# VI.

# Der Gehalt der Dahliaknollen an Asparagin und Tyrosin.

Von

**H. Leitgeb.**

Mit Tafel VII.

## 1. Asparagin.

Es ist bekannt, dass das Asparagin nicht bloss bei der Keimung vieler Samen auftritt, sondern auch in anderen Pflanzentheilen und oft in bedeutender Menge vorhanden ist. Namentlich hat Borodin auf den Asparagingehalt vieler Sprosse beim Austreiben der Knospen aufmerksam gemacht und ferner gezeigt, dass auch solche Pflanzen, in welchen unter normalen Verhältnissen kein Asparagin nachzuweisen ist, unter gewissen Umständen ganz erhebliche Mengen dieses Stoffes anhäufen können.

Aber nicht bloss in lebhaft vegetirenden Pflanzentheilen, wo das Asparagin als transitorisches Product bei der Fortleitung der Proteinstoffe eine Rolle spielt, ist es nachgewiesen worden, auch in unterirdischen Reservestoffbehältern und selbst im ruhenden Samen wurde es — freilich nur in vereinzelten Fällen — aufgefunden.

Es scheint also bei manchen Pflanzen auch die Rolle eines Reservestoffes zu spielen, und es ist seine Ansammlung durchaus nicht von einer bestimmten Qualität des stickstofffreien Reservematerialeß abhängig. So finden wir das Asparagin [1]) neben Oel in den süssen Mandeln, neben Stärke in den Kartoffelknollen, neben Rohrzucker in den Runkel- und Zuckerrüben, welch' letzterer Fall um so interessanter erscheint, als hier der stickstofffreie Reservestoff in gelöster Form vorhanden ist. Dies gilt auch bezüglich seines Vorkommens in den Wurzeln von *Scorzonera hispanica*, wo es neben Inulin auftritt und wo ich es in Mitte December ausgegrabenen Wurzeln in grossen Mengen nachweisen konnte.

---

1) Vergl. Husemann, Die Pflanzenstoffe, II. Aufl., 1882, I, pg. 264.

Dass das Asparagin auch in den Dahliaknollen vorkomme, gibt nur EBERMEYER[1]) an, wogegen BORODIN[2]), der Mittheilungen über das Auftreten dieses Stoffes in oberirdischen Theilen macht, dieses Vorkommens keine Erwähnung thut.

Es ist in der That merkwürdig, dass ein Pflanzentheil, welcher wie die Knollen der Georgine so vielfach untersucht und wohl als häufigstes Object zur Demonstration der Inulinsphärite benutzt wird, bezüglich des reichen Gehaltes an Asparagin von Seiten der Botaniker so ganz unbeachtet bleiben konnte!

Die Knollen der in unserem botanischen Garten cultivirten Dahliavarietäten werden im Herbste nach dem ersten Froste aus der Erde gehoben und in einer Ecke das Kalthauses anfbewahrt. Ich habe nun die Knollen verschiedener Varietäten (einfacher und gefüllter) in den Wintermonaten und zu wiederholten Malen untersucht und in allen einen reichen Asparagingehalt gefunden, wenn auch, wie es nach der freilich unsicheren Schätzung der Quantität der an in Alcohol gelegten Knollenscheiben und Schnitten sich bildenden Ausscheidungen den Anschein hat, die Menge des Stoffes ziemlich grossen Schwankungen unterworfen ist. Ich habe auch von unseren Stadtgärtnern in Kellern überwinternde Knollen bezogen und habe in allen Asparagin nachweisen können, so dass bezüglich des constanten Vorkommens dieses Stoffes in besagtem Objecte wohl kein Zweifel sein kann.

Der Grund, dass das Asparagin hier bis nun der mikroskopischen Nachweisung entging, liegt darin, dass dasselbe bei Behandlung von Schnitten mit Alcohol in den Zellen wohl nur höchst selten in deutlichen Krystallen zur Ausscheidung gelangt, und dass die da und dort etwa sichtbar werdenden Krystalle mit denen des ebenfalls häufig vorkommenden Calciumoxalates verwechselt werden können. Aber auch ausserhalb des Schnittes und am Rande des Deckgläschens treten deutliche Asparaginkrystalle nur höchst selten auf, offenbar aus dem Grunde, weil die so rasch sich bildenden Abscheidungen des Inulins theils die Krystallisation des Asparagins hindern, theils etwa auftretende Krystalle verdecken, wozu noch der Umstand kommt, dass die der Krystallisation durch die viscose Beschaffenheit des Mediums entgegenstehenden Hindernisse zu Bildung der mannigfachsten Krystallitenformen Veranlassung geben, in welchen man das Asparagin zu sehen bis nun nicht gewohnt war. Ich werde später noch auf diesen Punkt zu

1) Physiologische Chemie d. Pfl., 1882, I, pg. 670.
2) Bot. Ztg., 1878, pg. 822.

sprechen kommen und will vorerst die Umstände angeben, unter welchen sehr reichliche Ausscheidungen von Asparagin und die Entstehung grösserer Krystalle erfolgen kann. Es ist dies selbstverständlich nur dann möglich, wenn die Ausscheidung ausserhalb der Zellen geschieht und die zur Bildung grösserer Krystalle nothwendige freie Bewegung der Moleküle möglichst lange erhalten bleibt, also durch kein dieselbe störendes Medium gehemmt wird. Dies erfolgt nach meinen Erfahrungen dann am sichersten, wenn nicht zu hohe (etwa 1 Cm.), aus frischen Knollen geschnittene Querscheiben in c. 90 % Alcohol gelegt werden. Nach einigen Tagen erscheinen die Schnittflächen bedeckt mit schönen, selbst bis 1 Mm. Grösse erreichenden Asparaginkrystallen, welche nach dem Trockenwerden jener an ihren lebhaft spiegelnden Flächen auch mit freiem Auge erkennbar sind. Diese freie Lage der Krystalle ist natürlich nur dann möglich, wenn zur Zeit ihrer Bildung die Ausscheidung von Inulin an den Schnittflächen grossentheils schon aufgehört hat, da im anderen Falle bei der überwiegenden Menge dieses Stoffes ein späterer Absatz an den Krystallflächen und eine Verdeckung derselben nothwendigerweise erfolgen müsste. So aber sehen wir das Inulin in Form der bekannten mehligen Krusten der Schnittfläche dicht angeschmiegt und mit fast ihrer ganzen Höhe über dieselben emporragend die Asparaginkrystalle. Der Eindruck, den man erhält, ist der, als ob die Menge des ausgeschiedenen Asparagins die des Inulins weit übertreffen würde, und die Quantität des ersteren Stoffes ist oft geradezu überraschend. Untersucht man nun das Innere solcher Knollenscheiben, so findet man die Zellen des Markstrahlenparenchyms grossentheils entleert, namentlich beobachtet man nirgends ausgeschiedenes Asparagin, während allerdings das Inulin in den die Tracheenzüge zunächst umgebenden Parenchymschichten in grossen sphäritischen Aggregaten niedergeschlagen erscheint. Es ist also das in den Querscheiben vorhandene Asparagin grossentheils an den Schnittflächen zur Ausscheidung gelangt, während das Inulin auch innerhalb der Gewebe (in die Tracheen erfüllenden und sie umschliessenden Massen) abgeschieden wurde. Diese räumliche Vertheilung der Ausscheidungsproducte findet, wie ich glaube, ihre Erklärung in dem Umstande, dass die Ausscheidung des Inulins aus wässriger Lösung schon bei einem Verdünnungsgrade des Alcohols erfolgt, wo das Asparagin noch in Lösung bleibt. Beim Einlegen der Scheiben in Alcohol dringt dieser nicht bloss von den Schnittflächen, sondern auch von den sogleich damit erfüllten Tracheen aus allmählich in die Zellen vor, und nach diesen Orten des Eindringens werden sich die Diffusionsströme des zu-

erst zur Ausscheidung gelangenden Inulins richten müssen. Die Fällung erfolgt an den Schnittflächen in Folge der dort vorhandenen starken Concentration des Alcohols rasch — es werden feinkörnige globulitische und sphäritische Aggregate gebildet; um die Tracheen herum aber, da eine Ausgleichung der Concentrationsdifferenz mit der Aussenflüssigkeit viel schwieriger ist, langsam — es werden grössere sphäritische, ganze Zellen und Zellgruppen erfüllende Aggregate entstehen können, die, als ziemlich dichte Scheiden wirkend, den weiteren Eintritt des Alcohols von den Tracheen aus nothwendiger Weise erschweren müssen, was bei der lockeren Beschaffenheit des an den Schnittflächen sich bildenden Niederschlages nicht in dem Maasse der Fall sein wird. So wird sich also nach einiger Zeit der Diffusionsstrom vorzüglich nur nach den Schnittflächen richten müssen; dahin wird sich endlich auch das bis nun in Lösung befindliche Asparagin bewegen und dort ungehindert auskrystallisiren können.

Es ist aber weiters wohl einleuchtend, dass man die Herstellung obiger Bedingungen, unter welchen die vorerstige Abscheidung des Inulins innerhalb der Scheiben und die spätere Abscheidung des Asparagins an den Schnittflächen stattfindet, nicht ganz in seiner Hand hat. Gar oft beobachtet man, dass zwei gleich hohe, demselben Knollen entnommene und zusammen eingelegte Scheiben sich ungleich verhalten, dass an der einen reichliche Asparaginausscheidung in grossen Krystallen erfolgt, während an der anderen die Ausscheidung kaum bei Lupenvergrösserung bemerkbar ist. Nicht allein, dass die Krystalle in ihrer Grösse so sehr wechseln und manchmal ganz in dem Inulinniederschlage eingeschlossen erscheinen, auch quantitativ kann die Ausscheidung geringer sein, was wohl nicht auf einen geringeren Gehalt an Asparagin zurückzuführen sein wird, sondern in einer theilweisen Ausscheidung innerhalb der Gewebe seinen Grund hat, wo dann häufig genug auch Krystalle (die bei gekreuzten Nikols leicht aufzufinden sind) zur Beobachtung gelangen.

Anderseits kann es allerdings kaum zweifelhaft sein, dass die absolute Menge des vorhandenen Asparagins nach den einzelnen Knollen und Varietäten ziemlich grossen Schwankungen unterliegt. Nach der freilich unsicheren Schätzung der an primären Schnittflächen der Scheiben sichtbaren oder eventuell an späteren Schnitten durch dieselben wahrnehmbar werdenden Krystalle scheint es, als ob Knollen mittleren Alters von etwa 2—3 Cm. Dicke am reichsten an diesem Stoffe wären. So war ich überrascht, als ältere, bis 5 Cm. dicke und von anderwärts bezogene Knollen, die in der oben angegebenen Weise

eingelegt wurden, eine äusserst spärliche Asparaginausscheidung erkennen liessen, und an manchen Scheiben konnten auch bei Lupenvergrösserung keine spiegelnden Krystallflächen gesehen werden. Wie gross aber trotz solcher Befunde der Asparagingehalt sein kann, zeigte eine mit solchen Knollen ausgeführte quantitative Analyse, welche über meine Bitte Herr Pr. Doc. R. Andreasch im chemischen Laboratorium der hiesigen technischen Hochschule durchzuführen die Güte hatte. Der Asparagingehalt wurde nach der Methode von E. Schulze (Journal f. prakt. Chemie, Bd. 31, pg. 233) bestimmt, und es enthielten 100 Ccm. Saft 0,40137 Gr. dieses Stoffes. Da ferner 500 Gr. Knollen annähernd 380 Ccm. Saft liefern, so würde sich der Asparagingehalt von 100 Gr. frischer Knollen zu 0,305 Gr. ergeben [1]).

Diese in Dahliaknollen gefundene Asparaginmenge steht freilich weit zurück gegen die für manche Keimpflanzen angegebene. Nach Dessaiges und de Chautard [2]) enthielten

| | | | |
|---|---|---|---|
| 1 Liter Saft von | Bohnenkeimlingen . . . | 14,0 Gr. | Asparagin, |
| 1 „ „ „ | Wickenkeimlingen . . . | 9,2 „ | „ |
| 1 „ „ „ | Schminkbohnenkeimlingen | 5,6 „ | „ |

wogegen die Dahliaknollen in der gleichen Saftmenge nur ca. 4 Gr. enthalten würden. Es steht diese Menge auch fast um das Doppelte zurück gegen die von Gorup-Besanez [3]) für *Scorzonera hispanica* angegebene, wo auf 2 Pfund frischer Wurzeln 6 Gr. Asparagin kommen (Dahlia ca. 3 Gr.). Sie stimmt aber ziemlich genau mit den Angaben von E. Schulze [4]) für Kartoffelknollen überein, wo der Asparagingehalt von 5 untersuchten Sorten zwischen 0,385 und 0,239 % schwankte (bei Dahlia, wie schon erwähnt, 0,305 %).

Die Asparaginkrystalle findet man häufig auch in dem am Boden der Gefässe sich absetzenden, vorzugsweise aus Inulin bestehenden Niederschlage und in nicht minder schöner Ausbildung, wie an den Schnittflächen, wenn sie auch selten die ansehnliche Grösse erreichen wie an jenen. Ueberträgt man mittelst einer Pipette einen Tropfen dieses Bodensatzes auf den Objectträger, so treten nach der Ver-

1) Da der in 100 Ccm. Saft enthaltenen Asparaginmenge (0,40137 Gr.) 0,08514 Gr. Stickstoff entsprechen und der Gesammtstickstoff des Saftes (nach Kjeldahl bestimmt) nur 0,1778 Gr. betrug, so ergiebt sich, dass in demselben nahezu die Hälfte des Stickstoffes (47,885 %) in Form von Asparagin vorhanden war.

2) Vergl. Sachse, Chemie und Physiologie d. Farbstoffe etc., pg. 247.

3) Vergl. Husemann, Pflanzenstoffe, pg. 265.

4) Versuchstationen, Bd. XXI, Heft 2, pg. 85.

dunstung der Flüssigkeit die Krystalle mit ihren lebhaft spiegelnden Flächen sofort hervor.

Unter den kleineren Krystallen findet man nicht selten solche, die ringsum vollkommen regelmässig ausgebildet und mit glatten Krystallflächen begrenzt sind. Auch zeigen dieselben sich oft durch ihre ganze Masse homogen und glashell, also ohne fremdartige Einschlüsse. Die an der Schnittfläche haftenden aber erscheinen natürlich an ihrem festgewachsenen Ende unvollkommen, und sehr häufig finden sich in ihrer Masse zahlreiche fremdartige Einschlüsse: Membranfetzen, feine, dem Anscheine nach amorphe Körnchen, die, selten gleichförmig vertheilt, öfters förmliche Nester in der sonst homogenen Substanz bilden; auch sphäritische Bildungen finden sich, die, wie ich es für einige Fälle nachweisen konnte, aus Inulin bestanden, was uns wieder zeigt, dass die Abscheidung des Inulins der des Asparagins vorausging.

Ueberträgt man von anhaftenden heterogenen Körpern möglichst gereinigte Krystalle auf den Objectträger in einen Wassertropfen, so beginnt nach ihrer theilweisen Lösung am Tropfenrande sehr bald die Ausscheidung kleiner Krystalle, zumeist in der Form rhombischer Täfelchen mit Abstumpfung der spitzen Winkel. Es sind genau dieselben Formen, wie ich sie unter gleichen Umständen aus käuflichem Asparagin erhielt, und ich gebe in Fig. 1 eine Abbildung beider Niederschläge zur Vergleichung.

Die Ausbildung schöner und regelmässig ausgebildeter Krystalle erfolgt aber nur so lange, als der Wassertropfen noch ziemlich hoch ist. Je dünner aber die Flüssigkeitsschicht wird — also bei fortschreitender Verdunstung abseits vom Tropfenrande oder wenn die Flüssigkeit schon vom Anfange an in dünner Schicht ausgebreitet wurde — desto mehr wird die regelmässige Krystallisation gehindert, und es entstehen die mannigfachsten Krystallitenformen, theils mit noch deutlich erkennbaren Achsenschemen und Zusammensetzungen aus der Grundform, theils ohne irgend welche Regelmässigkeit in den mannigfachsten dendritischen Gestaltungen (Fig. 2).

Die Thatsache, dass das doch in ganz beträchtlicher Menge in den Knollen vorhandene Asparagin in diesem Objecte bis jetzt mikroskopisch noch nie nachgewiesen wurde, lässt, wie erwähnt, schon a priori die Annahme als wahrscheinlich erscheinen, dass es bei Behandlung von Schnitten oder Knollenscheiben mit Alcohol nicht oder wenigstens nur in geringer Menge innerhalb der Zellen in Krystallform ausgeschieden wird und dass es somit als amorpher Niederschlag nur nicht unterschieden und erkannt werden konnte. Setzt man frischen Schnitten Alcohol zu, so bildet sich bekanntlich in vielen

Zellen ein feinkörniger Niederschlag, und in diesem, in denselben Zellen oder in anderen Zellen, entstehen die bekannten Sphärite des Inulins. Aber auch ausserhalb des Schnittes entstehen nach der von Pfeffer angewendeten Methode nur höchst selten Krystalle, sondern wir finden feinkörnige Ausscheidungen, welche zweifellos vorzüglich aus Inulin bestehen. Behandelt man die Schnitte nach der Methode Borodin's, d. h. betupft man dieselben mit Alcohol und lässt sie dann unter dem Deckgläschen austrocknen, so findet man allerdings öfters vereinzelte Asparaginkrystallplättchen, andererseits sieht man meist nahe am Rande des Deckgläschens dendritische Ausscheidungen. Manchmal bestehen diese, wie ich später zeigen werde, aus Tyrosin, in anderen Fällen aber stimmen die Reactionen nicht für diesen Stoff, und es ist mir nach den oben mitgetheilten Erfahrungen nicht unwahrscheinlich, dass wir in ihnen eine Ausscheidungsform des Asparagins zu finden haben.

Es war mir nun von Interesse, festzustellen, inwieweit die Krystallisation des Asparagins aus wässeriger Lösung bei gleichzeitig in derselben vorhandenem Inulin gestört oder ganz gehemmt werden kann. Giebt man in einen dem Deckgläschen aufgesetzten Tropfen reiner concentrirter Asparaginlösung eine geringe Menge reinen Inulinpulvers (oder einzelne grössere Sphärite) und führt nun letzteren Stoff durch geringes Erwärmen über der Weingeistflamme ebenfalls in Lösung über, so kann man nun im Hängetropfen[1]) auch bei stärkerer Vergrösserung die Ausscheidung der Stoffe unmittelbar verfolgen. Die am Tropfenrande beginnende Abscheidung besteht immer aus Inulin, aber es entstehen selten grössere Sphärite, sondern es bildet sich eine aus feinen Körnchen bestehende Kruste. War nun die beigesetzte Menge des Inulins ziemlich bedeutend, so wird auch nach vollkommener Verdunstung des Tropfens eine charakteristische und als solche unterscheidbare Ausscheidung des Asparagins nicht bemerkbar, und wir finden innerhalb der dichteren Randkruste einen globulitischen Niederschlag, dessen einzelne Körnchen (Globuliten) theils in einfachen, theils in verzweigten Reihen, theils ohne irgend welche Ordnung bald dichter, bald lockerer aneinandergefügt nach Grösse, Ansehen und Lichtbrechung eine stoffliche Differenz in keiner Weise erkennen lassen.

Je geringer aber die Menge des beigesetzten Inulins ist, desto deutlicher kommt in dem Niederschlage die Eigengestaltung des Asparagins zum Ausdrucke: in der am Tropfenrande sich bildenden

1) Vergl. die Abhandlung über Sphärite.

Kruste werden Einschlüsse bemerkbar, die namentlich bei gekreuzten Nikols farbig aufleuchten und häufig rhombische Umrisse erkennen lassen. Auch innerhalb der Randkruste werden krystallitische Bildungen mit mehr oder weniger deutlich ausgebildeter rhombischer Primitivform erkennbar, und ich gebe in Fig. 3 eine kleine Auslese der mannigfachen zu beobachtenden Bildungen.

In einigen Fällen beobachtete ich unter ähnlichen Umständen die Ausscheidung des Asparagins auch in Form von Täfelchen und Scheiben radialfaseriger Structur, die aber bei einiger Uebung von den Inulinscheiben auf den ersten Blick unterschieden werden können. Selten ist ihr Umriss vollkommen kreisrund, sondern mehr oder weniger deutlich rhombisch, auch erscheint die faserige Zusammensetzung viel schärfer ausgeprägt als bei den Inulinscheiben, und was namentlich interessant ist, auch im Verlaufe und der Gruppirung der Fasern tritt das rhombische Achsenschema und oft mit überraschender Deutlichkeit hervor; — es sind dies Wachsthumsformen, die etwa den öfters zu beobachtenden hexagonalen Täfelchen des Inulins oder des Calciumcarbonates [1]) verglichen werden können (Fig. 4).

So wie die Inulinlösungen hemmen auch andere viscose Medien die Ausscheidung des Asparagins in Form deutlicher Krystalle. Bei Gegenwart von Gummi, Zucker, Glycerin entstehen je nach dem Grade der Concentration theils krystallitische Bildungen ähnlich den oben beschriebenen, theils bildet sich ein anscheinend amorpher Niederschlag, in welchem man den besagten Stoff nicht mehr zu unterscheiden vermag.

## 2. Tyrosin.

Tyrosin ist bekanntlich ein sehr häufig auftretendes Spaltungsproduct der Eiweissstoffe, sei es, dass die Zersetzung in Folge natürlicher Ursachen (Fäulniss) oder künstlicher Eingriffe (z. B. Behandlung mit Schwefelsäure) erfolgt.

Seine ungemein leichte Entstehung schon im Beginne cadaveröser Zersetzungen erheischt ganz besondere Vorsichtsmassregeln, wenn der Körper in Organismen nachgewiesen werden soll. Es scheint, dass unter normalen Verhältnissen Tyrosin im lebenden Organismus höherer Thiere vielleicht nur an einer Stelle, das ist im zersetzten Pancreassafte des Dünndarmchymus vorkommt, und nur unter pathologischen

1) Siehe die Abhandlung über Sphärite.

Verhältnissen auch an anderen Stellen (Leber, Harn) gefunden wird [1]). Eine sehr ergiebige Quelle für Tyrosingewinnung sind Weingeistpräparate von Thieren und von menschlichen Organen, und es theilt mir College Rollett mit, dass der Stoff auch in solchen Präparaten gefunden wird, die, anscheinend gut erhalten, sonst kein Anzeichen einer beginnenden Fäulniss erkennen lassen.

Gegenüber dem ungemein beschränkten Vorkommen dieser Amidosäure im gesunden Organismus höherer Thiere scheint dieselbe, nach den dermaligen Angaben zu schliessen, im Pflanzenreiche ziemlich weit verbreitet zu sein und unter ganz normalen Verhältnissen aufzutreten. Sie wurde gefunden von Schulze und Barbieri (nebst Asparagin und Leucin) in den Keimlingen der Lupine, später in etwas grösserer Menge (nebst Glutamin) in denen des Kürbis und in den Kartoffelknollen [2]). Bezüglich der Methode der Darstellung erwähne ich, dass die frischen Kürbiskeimlinge zerrieben, der Saft durch Auslaugen mit kaltem Wasser und Abpressen gewonnen, das Extract zur Entfernung des Albumins rasch aufgekocht, auf ein geringes Volum eingedunstet und mit Weingeist gefällt wurde. Aus dem alcoholischen Filtrat krystallisirte nach einigen Tagen das Tyrosin aus.

Bei dem Umstande, als das Tyrosin (und ebenso das Leucin) nur in relativ geringer Menge (1 Kilo frischer Keimlinge lieferte nur 0,15 Gr. Tyrosin) gewonnen wurde, konnte immerhin auf eine erst während der Verarbeitung der Extracte stattgefundene Bildung dieser Amidosäure durch Fäulniss gedacht werden. Die Verfasser glauben aber unter Anführung mehrerer Gründe dies unbedingt verneinen zu müssen.

Diesen makroskopischen Nachweisungen reihen sich dann zahlreiche mikroskopische Borodin's [3]) an: er fand den Stoff in den verkümmerten Blättern eines aus Kartoffelknollen entwickelten etiolirten Sprosses und später in allen solchen Sprossen, die abgeschnitten und in Wasser gestellt, im Dunkeln weiter cultivirt wurden. Die Amidosäure zeigte sich öfters schon nach wenigen Tagen, und ihre Menge nahm mit der Länge der Cultur immer mehr zu. Borodin bemerkt, dass die Sprosse zur Zeit der Untersuchung noch ein vollkommen

1) Kühne, Physiolog. Chemie, 1868, pg. 109.
2) Berl. Berichte, Bd. XII, pg. 1924, u. Joural f. prakt. Chemie 1879, Bd. 20, pg. 400.
3) Bot. Ztg., 1878, pg. 816.

frisches Aussehen darboten, so dass an eine etwaige durch Fäulniss bedingte Zersetzung nicht zu denken ist.

Später fand er diesen Stoff, und zwar ebenfalls in Begleitung von Asparagin, in verschiedenen Theilen von Papilionaceen und anderer Pflanzen, aber auch hier fast ausnahmslos in abgetrennten und in der Dunkelheit im feuchten Raume weiter cultivirten Sprossen.

Auch in diesen Fällen war die Amidosäure nur in geringen Mengen vorhanden, und da anderseits die Pflanzentheile denn doch unter abnormen Verhältnissen cultivirt worden waren, so ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass das Auftreten dieses Zersetzungsproductes der Eiweissstoffe durch pathologische Vorgänge bedingt gewesen sei.

Später [1]) beschreibt nun Borodin einen Fall des Auftretens von Tyrosin in grossen Mengen und unter durchaus normalen Bedingungen: in den Blättern junger, normaler, aus Knollen entwickelter Exemplare von *Dahlia variabilis* findet sich das Tyrosin in so grossen Mengen vor, dass man bei Anwendung von Alcohol ganze „Gebüsche der haarförmigen, oft dendritisch gruppirten Krystalle erhält". Das Tyrosin finde sich ferner nur in dem Blattparenchym, nie in den Nerven und im Blattstiele, in welchen Theilen dagegen Salpeter vorkomme, der aber wieder in dem Blattparenchym vollständig fehle. Diese charakteristische Vertheilung der beiden Stoffe im Zusammenhalte mit dem Umstande, dass in dieser Pflanze unter, der Ansammlung von Eiweissspaltungsproducten günstigen Bedingungen (wie in den oben besprochenen Culturen) nie Tyrosin (sondern Asparagin) entsteht, führte Borodin zur Ansicht, es sei hier das Tyrosin nicht durch Eiweisszersetzung entstanden, sondern als ein synthetisches Product aufzufassen, welches aus dem durch die Nerven zuströmenden Salpeter gebildet, später zu Eiweiss verarbeitet werde.

Es ist nicht meine Absicht, in eine Kritik dieser Anschauung einzugehen, möchte jedoch bemerken, dass Borodin später [2]) den Stoff in anderen Varietäten derselben Pflanzenspecies und unter gleichen Verhältnisse nicht auffinden konnte, und dass auch im Falle der Richtigkeit jener Ansicht die massenhafte Ansammlung des Stoffes in jenem einen Falle schwer verständlich wäre. Die von Borodin angewandte Methode der mikroskopischen Nachweisung bestand darin, dass zahlreiche Pflanzenschnitte auf dem Objectträger mit absolutem Alcohol

1) Bot. Ztg., 1882, pg. 591.
2) Bot. Centralblatt, 1884, Bd. 17, pg. 103.

betupft, mit einem Deckgläschen gedeckt und der vollen Austrocknung überlassen wurden. Das Tyrosin erscheint nun in den charakteristischen, wie Doppelpinsel aussehenden Nadelbüscheln, die „durch ihre Löslichkeit in Wasser und ihre Unlöslichkeit in gesättigter Tyrosinlösung scharf charakterisirt sind".

Für Tyrosin haben wir übrigens nebstbei in dem MILLON'schen Reagens ein ausgezeichnetes Erkennungsmittel. Ich legte Nadelbüschel von anderwärts bezogenem Tyrosin von 0,05 Mm. Länge und 0,02 Mm. Dicke in einen Tropfen des Reagens und bekam noch die deutlichste Rothfärbung, ja selbst weit kleinere Krystalldrusen geben noch die Reaction auch ohne Erwärmung. Seine Löslichkeit in Wasser ist aber eine ungemein geringe (in kaltem in 1900 Th., in heissem in 150 Th.); Nadelbüschel von der oben angegebenen Grösse, in einen Wassertropfen gelegt, werden häufig nur theilweise gelöst. Ganz so verhält sich — wie wir später sehen werden — das aus Pflanzen dargestellte Tyrosin, und ich weiss nicht, wie BORODIN die leichte Löslichkeit in Wasser besonders betonen kann.

Ich wurde auf das Auftreten dieses Stoffes in Dahliaknollen aufmerksam bei Gelegenheit meiner Studien über die Bildung der Inulinsphärite: ein aus frischem Materiale angefertigter, unter dem Deckgläschen in Glycerin liegender Schnitt zeigte nach einigen Tagen an mehreren Stellen deutliche Tyrosinausscheidung, die ich bei wiederholter früherer Beobachtung des Präparates nicht bemerkt hatte. Einzelne Zellen zeigten sich erfüllt mit aus zarten, allseits ausstrahlenden, ungemein feinen Nadeln zusammengesetzten Ballen, die im durchfallenden Lichte bräunlich gefärbt, im auffallenden mit der Lupe betrachtet als glänzend weisse Flocken erschienen (Fig. 6). In anderen Zellen waren die Nadeln zu dendritisch verzweigten Gruppen geordnet, die besonders um die Inulinsphärite angehäuft waren. Der Umstand, dass bei zahlreichen anderen, aus denselben Knollen angefertigten Präparaten, die unter denselben Verhältnissen gehalten wurden, ähnliche Ausscheidungen nie zu beobachten waren, und dass solche auch von den anderen (und gewiss sehr zahlreichen) früheren Beobachtern nicht erwähnt wurden, legte die Vermuthung nahe, dass das besagte Ausscheidungsproduct nicht von einem in Dahliaknollen unter normalen Verhältnissen constant vorkommenden Stoffe herrühre, sondern dass dieser erst im Präparate gebildet worden sei. Die nachfolgenden Beobachtungen schienen diese Vermuthungzu bestätigen.

Ich legte frische Querscheiben in sehr viel Glycerin, so dass die durch ihren Wassergehalt bewirkte Verdünnung der Einlegeflüssigkeit

nicht in Betracht kommen konnte; andere Querscheiben wurden in wenig Glycerin gelegt, so dass die spätere Verdünnung beträchtlich sein musste. In der That fand ich in den ersteren kein Tyrosin, in letzteren war es in ziemlicher Menge enthalten. Der oben gegebenen Erklärung der secundären Tyrosinbildung widersprach aber die mehrmals gemachte Beobachtung, dass dendritische und unzweifelhaft aus Tyrosin bestehende Bildungen innerhalb der Inulinsphärite sich zeigten, also vor der Bildung dieser vorhanden gewesen sein mussten (Fig. 6).

Ich versuchte nun die Tyrosinausscheidung auch durch Einlegen in Alcohol hervorzurufen. Dünne (etwa 1—2 Mm. dicke) Scheiben, dickere und dünnere Schnitte, in starken Alcohol gelegt, liessen nie im Gewebe eine Tyrosinausscheidung wahrnehmen; dickere Scheiben aber, selbst schon bei $^1/_2$ Cm. Höhe, zeigten dieselbe sehr häufig, aber nicht immer. An frischen, durch die Querscheiben geführten Schnitten traten, schon dem freien Auge sichtbar, glänzend weisse, radial verlängerte Flecken hervor, und zwar vorzüglich in den mehr nach der Peripherie gelegenen Theilen des Markstrahlenparenchyms. Jeder dieser Flecken entsprach einer oder mehreren Zellen, deren jede von einer aus dicht gedrängten Nadeln bestehenden Druse vollkommen ausgefüllt war. An den primären Schnittflächen waren diese glänzenden Flecken nur selten zu sehen. Die, wie ich glaube, einzig mögliche Deutung dieser Beobachtungen ist die, dass bei Einwirkung von starkem Alcohol (oder Glycerin) der Stoff in mikroskopisch nicht unterscheidbarer Form zur Ausscheidung gelangt und in den einzelnen Zellen nur in höchst geringer Menge vorhanden ist, dass er aber bei langsamer Einwirkung aus den Zellen herausdiffundirt, einzelnen Krystallisationspunkten zuströmt und dort in krystallinischer und nun von anderen Niederschlägen leicht zu unterscheidender Form abgeschieden wird. Denn die etwa noch mögliche Annahme, es könnten in Folge des langsamen Eindringens des Alcohols in die Knollenscheiben inzwischen vielleicht in den inneren Geweben locale Fäulnissprocesse eingetreten sein, ist, wie ich glaube, wohl von der Hand zu weisen.

Diese im Glycerin- wie im Alcoholmateriale ausgeschiedenen Drusen und dendritischen Bildungen lassen sich nun sehr leicht frei präpariren, und man kann die oben erwähnten Reactionen zur Anwendung bringen. Bei den aus Glycerinmaterial herauspräparirten ist es aber nothwendig, dieselben früher zur Entfernung des Glycerins in Alcohol zu waschen, weil sonst die Reactionen häufig nicht deutlich hervortreten. Bevor ich diese Reactionen bespreche, möchte ich aber hervorheben, dass die

die Drusen zusammensetzenden Krystallnadeln ausnahmslos viel feiner sind als die des aus thierischen Substanzen gewonnenen und mir zur Verfügung gestellten Tyrosins; auch finden sich selten die charakteristischen, „Doppelpinseln" ähnlichen Krystalldrusen. Dass der Stoff aber unzweifelhaft Tyrosin war, zeigte die Vergleichung beider aus heissen, wässerigen Lösungen gefällter Präparate: Legt man eine kleine Menge Tyrosins in einen am Objectträger befindlichen Wassertropfen und erwärmt man nun über der Spiritusflamme, so geht ein Theil jener in Lösung, und es erscheint der Rand des rasch verdunstenden Tropfens mit kurzen Krystallnadeln umsäumt, und bei rascher Abdunstung wiederholen sich derartige, um den nicht in Lösung gegangenen Drusenrest concentrische, immer enger an einander liegende und aus immer kleineren Elementen bestehende Nadelkreise. Das Bild war genau dasselbe, mochte ich nun das thierische Tyrosin verwenden oder mein in Glycerinmaterial gebildetes (Fig. 8). Wendet man aber einen sehr flachen Wassertropfen an und erwärmt man nur sehr wenig oder gar nicht, so entstehen am Tropfenrande öfters zwar ebenfalls Nadeln, häufiger bilden sich aber dendritische Abscheidungen, oder es entstehen sphäritische Bildungen in Form von einfachen oder verzweigten Wärzchen, deren Rand deutliche radiale Streifung zeigt: also Krystallitenformen, wie sie ja auch von Schulze und Barbieri von dem aus Kürbiskeimlingen dargestellten Tyrosin beim ersten Umkrystallisiren aus Wasser waren erhalten worden [1]). Weiter vom Tropfenrande ab werden aber die dendritischen Bildungen immer zarter, und nur am Ende der Aeste zeigen sich noch öfters Andeutungen jener Warzenbildungen (Fig. 9). Häufig sieht man nur einzelne ungemein dünne, höchstens ein- oder ein paarmal verzweigte, aber stark gekrümmte Fäden, Ausscheidungsformen, die grosse Aehnlichkeit haben mit den von Lehmann [2]) und Behrens [3]) bei ihren Studien über Krystallite von verschiedenen Stoffen erhaltenen und abgebildeten trichitischen Fäden. Dass die Bildung dieser so vielgestaltigen Formen bedingt ist durch die Adhäsion des Glases, welche im Stande ist, die Krystallisationskraft in ihrer Wirkung zu hemmen und die freie Bewegung der Molecüle einzuengen, und die somit — worauf Behrens zuerst aufmerksam gemacht hat — ähnlich wirkt wie ein zähflüssiges Medium, scheint mir nicht zweifelhaft.

Die in Knollenscheiben zur Ausscheidung kommenden Tyrosin-

1) Journal f. prakt. Chemie. Neue Folge, Bd. XX, pg. 401.
2) Groth, Zeitschrift f. Krystallographie, 1877, Taf. XXI.
3) Die Krystalliten. Kiel, 1874, Taf. II.

drusen finden sich, wie schon erwähnt, ziemlich zerstreut, und so können grössere Mengen dieses Stoffes nur mit grossem Zeitaufwande gesammelt werden. Man erhält sie aber leicht durch folgendes Verfahren, welches mir geeignet scheint, auch dann noch das Vorhandensein von Tyrosin in den Knollen nachzuweisen, wenn nach der früher angegebenen Methode eine Abscheidung grösserer Krystallaggregate nicht erfolgt. Es handelt sich dabei wesentlich darum, Verhältnisse herzustellen, wo der grösste Theil des Stoffes ausserhalb der Zellen, und zwar an der Schnittfläche, zur Abscheidung gelangt, wobei noch der Vortheil erreicht wird, dass die einzelnen Krystallnadeln viel grösser werden und die Drusen ein viel lockereres Gefüge zeigen. Das Verfahren ist folgendes:

Eine durch einen Querschnitt gewonnene Knollenhälfte wird aufrecht in ein cylindrisches, jener anpassendes Gefäss gestellt und dieses so weit mit Alcohol gefüllt, dass wenigstens $^1/_3$ des Objectes mit der glatten Querschnittfläche über denselben emporragt. Zweckmässig ist es, auch am unteren Knollenende eine grössere Wundfläche zu schaffen, um das etwas raschere Eindringen des Alcohols zu ermöglichen, da die mächtige Peridermschicht ein Eindringen ungemein erschwert[1]). Der von unten nach oben langsam vordringende und natürlich immer verdünnter werdende Alcohol schafft nun die Bedingungen, welche das Heraustreten des Tyrosins aus den Zellen ermöglichen und dasselbe mit anderen Stoffen, welche bei diesem Verdünnungszustande des Alcohols noch in Lösung blieben, nach oben führen und an der Schnittfläche zur Ausscheidung bringen. Ich habe in dieser Weise viele Male ebenso unmittelbar nach Eintritt der Ruheperiode der Pflanze (October), als auch während des Winters und bis zum Frühjahre Tyrosinausscheidung zu beobachten Gelegenheit gehabt, und zwar in merkwürdig kurzer Zeit: fast regelmässig schon am zweiten Tage nach dem Einlegen der Knollen, ja einmal schon nach nur einem Tage.

Das an der Schnittfläche ausgeschiedene Tyrosin tritt meist schon

---

1) Es ist dies eine Thatsache, welche, wie mir scheint, beim Einlegen von Präparaten in Alcohol zum Behufe späterer Untersuchung viel zu wenig berücksichtigt wird. Es erklären sich daraus vielfach die mannigfachen Formen der Niederschläge, die Vertheilung der Stoffe resp. die Anhäufung derselben an bestimmten Stellen etc. Legt man grössere Knollenstücke von nur $^1/_2$ Dec. Länge in viel und starken Alcohol, so dauert es viele Tage, ja selbst Wochen, bis den inneren Partien das Wasser vollständig entzogen ist.

am zweiten Tage in solcher Menge auf, dass man dasselbe mit freiem Auge erkennt. Ist die Schnittfläche noch stark feucht, so sieht man bei noch geringer Menge des Stoffes da und dort kleine, scheinbar aus einer käsigen Masse bestehende Flecken, etwa von dem Aussehen mancher Bakterienkolonieen, bei grösserer Menge erscheinen aber ganze Partieen der Schnittfläche mit dieser käsigen Masse überzogen. Wenn nun die Schnittfläche weiter abtrocknet, so werden die Tyrosinmassen vorerst deutlicher und erscheinen als glänzend weisse, federige Flocken auf dem noch dunklen Grunde, bis sie, wenn auch dieser den gleichen Farbenton angenommen, wieder undeutlicher werden und an der ganz ausgetrockneten Fläche und bei viel mitabgeschiedenem Inulin mit freiem Auge kaum mehr erkennbar sind. Der Grund dieser Erscheinung liegt natürlich darin, dass die über die Schnittfläche emporstehenden Tyrosinnadelbüschel zuerst abtrocknen, während die derselben dicht anliegenden Inulinmassen noch von Flüssigkeit durchtränkt sind und diese erst später verlieren.

Die an der Schnittfläche ausgeschiedenen Flocken erscheinen als aus ungemein feinen und langen Nadeln bestehende Aggregate theils zu einfachen oder doppelten Pinseln, theils zu ganzen Kugeln gruppirt, wo die einzelnen Nadeln dann lockerer oder dichter gedrängt stehen und in letzterem Falle Drusen bilden, die geradezu Uebergänge zu Sphärokrystallen darstellen (Fig. 5).

Es hat natürlich gar keine Schwierigkeit, diese drusigen Ausscheidungen abzuheben und auf selbe die schon oben erwähnten Reactionen anzuwenden. Wie die Hoffmann'sche Tyrosinreaction (Millon'sches Reagens) ganz unzweifelhafte Resultate ergiebt, so ist es auch mit der von Strecker angegebenen: legt man einzelne Flocken in Salpetersäure und verdampft nun vorsichtig, so bleibt ein gelb gefärbter Rückstand [1]). Setzt man nun Natronlauge zu, so färbt sich die Flüssigkeit tief rothgelb, nach deren Verdunstung krystallinische, rothbraun gefärbte Ausscheidungen sichtbar werden.

Auch beim Umkrystallisiren treten dieselben Ausscheidungsformen auf, wie sie schon oben beschrieben wurden. Da aber an den abgehobenen Flocken fast immer auch Inulinkugeln anhaften, die kaum ganz zu beseitigen sind, so wird natürlich auch dieser Stoff (nach Lösung der Flocken in heissem Wasser) zur Ausscheidung gelangen. Ist seine Menge nicht bedeutend, so wird die Krystallisation des Tyrosins nicht gehindert, und ich gebe in Fig. 7 ein Bild der Ausscheidungen

1) Einmal in Form einer radialfaserige Structur zeigenden Scheibe,

am Rande des sehr langsam abgedunsteten Tropfens. Hier (am Rande) sind die Tyrosinnadeln büschelig gruppirt, zwischen ihnen bemerkt man dann einzelne, ungemein lange Tyrosinnadeln, umwachsen von Inulinsphäriten, die an jenen förmlich aufgespiesst erscheinen; ausserdem zeigen sich auch pinsel- und sternförmige Aggregate.

Ist aber die Menge des mit abgehobenen und zur Auflösung gelangten Inulins bedeutender, so kommt es, in Folge der pectinösen Beschaffenheit des Mediums, nicht mehr zur Bildung vollkommener Krystalle, ja auch die dendritischen und trichitischen Krystallitenformen werden seltener, und in der gleichförmig granulös erhärtenden Masse werden die beiden Stoffe morphologisch nicht mehr unterscheidbar.

Es ist übrigens auch dann, wenn Tyrosindrusen von Inulinkugeln sehr stark durchsetzt sind, eine Trennung beider Stoffe, zum Mindesten eine Isolirung eines Theiles des Tyrosins möglich, da dieses in warmem Wasser viel schwerer gelöst wird als das Inulin. Erwärmt man also abgehobene Flocken in einem Wassertropfen am Objectträger, überträgt dieselben in einen neuen Wassertropfen und wiederholt man diese Operation ein paar Male, so bestehen schliesslich die noch erhalten gebliebenen, d. h. noch nicht gelösten Flockenreste fast ausschliesslich aus Tyrosin. Durch diese Methode gelingt es auch häufig, kleinere Tyrosindrusen, welche, weil ganz von Inulin überzogen, vorerst gar nicht bemerkbar sind, zur Ansicht zu bringen. Da sich die beiden Stoffe auch dem erwärmten Glycerin gegenüber in gleicher Weise verhalten, so kann man durch Erwärmung von aus Glycerinmaterial (vgl. oben) angefertigten Schnitten die Tyrosinausscheidungen viel deutlicher sichtbar machen.

Knollenstücke, an deren Schnittflächen sich, in Folge der oben beschriebenen Art des Einlegens, Tyrosindrusen abgesetzt haben, zeigen diesen Stoff immer auch innerhalb ihrer Gewebe, und es treten an frisch hergestellten Schnittflächen bei beginnender Abtrocknung dieselben scharf begrenzten, silberglänzenden Flocken auf, welche, wie die oben beschriebenen, wieder aus verschieden gruppirten Nadeln bestehen und, wie schon erwähnt, ebenso leicht frei präparirt und stofflich analysirt werden können [1]).

1) Eine solche mikroskopische, eventuell chemische Prüfung dieser Ausscheidungen ist jedenfalls geboten. In derartig behandelten Knollenstücken scheiden sich nämlich öfters auch sehr grosse (bis 0,3 Mm. Durchmesser erreichende) Calcophosphatsphärite aus, die dann an den Schnittflächen ebenfalls als weisse Pünktchen erscheinen. Doch unterscheidet

Wenn in den Fällen, wo in starken Alcohol gelegte Knollenscheiben von kaum $^1/_2$ Cm. Dicke Tyrosinausscheidung zeigen, auf eine secundäre, d. h. erst nach dem Einlegen erfolgte Bildung dieses Stoffes (durch Fäulniss) wohl nicht gedacht werden kann, so ist die Möglichkeit einer solchen nachträglichen Tyrosinbildung bei Anwendung der eben mitgetheilten Methode immerhin in Erwägung zu ziehen. Es spricht aber, wie ich glaube, dagegen die Schnelligkeit, mit welcher die Ausscheidung erfolgt, die ja, wie ich oben mittheilte, immer schon am zweiten Tage, öfters auch in noch kürzerer Zeit eintritt. Die an der oberen Schnittfläche in dieser kurzen Zeit gebildete Stoffmenge ist zu gross, um sie etwa auf das Protoplasma der durch den Schnitt getödteten Zellen zurückführen zu können; dass aber weiter nach innen gelegene und erst durch die Wirkung des Alcohols getödtete Zellen so rasch Eiweissfäulniss zeigen sollen, dagegen spricht jede Erfahrung.

Eine andere Frage ist die, ob die Tyrosinbildung in den Zellen der Dahliaknollen überhaupt ein normaler Vorgang sei, und ob dieselbe nicht erst als Folge pathologischer Veränderungen, etwa localer Fäulnissprocesse, eintrete, welche an den immerhin unter abnormen Verhältnissen überwinternden Knollen sich leicht einstellen können. Wäre dies richtig, so müsste die Menge des durch Alcohol zur Ausscheidung gelangenden Tyrosins mit dem Erhaltungszustande der zur Untersuchung gewählten Knollen in nachweisbarer Beziehung stehen; es müssten vollkommen gesund erscheinende Knollenstücke gegenüber anderen mit localen Fäulnissherden oder solchen durch und durch von Fäulniss ergriffenen in Bezug auf Quantität der Tyrosinbildung eine merkbare Differenz zeigen, und namentlich müsste den Stellen weiter vorgeschrittener Fäulniss ein reichlicheres Auftreten der Tyrosinnester entsprechen. Nach meinen Erfahrungen ist dies nun nicht der Fall: man findet unter den überwinternden Knollen immer auch solche, die mehr oder weniger weit von Fäulniss ergriffen sind, und ich konnte mich nicht überzeugen, dass in ihnen ausnahmslos reichlichere Tyrosinausscheidung auftrat als an denen, die anscheinend vollkommen frisch der Untersuchung unterworfen wurden.

Dass das Tyrosin auch schon im vollkommen gesunden Gewebe der Dahliaknollen vorhanden ist, dafür sprechen auch die Befunde,

---

man sie bei einiger Uebung schon mit freiem Auge von jenen Tyrosinnestern, da sie immer die Kugelform zeigen, während diese, wie schon erwähnt, in (in Bezug auf den Scheibenquerschnitt) radialer Richtung verlängert sind.

welche sich bei Anwendung des Borodin'schen Verfahrens ergeben: Betupft man aus gesunden Knollen angefertigte Schnitte mit Alcohol, überlässt man dieselben nun nach Auflegen des Deckgläschens dem Austrocknen und untersucht sie nach ein paar Stunden, so finden sich manchmal in der That ausserhalb des Schnittes, vorzüglich aber am Rande des Deckgläschens, wo die Austrocknung zuerst erfolgte, auch wohl etwas ausserhalb desselben, zahlreiche krystallinische Ausscheidungen, theils in Form von grösseren und kleineren Nadelbüscheln mit pinseliger oder strahliger Gruppirung der einzelnen Elemente, theils als äusserst zierliche, dendritische Bildungen mit allen Uebergängen zu wahrer sphäritischer Gestaltung (Fig. 10). Durch Anwendung gesättigter Tyrosinlösung oder durch Aufsammlung der grösseren und charakteristischen Nadelbüschel und ihr Verhalten im Millon'schen Reagens lässt sich leicht nachweisen, dass ein Theil dieser Ausscheidungen aus Tyrosin besteht, und es kann somit die Präexistenz dieses Stoffes im lebenden und gesunden Knollengewebe nicht bezweifelt werden.

---

Der Zweck der in vorstehenden Zeilen mitgetheilten Untersuchungen war wesentlich der, zu zeigen, dass Pflanzentheile sehr reich an Asparagin (und Tyrosin) sein können, ohne dass diese Stoffe an mit Alcohol behandelten Schnitten in ihren charakteristischen Krystallformen zur Ausscheidung gelangen, und dass das Unterbleiben dieser Reaction bedingt ist durch die Gegenwart eines anderen, als zähflüssiges Medium der Krystallisationskraft jener Substanzen entgegenwirkenden Stoffes. Als solcher ist speciell für die Dahliaknollen das Inulin zu bezeichnen, und nur so ist es erklärbar, dass in denselben, trotz dass sie seit den Sachs'schen Inulinstudien so häufig wie vielleicht kaum ein anderer Pflanzentheil untersucht worden sind, bis nun weder Asparagin noch Tyrosin zur Beobachtung gelangten, und dass diese Substanzen selbst Borodin, der sie in den oberirdischen Theilen nachwies und gewiss auch die Knollen untersuchte, entgehen konnten.

Ob die von mir angewendeten Methoden, jene Stoffe auch unter solchen Umständen in ihren charakteristischen Krystallformen zur Ausscheidung zu bringen, in anderen Fällen sich gleich gut bewähren werden, wird die Erfahrung lehren. Bei *Scorzonera hispanica* wenigstens gelingt die Ausscheidung des Asparagins nicht minder schön

als bei *Dahlia*, während das Tyrosin hier in der That vollkommen zu fehlen scheint[1]).

Es wäre zweifellos von hohem Interesse, die Auswanderung der offenbar als Reservestoffe fungirenden Amidkörper aus den unterirdischen Organen in die sich entwickelnden Sprosse zu verfolgen. Mit anderen Arbeiten beschäftigt, habe ich die Lösung dieser Frage nicht in den Kreis meiner Untersuchungen einbezogen und kann darüber nur einige wenige gelegentlich angestellte Beobachtungen mittheilen:

Der Asparagin-(und Tyrosin-)Gehalt der Dahliaknollen bleibt während der ganzen Vegetationsruhe ziemlich constant, ja er scheint sich gegen das Ende derselben noch zu steigern. An Knollenscheiben, die Anfangs Mai von unmittelbar zur Auspflanzung bestimmten Stöcken genommen worden waren, fand ich — nach entsprechender Behandlung — stets massenhaft Asparaginausscheidung an den Schnittflächen in Form von oft bis 2 Mm. D. erreichenden, schön ausgebildeten Krystallen.

Mit der Entwicklung der Sprosse aber nimmt der Asparagin-(und Tyrosin-)gehalt der Knollen ungemein rasch ab, und ich konnte, wenn jene eine Höhe von mehreren Decimetern erreicht hatten, an den in obiger Weise behandelten Knollenscheiben eine Ausscheidung jener beiden Stoffe in deutlichen Krystallformen nicht mehr erzielen.

Solange die aus den Knollen sich entwickelnden Triebe noch in der Erde verborgen und somit etiolirt sind, zeigen sie in allen ihren Theilen einen reichen Asparagin-(und Tyrosin-)gehalt. Mit ihrem Hervorbrechen über den Boden und ihrer Ergrünung verschwinden aber diese Stoffe unter normalen Verhältnissen vollkommen oder lassen sich wenigstens in ihrer charakteristischen Form in keiner Weise mehr zur Anschauung bringen. So zeigte ein am 8. Juni ausgegrabener kräftiger, $1^1/_2$ Dec. langer, etiolirter Spross, der, in Stücke zerschnitten, in Alcohol gelegt worden war, an den Schnittflächen und ebenso an der Innenwand des hohlen Stengels massenhaft Asparaginkrystalle, während ein gleich hoher, ergrünter Spross, in gleicher Weise behandelt, weder an den freien Flächen, noch innerhalb der Gewebe eine solche erkennen liess.

Zu demselben Resultate — Vorhandensein des Asparagins (und

1) Nachträgliche Anmerkung. In diesem Winter fand ich das Asparagin — und in nicht geringer Menge — auch in den fleischigen Wurzeln von *Commelina coelestis*, wo, als stickstofffreier Reservestoff, Stärke vorkommt. Diese ist in den Zellen der inneren Rinde aufgespeichert; in denen der äusseren Rinde findet sich das Asparagin.

eventuell des Tyrosins) in etiolirten, Fehlen dieser Stoffe in normalen, ergrünten Trieben — führt auch die Untersuchung frischer Schnitte, die nach den Methoden Pfeffer's und Borodin's behandelt werden. Es stimmen diese Befunde mit den Angaben des letzteren Forschers überein, der in gleicher Weise in normal ergrünten Trieben die beiden Stoffe nicht nachweisen konnte, sie aber (und zwar vorzüglich Asparagin) in etiolirten Sprossen stets auffand.

Ich habe schon eingangs erwähnt, dass Borodin einmal in den Blättern einer unter ganz normalen Verhältnissen gewachsenen Dahliapflanze Tyrosin, und zwar in sehr grosser Menge, vorfand. Auch ich hatte Gelegenheit, ein massenhaftes Auftreten dieses Stoffes in den oberirdischen Organen zu beobachten, und zwar unter folgenden Umständen: Anfangs Februar wurden einige Knollen von ihrem Ueberwinterungsorte im Kalthause in das Vermehrungshaus und in volle Beleuchtung gebracht. Nach etwa 3 Wochen begann die Entwicklung der Sprosse, die bis Anfang Mai eine Höhe von 5 Dec. erreicht und sich, abgesehen von einem geringen Grade von Vergeilung, kräftig entwickelt hatten. Während dieser ganzen Zeit zeigten Stengel wie Blätter, nach Alcoholbehandlung, einen ziemlich reichlichen Gehalt an Tyrosin (neben wenig Asparagin), das namentlich in den Blättern stellenweise die Intercellularräume des Schwammgewebes vollkommen ausfüllte. Da hier — im Gegensatze zu dem von Borodin beobachteten Falle — der besagte Stoff auch im Stengelgewebe und in den Blattstielen zur Ausscheidung gelangte, so ist natürlich die Möglichkeit der Zuleitung aus den Knollen nicht ausgeschlossen. Eine Zuleitung scheint auch in einem anderen Falle stattgefunden zu haben, wo ein im Freien entwickelter, 2 Dec. hoher Spross im Stengel ziemlich reichliche Tyrosinausscheidung zeigte, die aber an und in den Blättern vollkommen fehlte [1]).

Abgesehen von diesen Ausnahmsfällen, können also die beiden Amidkörper in den ergrünten oberirdischen Organen der Dahliapflanze durch keine Methode mikroskopisch nachgewiesen werden. Wenn nun auch aus diesem Umstande noch nicht gefolgert werden darf, dass dieselben nicht vorhanden sind, und es immerhin möglich ist, dass nur die geringe Menge der jeweilig vorhandenen Substanzen ihre Reaction verdeckt und zur sicheren Entscheidung der Frage noch genaue chemische Untersuchungen nothwendig sind, so möchte ich mich doch

1) Auch Prantl hatte einmal in der Markhöhle des Stengels Tyrosinausscheidung beobachtet. „Das Inulin", pg. 60.

aus manchen Gründen mehr der Annahme zuneigen, dass diese Amidverbindungen nicht als solche aus den Knollen den Neubildungsherden zugeführt werden, sondern dass ihre Auswanderung aus den Knollen in ähnlicher Weise von chemischen Metamorphosen begleitet sei, wie solche auch bei der stickstofffreien Reservesubstanz — dem Inulin — vorkommen.

Es spricht für eine solche Umwandlung die mehrmals beobachtete und schon oben erwähnte Erscheinung, dass der Asparagingehalt der Knollen bei Entwicklung der Triebe so ungemein rasch abnimmt, und dass lange vor der Entleerung derselben der Asparaginnachweis nicht mehr gelingt. Wenn bei einer Sprosslänge von nur 2 Dec. das Asparagin in Knollen nicht mehr nachweisbar ist und dasselbe bei seiner Auswanderung und Fortleitung durch das Stengelgewebe keine Umwandlungen erfahren würde, so müsste es in demselben denn doch in solcher Menge vorhanden sein, um es mikroskopisch nachweisen zu können.

Es wird jedenfalls eingehenderer und von berufenerer Seite durchzuführender Untersuchungen bedürfen, um entweder meine Vermuthung zu widerlegen oder die eventuellen Umwandlungsproducte des Asparagins nachzuweisen.

Mit dem Verschwinden des Asparagins und Inulins beim Austreiben der Knollen nimmt auch der reiche Gehalt derselben an Calciumphosphat rasch ab. Dementsprechend findet man das Salz in den sich entwickelnden Trieben in geradezu überraschender Menge, und namentlich sind die Zellen das Markgewebes ungemein reich an diesem Stoffe, während die Nitrate (Salpeter) in ihrer Wanderung dem Verlaufe der Gefässbündel zu folgen scheinen, ohne gerade, wie Borodin will, in ihrem Auftreten ausschliesslich auf diese beschränkt zu sein.

Graz, im Herbste 1887.

---

## Erklärung der Abbildungen.

### Tafel VII.

Fig. 1. Krystallformen des Asparagins, aus verdünnten Lösungen am Objectträger auskrystallisirt. *a.* reines, aus der chem. Fabrik H. Schuchardt's bezogenes Asparagin, *b.* an Knollenscheiben von Dahlia ausgeschiedenes.

Fig. 2. Ausscheidungsformen des Asparagins im sehr flachen Tropfen. Vergl. pg. 220.

Fig. 3. Ausscheidungsformen des Asparagins aus einer verdünnten Inulinlösung. *i.* Inulinsphärite.

Fig. 4. Ausscheidungsformen des Asparagins unter gleichen Umständen. Vergl. pg. 222.

Fig. 5. Längsschnitt durch den Rand einer Knollenscheibe, mit ausgeschiedenen Tyrosindrusen und Inulinsphäriten. Vergr. 250.

Fig. 6. Tyrosinausscheidung in einem in Glycerin gelegenen Präparate. *i.* Inulinsphärit mit eingeschlossenen Tyrosindrusen. (Vergr. 250.) Vergl. pg. 225.

Fig. 7. Inulin und Tyrosin, von der Schnittfläche der in Alcohol gelegenen Knollenscheiben abgehoben, in einem Tropfen am Objectträger umkrystallisirt. Vergl. pg. 229.

Fig. 8. Tyrosinausscheidung um einen von einer Knollenscheibe abgehobenen und am Objectträger theilweise in Lösung übergeführten Tyrosinklumpen. Vergl. pg. 227.

Fig. 9. Ausscheidungen des Tyrosins am Tropfenrande und in flacher Flüssigkeitsschicht. Vergl. pg. 227.

Fig. 10. Ausscheidungsformen des Tyrosins aus einem nach der Borodin'schen Methode behandelten Schnitte (am Rande des Deckgläschens). Vergl. pg. 232.

---