. 49. 1906. — Abderhalden und Dammhahn, *ibid.* 57. 1908.

vorhanden sind, da der aus ungekeimten Samen bereite Preßsaft zunächst unwirksam war und erst nach längerem Stehen bei 37° wirksam wurde.

Der Eiweißabbau während der Autolyse der unreifen Erbsensamen ist mit der Bildung von Aminosäuren verbunden. Unsere Präparate verdauen schnell auch Albumosen und Pepton, wie es aus folgendem Versuche zu ersehen ist. Zu diesem Versuche wurden 50 ccm Wasser in Gefäße gegossen und nach Zusatz von 0,5 gr Witte-Pepton sterilisiert. Dann wurden in die Gefäße 1 gr Acetonpräparat der unreifen Erbsensamen gebracht und nach Toluolzusatz wurden diese Gefäße gut geschlossen und der Inhalt derselben geschüttelt. Vor dem Toluolzusatz wurde zur Kontrolle der Inhalt zweier Gefäße erhitzt. Zur Kontrolle wurde auch in zwei Gefäßen 1 gr Acetonpräparat in Wasser ohne Witte-Peptonzusatz eingeführt. Dann wurden alle Gefäße bei 34—36° sechs Tage lang stehen gelassen. Nach beendigtem Versuche bestimmte man den Stickstoff der durch Tannin fällbaren Substanzen. Zu diesem Zweck wurde eine wässrige Tanninlösung in Digestionsgefäße solange hinzugegossen, bis sich kein Niederschlag mehr bildete, und nach Zusatz von Bleizuckerlösung wurde der Niederschlag auf das Filter gebracht und zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl benutzt. Diese Bestimmung des Stickstoffs der durch Tannin fällbaren Substanzen wurde auch in 1 gr des Acetonpräparates und in 0,5 gr Witte-Pepton ausgeführt.

37. Versuch.

	N in Tannin-Niederschlag
Kontrollportion	0,03232
Versuchsportion ohne Pepton	0,02520
Versuchsportion mit 0,5 gr Pepton	0,03442
Versuchsportion mit 0,5 gr Pepton gekocht	0,09402
0,5 gr Pepton für sich	0,06380

Im gekochten Präparate haben keine Veränderungen in bezug auf die Menge der durch Tannin fällbaren Substanzen stattgefunden, wovon man sich durch Addition der entsprechenden für die Kontrollportion und für 0,5 gr Witte-Pepton gefundenen Mengen überzeugen kann. Vergleichen wir miteinander die Mengen dieser Substanzen, die in den Verdauungsversuchen mit Wasser und mit Witte-Pepton zurückbleiben, so sieht man, daß diese Zahlen sich nur wenig voneinander unterscheiden, daß also eine sehr bedeutende Umwandlung des Pepton (ungefähr $\frac{6}{7}$) vor sich gegangen ist.

Das proteolytische Enzym läßt sich durch Glyzerin extrahieren. Setzt man zu diesem Extrakte Konglutin, so wird es verdaut. So zum Beispiel:

38. Versuch.

0,5 gr Konglutin, 15 ccm Wasser und 60 Tropfen des Glyzerinextrakts. Nach Toluolzusatz wurde diese Lösung bei 37° 7 Tage lang autolysiert.

	N im Filtrat ¹⁾ :
Kontrollportion (erhitzt)	0,00936
Versuchsportion	0,01820

Es enthalten also die reifenden Erbsensamen Proteasen. Ob in den unreifen Samen auch Peptasen vorhanden sind, müssen weitere Untersuchungen entscheiden.

Ich habe weiter im unreifen Erbsensamen auch Labenzym nachgewiesen. Zu diesen Versuchen wurde Glyzerinextrakt aus den getrockneten und pulverisierten unreifen Erbsensamen benutzt. Es wurde eine bestimmte Menge des Glyzerinextraktes nach Salzsäurezusatz (0,2%) der rohen Milch zugefügt und dann wurde die Flüssigkeit bei verschiedener Temperatur stehen gelassen. Darauf bestimmte man die Gerinnungszeit der Milch. Unsere rohe Milch ohne irgend welchen Zusatz nach Versetzung mit 0,5 ccm 0,2% Salzsäure im Thermostaten gerann nie vor 9 Stunden.

39. Versuch.

Temperatur:	Gerinnungszeiten in Minuten:
32	135
40	85
45	70
60	keine Gerinnung.

Es ist bisher unbekannt, ob die labenden und proteolytischen Wirkungen von einem und demselben Enzym herrühren oder ob diese verschiedener Natur sind.

Die Voraussetzung der Umkehrbarkeit der proteolytischen Vorgänge in reifenden Samen ist sehr verlockend, da sie am besten die gefundenen Tatsachen erklärt. Vom Gesichtspunkte dieser Ansicht aus wird das Vorhandensein und die Rolle der Protease in reifenden Samen verständlich. Zu Gunsten der Reversibilität der proteolytischen Vorgänge spricht die Tatsache, daß solche für einige Verbindungen aus der Reihe der Kohlehydrate, Fette und Glykoside unter der Wirkung entsprechender Enzyme nachgewiesen ist. Mit Recht schreibt Hofmeister²⁾: „Wenn sich herausstellen sollte, daß die Reversibilität der Fermentwirkung allgemeinere Gültigkeit hat, wie einfach ließe sich dann der zweckmäßige Verlauf einer großen Anzahl der wichtigsten physiologischen Vorgänge deuten.“ Wenn die Eiweißbildung in reifenden Samen zu den reversiblen enzymatischen Reaktionen gehört, so müssen wir die Proteolyse vor sich gehen lassen und dann die Reversion der Eiweißstoffe konstatieren. Ich habe schon im Jahre 1905 diese Reversion der Eiweißstoffe während der Autolyse der unreifen Erbsensamen beobachtet. Da aber diese Versuche mit den zerriebenen Samen ausgeführt wurden, so lege ich jetzt auf diese kein Gewicht mehr, da ich mich von der Unzuverlässigkeit der Toluolasepsis für Organbrei überzeugt habe. Dennoch meine ich, daß die Eiweißbildung zu den katalytischen Reaktionen gehört. Die weitere Lösung dieser Frage soll der Zukunft überlassen sein.

Juli 1910.

¹⁾ Die Eiweißstoffe wurden nach Stutzers Methode gefällt.

²⁾ Hofmeister, Chemische Organisation der Zelle. 1901. S. 21.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Botanisches Centralblatt](#)

Jahr/Year: 1910

Band/Volume: [BH_27_1](#)

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

Artikel/Article: [Zur Kenntnis der Stoffwechselprozesse in reifenden Samen.
Erste Mitteilung: Über den Umsatz der Stickstoffverbindungen. 63-82](#)