

Über katalytische Wirkung des Lichtes bei der Keimung lichtempfindlicher Samen.

Von

E. Lehmann und A. Ottenwälder.

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

Die Enzyme im keimenden Samen.

Die Wichtigkeit der Enzyme für den Stoffwechsel keimender Samen ist längst erwiesen. Die in den Samen aufgespeicherten Reservestoffe sind zumeist nicht imstande, allseitig geschlossene Zellen zu passieren. So verhält es sich bei Kohlehydraten, Eiweißstoffen und Fetten. Diese Stoffe müssen bei der Keimung transportfähig gemacht werden. Das geschieht aber wohl in erster Linie auf enzymatischem Wege, sei es, daß die Stärke durch Diastase verzuckert wird, sei es, daß Lipasen, Proteasen oder andere Enzyme tätig sind.

Am besten sind wir bisher über die Wirkungsweise von Invertasen und Diastasen in der Pflanze orientiert. Besonders die Untersuchungen der letzten beiden Jahrzehnte haben uns aber auch Aufschluß verschafft über die weite Verbreitung der proteolytischen Enzyme im Pflanzenreiche überhaupt, und speziell gerade im keimenden Samen. Czapek (1905. 2, 159) sagt in seiner Biochemie: Nach den vorliegenden Erfahrungen darf man die Ansicht als berechtigt ansehen, daß die Mobilisierung der Reserveproteide im Samen während der Keimung des letzteren auf keinem anderen Wege erfolge, als die Eiweißresorption durch Pilze, Bakterien und bei der tierischen Verdauung: nämlich gleichfalls durch hydrolytische Spaltung des Reserveeiweißes auf enzymatischem Wege mit nachfolgender neuerlicher Synthese von Proteiden aus den Eiweißspaltungsprodukten in der Keimpflanze selbst. Die Untersuchungen von Gorup-Besanez (1874), Green (1887, 1890), Schulze (1906 und in früheren Jahren),

Butkewitsch (1900), Scurti und Parrozzani (1907), vor allem aber von Vines in verschiedenen Jahren, denen sich dann noch eine lange Reihe neuerer Autoren anschließt¹, haben das Vorhandensein von eiweißspaltenden trypsinähnlichen Fermenten in keimenden Samen verschiedener Verwandtschaft dargetan. Besonders zahlreich sind natürlich aus praktischen Beweggründen die Arbeiten, welche proteolytische Enzyme im Malz feststellen, auf die aber hier nicht weiter eingegangen werden kann. Pepsine, denen im tierischen Organismus eine so weite Verbreitung zukommt, sind bisher aus dem Pflanzenreiche nur ausnahmsweise bekannt (vergl. Vines. 1909. S. 83). Wenn auch manche pflanzliche Proteasen die Eigentümlichkeit des Pepsins teilen, in saurer Lösung maximale Verdauungswirkung zu entfalten, so stehen sie hinsichtlich ihrer Wirkungsweise auf Eiweiß dem Pankreassaft so nahe, daß sie besser in dessen Gruppe eingereiht werden (Czapek. 2, 48).

Grüß (1912. 136) konnte dann weiterhin bei der Gerste die Proteasebildung und -wirkung mehr lokalisieren und zeigte, daß sie in den Aleuronzellen abgeschieden wird, wo sich auch mehr Protease nachweisen läßt, als im Endosperm. Er untersuchte auch die Wirkungsweise der drei proteolytischen Enzyme: Trypsin, Papayotin und Pepsin auf die Aleuronkörner. Er hat Schnitte vom Endosperm in Enzymlösungen gebracht und konnte so den Lösungsmodus verfolgen. Er fand die Lösung des Reserveeiweißes durch Papayotin am ähnlichsten demjenigen Modus, welcher bei der Keimung im natürlichen Zustande auftritt.

Die Eiweißspaltprodukte im keimenden Samen.

Außer diesen eiweißspaltenden Enzymen hat man aber weiter in keimenden Samen seit Hartig (1858) auch Eiweißspaltprodukte gefunden. Während die wenig tiefgespaltenen Abbauprodukte, wie Peptone, Albumosen usw. im keimenden Samen keine hervorragende Stätte besitzen dürften, treffen wir Aminosäuren der verschiedensten Art außerordentlich reichlich an. Nicht nur die primären Spaltprodukte, wie Leucin, Tyrosin

¹) Vergl. dazu auch Oppenheimer, Fermente (1909. 2, 231) und Czapek, Biochemie (1905. 2, 165 ff.).

u. a., sondern vor allem auch sekundäre, wie Asparagin, Glutamin usw. sind vielfach in reichem Maße vorgefunden worden. Ganz besonders die weite Verbreitung des Asparagins in keimenden Samen der verschiedensten Familien ist höchst bemerkenswert. Es ist hervorzuheben, daß wir heute sicher wissen, daß dem Asparagin eine viel weitere Verbreitung zukommt, als es seinerzeit Pfeffer (1872) annahm. Die Zusammenstellung in Czapeks Biochemie beweist das zur Genüge. Dazu kommt, daß die erwähnten Abbauprodukte des Eiweißes jedenfalls oft nur sehr temporärer Natur sind, also sehr schnell weiter verarbeitet werden, so daß sie in so kurzer Zeit nicht in beträchtlicher Menge nachweisbar sind. Es sei nur daran erinnert, daß Asparaginansammlung hervorruft ist durch besondere Kulturbedingungen, wo sonst ein Nachweis nicht möglich ist (vergl. Detmer. 1880. S. 154, 166).

Zu alldem hat sich ergeben, daß mit der Bildung der Eiweißspaltprodukte die Eiweißmenge des Samens sich vermindert. Es war schon Beyer (1867. S. 168), welcher z. B. bei der Lupine zeigte, daß wir in dem Maße, in welchem Asparagin entsteht, die Eiweißstoffe verschwinden sehen.

Alle diese Befunde bestärken uns naturgemäß in der Annahme, daß den proteolytischen Enzymen eine große Bedeutung bei der Mobilisierung der Reserveproteide zukommt.

Eiweißbildung in reifenden Samen.

Hat man die Vorgänge in den keimenden Samen aufgeklärt und auf die Tätigkeit von proteolytischen Enzymen zurückgeführt, so liegen, vor allem aus neuerer Zeit, auch ähnliche Angaben für die Vorgänge bei der Samenreife vor. Hier waren es besonders Zaleski (1900, 1905), Wassiljef (1908) und Pfenninger (1909), welche Aufklärung gebracht haben. Aber auch früher schon haben verschiedene andere Autoren gezeigt, »daß beim Reifen der Samen Hand in Hand mit der fortschreitenden Zunahme von Eiweißstoffen eine stetige Abnahme von anderen, nicht eiweißartigen Stickstoffverbindungen, wie Aminosäuren, Amiden und organischen Basen vor sich geht« (Zaleski. 1905. S. 126). Wassiljef hat außerdem durch qualitative Untersuchungen nachgewiesen, daß unreife Samen einiger Legumi-

nosen ein Gemenge derselben Stickstoffverbindungen enthalten, die bei der Keimung der Samen auftreten. So z. B. hat er Asparagin, Phenylamin, Amidovaleriansäure, Hystidin und Arginin in unreifen Samen gefunden. Und auch aus den Versuchen Zaleskis (1905) ist zu entnehmen, daß die Zunahme von Eiweißstoffen in unreifen Samen von der Verminderung einzelner Gruppen von stickstoffhaltigen Verbindungen, wie Amidosäuren, Amiden und organischen Basen begleitet ist. Allerdings werden, wie aus den Untersuchungen von Wassilieff (1908), Pfenninger (1909) und Schulze und Winterstein (1910, S. 431) hervorgeht, bei den dort untersuchten Leguminosen auch Nichtproteine aus den Hülsen zur Proteïnsynthese in den reifenden Samen herangezogen.

Es ist kaum noch zu bezweifeln, daß auch bei diesen Reifeerscheinungen tryptische Fermente eine ganz bedeutende Rolle spielen. Die experimentellen Grundlagen für diese Annahme sind allerdings noch geringe. So haben Fermi und Buscaglioni (1899) in unreifen Phaseolussamen ein Gelatine verflüssigendes Ferment gefunden. Weiter hat Zaleski (1905) in reifenden Erbsen ein proteolytisches Enzym entdecken können. Die Reversibilität der Enzymreaktionen ist aber in der letzten Zeit in immer weiterem Umfange in- und außerhalb des Organismus dargetan worden (vgl. dazu Höber, 1911, S. 571, speziell für Eiweißresynthesen S. 580).

So kennen wir also proteolytische Enzyme, ebensowie Eiweißspaltprodukte sowohl im reifenden, als im keimenden Samen. Und so werden wir also jetzt ohne Bedenken von einem Eiweißaufbau im reifenden Samen, einem Eiweißabbau im keimenden Samen mit Hilfe von Enzymen sprechen können.

Proteolytische Enzyme und Eiweißspaltprodukte im ruhenden Samen.

Wie liegen nun die Verhältnisse im ruhenden Samen? Albuminstoffe, Aminosäuren, speziell Asparagin, werden in ruhenden Samen nicht oder nur ausnahmsweise in ganz geringen Mengen angetroffen. Bokorny (1902) fand von einfachen Amidokörpern in ruhenden Samen keine, während er sie in gekeimten Samen stets angetroffen hat.

Auch wirksame proteolytische Enzyme wurden für den ruhenden Samen nur in Ausnahmefällen nachgewiesen, während Proenzyme heute schon von den verschiedensten Forschern in einer ganzen Reihe ruhender Samen festgestellt wurden. So fand Green (1887) bei der Lupine ein Proenzym, welches durch Säurewirkung leicht in das proteolytische Enzym überzuführen ist. Auch Weiß (1903) gibt aus dem ungekeimten Gerstenkorn ein Proenzym an. Scurti und Parrozani (1907) finden in Croton-samen auch im Zustand der Ruhe ein proteolytisches Enzym als Zymogen. Butkewitsch (1902) findet das gleiche bei *Lupinus angustifolius*, Vines (1906) hat gezeigt, daß im ungekeimten Samen eine oder mehrere langsam auf die Reserveproteide wirkende Proteasen vorhanden sind. Auch Abderhalden und Dammhahn (1908) kommen zu dem Ergebnis, daß im ruhenden Samen zwar keine wirksamen peptolytischen Enzyme, aber doch solche im inaktiven Zustande sich befindende vorhanden sind. Vielleicht kann man danach nun auch die Angabe von Gorup-Besanez (1874), welcher aus einigen ruhenden Samen proteolytische Enzyme angab, so deuten.

Vergleichen wir nun diese Daten mit unserer Kenntnis von der Samenkeimung. Vor allem wissen wir da einmal durch die verschiedensten Autoren, daß unreife Samen oftmals viel leichter auskeimen, als voll ausgereifte. Da wir weiter wissen, daß Enzyme und Eiweißspaltprodukte den Keimprozeß begleiten, daß dieselben aber in gereiften Samen gegen das Eiweiß sehr zurücktreten, so müssen wir annehmen, daß die leichte Keimfähigkeit der unreifen Samen auf dem noch nicht erfolgten Aufbau des Eiweißes und dem Vorhandensein von Enzymen und Eiweißspaltprodukten beruht.

Wenn wir dann ausgereifte Samen ins Keimbett legen, so tritt die Keimung je nach den Samen und Keimungsbedingungen ein oder unterbleibt, auch kann das Eintreten recht verschiedene Zeiten benötigen.

Jedenfalls aber werden wir annehmen müssen, daß mit dem Eintreten in die Keimung die nötigen Enzyme gebildet werden müssen, welche die proteolytischen Spaltungen einleiten, denn diese sollen ja die Umwandlung der Reservestoffe beginnen bzw. die Lebensfunktionen im Embryo auslösen. Dieses Auftreten der nötigen Enzymmengen, welche offenbar aus den vor-

handenen Zymogenen oder Proenzymen hervorgehen, kommt nun unter den geeigneten Keimungsbedingungen zustande. Diese Keimungsbedingungen können aber sehr verschiedene sein. Erforderlich ist jedenfalls immer eine geeignete Feuchtigkeit, eine geeignete Temperatur und der Sauerstoff der Luft. Die Untersuchungen der Neuzeit haben aber auch gelehrt, daß die Keimung vieler Samen in hohem Maße abhängig ist von der Beschaffenheit des Substrates und von dem Vorhandensein oder Fehlen des Lichtes.

Die Einwirkungsweise dieser beiden letzten Faktoren ist in neuerer Zeit schon in verschiedener Weise zu erklären versucht worden. Speziell hat die Lichtwirkung recht verschiedene Erklärungen gefunden (vgl. Lehmann, 1912, S. 466). Unter anderem wurde dieselbe auf photochemische Faktoren zurückgeführt. So sagt Kinzel (1907, S. 276): Besonders auch im Hinblick auf die Fischersche Arbeit (Wasserstoff und Hydroxylionen als Keimungsreize) war mir daran gelegen, diese vorläufige Notiz möglichst bald zu geben, weil diese Lichtwirkungen mit jenen Ionenwirkungen vielleicht in irgend eine Verbindung zu bringen sind. Weiter war es Heinricher, welcher 1908 (Wiesner Festschrift, S. 272) sagte: Offenbar befördert das Licht die chemischen Umsetzungen in den Reservestoffen und (S. 278): Das Licht übt eine fördernde Wirkung auf die Reaktivierung der Reservestoffe oder auf das Entstehen solcher Stoffe (Enzyme), die jene vollführen.

In seiner Arbeit über *Phacelia tanacetifolia* spinnt dann Heinricher (1909) den Gedanken der photochemischen Lichtwirkung noch weiter aus. Er will auch die Dunkelheit photochemisch wirksam sein lassen, bei solchen Samen, welche im Dunkeln besser keimen als im Lichte. Er denkt sich die photochemischen Wirkungen in dem Sinne, daß Auslösungen katalytischer Prozesse stattfinden, welche die Reaktivierung der Reservestoffe ermöglichen oder befördern. Im Falle von *Veronica peregrina* und *Phacelia* soll speziell eine Lipase das als Reservestoff vorhandene fette Öl katalysieren. Jedenfalls wird aber von Heinricher hervorgehoben, daß diese ganzen Annahmen rein hypothetischer Natur sind.

Unterdessen war es dann Lehmann (1909) gelungen, die Lichtwirkung bei Samen von *Ranunculus sceleratus* durch Salz-

wirkung zu ersetzen (Knopsche Nährlösung). Über die Art und Weise dieser Salzwirkung fehlte aber noch jeder Anhalt. Immerhin wurde auch von Lehmann (1911) in seinem Sammelreferat S. 255 die folgende Ansicht vertreten: Vielleicht läßt sich eine Beziehung der wirkenden Stoffe zu den Reservestoffen feststellen, vielleicht ist auch gewissen Stoffen eine katalysatorische Wirkung zuzuschreiben, womit wir dann zu einer möglichen Parallele zur Lichtwirkung kämen, da ja Stoffe bekannt sind, die erst im Lichte katalysatorisch wirken.

In der Folge hat dann Gassner (1911) auch bei den Samen der von ihm geprüften Graminee *Chloris ciliata* die Lichtwirkung bei der Keimung durch Knopsche Nährlösung ersetzen können. Sodann gelang es Becker (1912) bei einigen Samen die Lichtwirkung durch Beigabe von Chemikalien zu beeinflussen, wie auch neuerdings Baar (1912) ähnliche Erfolge erzielte.

Dennoch lag noch 1912 die Sachlage so, daß Lehmann sich zu dem Satze veranlaßt fühlte: Gewiß, wir können uns einen solchen — katalytischen — Erfolg (des Lichtes) vorstellen, wenn wir beispielsweise an die Beeinflussung der Enzymwirkungen durch das Licht denken. Wir haben aber bis heute noch nicht den geringsten sicheren Anhaltspunkt, daß das Licht die Keimung wirklich in dieser Weise beeinflusse, noch weniger aber wissen wir natürlich über die Art und Weise dieses Vorganges bzw. die Wechselwirkung zwischen Licht, Reservestoffen, Enzymen usw.

Unter dem Eindrucke all dieser Verschiedenheiten suchte Lehmann (1912), wie schon vorher Pfeffer und Jost, die Lichtwirkung vorläufig auf einen Reizvorgang¹ zurückzuführen. Von anderer Seite (Gassner) schien allerdings für *Chloris* wenigstens eine abweichende Auffassung mehr gerechtfertigt.

Jedenfalls erwies es sich als unbedingt nötig, diese Fragen im Zusammenhange in Angriff zu nehmen. Die Verf. machten sich nun an die Beantwortung derselben. Es soll an dieser Stelle über die bisher erzielten Resultate, soweit sie allgemeine prinzipielle Bedeutung haben, kurz berichtet werden. Der ganze Untersuchungsgang ist noch nicht abgeschlossen. Es wird dar-

¹) Kinzel hatte früher auch (1907) S. 277 von Reizwirkung von Wasserstoff- und Hydroxylionen auf die Keimung gesprochen, später (1913, S. 143) hält er eine solche Bezeichnung aber für unpraktisch.

über in viel eingehenderer und speziellerer Weise von einem von uns nach Fortführung der Untersuchungen an anderer Stelle berichtet werden.

Einwirkung von proteolytischen Enzymen auf die Samenkeimung.

Es erschien uns vor allem wichtig, den Versuch zu machen, ob es nicht gelänge, unter bestimmten Bedingungen nur im Lichte keimende Samen durch Enzymbehandlung auch im Dunkeln bei sonst gleichen Bedingungen zur Keimung zu bringen. Eine kurze Mitteilung über eine erfolgreiche Behandlung eines lichtempfindlichen (durch Dunkelheit begünstigten) Samens mit Enzymen liegt allerdings schon vor. Es handelt sich um eine Angabe von Kinzel, welcher auf diesem Wege lichtharte Samen von *Nigella* zur Keimung brachte. Ich führe diese Angabe wörtlich an (1907, S. 271): Mannigfach variierte Versuche mit solchen lichtharten (oder vielleicht besser lichtmüden) Samen bei Enzymbehandlung, Asparagineinwirkung, vorsichtigem Eintrocknen usw. führten zu der besten Methode, nämlich vierzehntägigem Trocknen der Samen über CaCl_2 bei 30° und sofortigem Einquellen in eine Lösung von 1proz. Asparagin und 0,1proz. Papayotin, dem proteolytischen Enzym von *Carica Papaya*. Nach fünfstündiger Quellung wurden die Samen dann angestochen und nach 24stündiger Quellung zum Keimen bei $20^\circ/30^\circ$ angesetzt. Der Erfolg dieser Behandlung selbst bei schon durch andere Operationen sehr müde gewordenen lichtharten Samen war ein so großer, daß auch von solchen noch 80% keimten gegenüber von 50% bei Samen, die dem gleichen Trocknungs- und Quellungsverfahren jedoch ohne Enzym und Asparagin ausgesetzt waren.

Es ist schwer aus diesen Versuchen, auf die übrigens Kinzel später des weiteren nicht eingehender zurückgekommen ist¹, zu entnehmen, worauf nun eigentlich die erzielte Wirkung, also das Brechen der Ruhe zurückzuführen ist. Es sind hier anfangs vielerlei Mittel zu gleicher Zeit, zuletzt doch immer noch Asparagin und Papayotin gemeinsam angewendet worden, so daß eine sichere Erklärung des Erfolges unmöglich wird. Darauf kam es ja Kinzel seinerzeit wohl auch weniger an. Er wollte nur zeigen, daß die lichtharten Samen später wieder zur Keimung

¹) Vgl. 1913, S. 112.

zu bringen waren¹. Jedenfalls aber trug dieser Versuch mit dazu bei, den Gedanken einer eingehenderen Untersuchung dieser Verhältnisse in Fluß zu bringen.

Außer diesem einen Versuche mit lichtempfindlichen Samen (Dunkelkeimern) liegen aber noch Versuche über Enzymwirkung auf andere Samen vor. Mit alten Samen hat einmal Thompson (1896) recht deutliche Resultate bekommen. Er konnte durch Diastaselösung und Pepsinlösung die Keimziffer bei alten Getreidesamen ganz erheblich steigern. Weiter glaubte Arthur (1895) die verschiedene Keimfähigkeit der zweierlei Samen in den Früchten von Xanthiumarten darauf zurückführen zu sollen, daß die oberen Samen befähigt sind, digestive Fermente nur nach einer langen Ruheperiode zu entwickeln, wodurch ihre Keimung ein oder mehrere Jahre verzögert wird. Diese Theorie hat, wie Crocker (1906, S. 268) sagt, ihre experimentelle Basis in der Tatsache, daß, wenn beide Samensorten für einige Zeit den gleichen Keimungsbedingungen ausgesetzt sind, die unteren viel reduzierenden Zucker zeigen, während die oberen nur eine Spur haben. Crocker (S. 269) versuchte nun dieser Theorie weitere Stützen zu verleihen, indem er die oberen Samen ohne Verzögerung dadurch zum Keimen bringen wollte, daß er sie in verschiedene Enzymlösungen legte. Er benützte Pepsin, Trypsin oder den filtrierten Saft von den unteren ungekeimten Samen. Seine Versuche führten ihn aber zu keinem positiven Resultate.

Interessante Versuche stellte dann Waugh (1897, S. 950) an. Er behandelte 12 Jahre alte Tomatensamen mit verschiedenen Enzymlösungen. Er erhielt auf diesem Wege eine ganz erhebliche Beschleunigung und Erhöhung der Keimung. Seine interessanten Versuchsergebnisse seien kurz zahlenmäßig angeführt. Er brachte seine Tomatensamen:

	in Wasser	sie keimten	zu 28 %
	„ Trypsin	„ „	„ 56 „
	„ Extr. Pancreatis	„ „	„ 36 „
	„ Enzymol	„ „	„ 52 „
in einem anderen Falle			
	in Wasser	„ „	„ 12 „
	„ Pepsin	„ „	„ 80 „
	„ Diastase	„ „	„ 85 „

¹) Vgl. 1913, S. 112.

Außer diesen angeführten Versuchen mögen noch eine Reihe weiterer in ähnlicher Richtung ausgeführt worden sein, die uns aber entweder nicht bekannt geworden sind oder die uns derzeit nicht zugänglich waren. Von letzteren nennen wir diejenigen von Stone (1901). Zudem liegt hier nicht der Wunsch vor, alles in dieser Richtung bekannte gesammelt zusammenzustellen. Es handelt sich nur um die Anführung von Parallelfällen.

Eigene Versuche mit Enzymen.

Wir kommen nun zu unseren Versuchen. Wir bedienten uns zu denselben einer Reihe von proteolytischen Enzymen, die wir in ihrer Wirkung auf die im Dunkeln nicht oder nur langsam keimenden Samen verschiedener Pflanzenarten beobachteten. Wir haben derzeit schon eine große Anzahl von Versuchen angestellt, welche das Gesamtergebnis klar und deutlich vor Augen stellen. Im einzelnen sind die Versuche noch nicht immer vollkommen gleichmäßig, was aber in sekundären Faktoren begründet liegt, welche sehr schwer exakt in den Grenzen gleichmäßig zu halten sind, so daß eine völlige Übereinstimmung im einzelnen stets zu erzielen wäre. Wir wählen für diese Publikation eine Reihe instruktiver Fälle heraus.

Den Versuchen sei vorausgeschickt, daß sie stets im Keimapparat in derselben Weise ausgeführt wurden, wie das von Lehmann (1912, S. 492ff) eingehend beschrieben wurde. Im speziellen wurde stets chemisch reines Filtrierpapier und im Institute destilliertes Wasser verwandt. Die Enzyme stammten teils von der Firma Merck, teils hatte Herr Professor Thierfelder in Tübingen die Freundlichkeit, uns auf unser Ersuchen einige Präparate abzutreten. Es sei besonders darauf hingewiesen, daß die Enzyme in den hier aufgeführten Versuchen stets in neutraler Lösung zur Verwendung kamen.

Versuch 1.

Epilobium hirsutum. Material gesammelt im September 1912.

Temperatur 24°.

Versuchsbeginn 21. Januar 1913.

Alles im Dunkeln. Dasselbe Samenmaterial ergab im Lichte bei derselben Temperatur 98—100% Keimungen.

Datum	Dest. Wasser				Papayotin 0,1 %				Trypsin 0,1 %			
	a)		b)		a)		b)		a)		b)	
24.—31. I.	7	7	7	7	13	13	13	13	16	16	14	14
1.—7. II.	0	7	3	10	18	31	10	23	28	44	52	66
8.—12. II.	4	11	3	13	32	63	34	57	20	64	15	81
13.—18. II.	24	35	6	19	4	67	3	60	0	64	1	82

Schon dieser eine Versuch läßt uns die stark keimungsfördernde Wirkung der beiden zur Anwendung gelangten proteolytischen Enzyme deutlich erkennen. Andere, unter gleichen Bedingungen ausgeführte Versuche zeigten ähnlichen Erfolg.

Es muß indessen gleich darauf hingewiesen werden, wie eng begrenzt der Spielraum der übrigen äußeren Bedingungen ist, welche uns erlauben, diesen fördernden enzymatischen Einfluß auch sicher darzustellen und zu erkennen. Schon bei einer geringen Temperaturerniedrigung um 2 bis 3 Grad tritt dieser Einfluß erheblich weniger in die Erscheinung. Der folgende Versuch soll das darlegen, wenn auch nicht die Endwerte mit denjenigen des Versuchs 1 verglichen werden können, da Versuch 2 früher abgebrochen bzw. in anderer Richtung weiter geführt wurde als Versuch 1. Man wird also die Endwerte von Versuch 2 mit den nach 15 Tagen erhaltenen Werten in Versuch 1 zu vergleichen haben.

Versuch 2.

Epilobium hirsutum. Material wie in Vers. 1.

Temperatur 21—22°.

Versuchsbeginn 7. Januar 1913.

Alles im Dunkeln. Dasselbe Samenmaterial ergab im Lichte bei derselben Temperatur ca. 100% Keimungen.

Datum	Dest. Wasser				Papayotin 0,1 %								Trypsin 0,1 %			
	a)		b)		a)		b)		c)		d)		a)		b)	
10.—17. I.	1	1	1	1	11	11	8	8	2	2	4	4	6	6	6	6
18.—22. I.	2	3	2	3	5	16	6	14	7	9	5	9	3	9	6	12

Auch hier haben weitere Versuche das Ergebnis im vollen Umfange bestätigt. Es zeigt sich auch bei dieser Temperatur noch eine sichtliche Förderung der Keimung der Samen durch das Enzym, wenn auch in erheblich geringerem Maße, als bei der um wenige Grade höheren Temperatur in Versuch 1. Wir müssen wohl annehmen, daß diese Temperatur zu niedrig ist

für die Wirksamkeit des Enzyms oder aber daß sie anderen zur Keimung nötigen Prozessen im Samen ungünstig ist.

Erhöht man die Temperatur im Gegenteil noch weiter, z. B. auf 30°, so kommt es ja sehr bald, wie schon aus Lehmanns früheren Versuchen hervorgeht, zu einer ziemlich vollständigen Keimung im Dunkeln. Die reaktionsbeschleunigende Wirkung der höheren Temperatur ist dann eine so große, daß eine Förderung durch die zur Anwendung gekommenen Enzyme sicher nicht mehr zu beobachten ist. Es scheint im Gegenteil, als kämen dann Hemmungserscheinungen durch die Enzyme zustande. Indessen bedarf diese Frage noch erneuter Untersuchung. Auch die Konzentration, in welcher das Enzym zur Verwendung kommt, hat einen deutlichen Einfluß auf den Ausfall der Keimungsförderung. Es kann hierauf indessen an dieser Stelle nicht eingegangen werden. Die Versuche zur Klarlegung des Enzymeinflusses lassen sich also bei *Epilobium hirsutum* auch nur im Keimapparat bei konstant geeigneter Temperatur anstellen. Temperaturwechsel löst ja, wie ebenfalls aus Lehmanns früheren Versuchen hervorgeht, die Keimung dieser Samen auch im Dunkeln aus, so daß derartige Versuche in Gewächshäusern, Laboratorien und dergl. Räumen ohne konstante Temperatur hier niemals zu einem Erfolge führen können.

Das eben gesagte gilt indessen nur für die genannte Versuchspflanze. Anders verhielt sich in dieser Richtung z. B. *Verbascum thapsiforme*. Die Samen dieser Pflanze, auf deren recht komplizierte Keimungsverhältnisse an anderer Stelle näher eingegangen werden wird, ergaben die folgenden Resultate.

Versuch 3.

Verbascum thapsiforme, Material gesammelt am 31. Dez. 1912 bei Neckarsulm. Temperatur 24°.

Versuchsbeginn 24. Januar 1913.

Alles im Dunkeln. Im Lichte Keimung zu ca. 100%.

Datum	Dest. Wasser	Papayotin 0,1%	
		a)	b)
28. Januar	Ohne jede Keimung	12	5
29. „		4	6
31. „		2	2
1. Februar		1	0
4. „		0	0

Versuch 4.

Verbascum thapsiforme. Material wie in Vers. 3.

Bei sehr wechselnder Temperatur in einem Kastenfenster vor dem Laboratoriumsfenster.

Alles im Dunkeln.

Datum	Dest. Wasser		Papayotin 0,1 %			
			a)		b)	
7. II.	1	1	23	23	10	10
8. II.	3	4	7	30	5	15
10. II.	18	22	18	48	23	38
11.—13. II.	44	66	52	100	47	85
14.—19. II.	14	80	—	—	2	87

In beiden Fällen ist die keimfördernde Wirkung des proteolytischen Enzyms außer jedem Zweifel. Unter den Bedingungen von Versuch 3 kam es im Dunkeln auf destilliertem Wasser überhaupt nicht zur Keimung. Papayotin brachte 18 bzw. 13 Keimlinge zuwege. Unter den Versuchsbedingungen des Versuchs 4 hatte offenbar die wechselnde Temperatur auch auf destilliertem Wasser im Dunkeln nach und nach 80 % Keimlinge zustande gebracht. Die Keimungen auf Papayotin waren aber einmal zahlreicher, das andere Mal aber viel schneller und intensiver verlaufen.

Schließlich sei darauf hingewiesen, daß es sich im vorliegenden Falle nicht mehr um die Samen einer Wasserpflanze oder Sumpfpflanze handelt, als welche ja *Epilobium hirsutum* noch zu gelten hat. Wir finden also derartige katalytische Wirkungen sowohl bei Wasser- bzw. Sumpfpflanzen als Pflanzen des trockenen Landes. Unsere Versuche haben zudem dargetan, daß sich diesem Verhalten der Samen, über welche hier berichtet wurde, noch eine Reihe anderer Samen anschließen. Wir sind damit beschäftigt, unsere Versuche auf möglichst viele Licht- und Dunkelkeimer auszudehnen.

Somit haben wir festgestellt, daß durch Einwirkung von proteolytischen Enzymen Samen verschiedener Pflanzen unter Versuchsbedingungen im Dunkeln zum Keimen zu veranlassen sind, unter welchen sie auf destilliertem Wasser daselbst nicht keimen. Es ist zudem bemerkenswert, daß diese Wirkung nicht mit Pepsinen hervorzubringen war, welche ja dem Pflanzenreiche, wie wir eingangs sahen, jedenfalls fehlen. Allerdings

konnten Pepsine nicht in saurer Lösung geboten werden, da Säure allein schon die keimfördernde Wirkung ausübt, so daß das Ergebnis nicht ganz stichhaltig ist. Papayotin und Trypsin stehen sich aber in ihrer eiweißspaltenden Wirkung so nahe, daß ihre ganz parallele Wirksamkeit gut verständlich ist. Es liegt auch ganz und gar kein Grund vor, die hier aufgefundenen Erfolge etwa auf andere Ursachen als eben die katalytische Fähigkeit der verwandten Enzyme zurückzuführen. Wir werden zudem sogleich noch eine Reihe von Versuchen kennen lernen, welche unsere Auffassung der Sachlage nur im höchsten Maße zu stützen imstande sind.

Wirkung von Eiweißspaltprodukten.

Nehmen wir nun an, daß durch eine solche proteolytische Wirkung der Anstoß zur Keimung gegeben wird, so müssen wir weiter fragen, was diese Proteolyse in erster Linie für Folgen hat. Es ist bekannt, daß Trypsine das Eiweiß tief, also bis zu den Aminosäuren spalten. Es wäre nun zu denken, daß man eventuell zu einem ähnlichen Erfolge gelangen würde, wenn man den Samen gleich eine Aminosäure böte, als wenn man ihnen das proteolytische Enzym darreicht. Es war dabei an Leucin, Tyrosin, vor allem aber an Asparagin zu denken, welch letzteres ja im Keimungsstoffwechsel eine so hervorragende Rolle spielt und zum Eiweißaufbau dient. Wir wandten uns infolgedessen zur Behandlung der Samen von *Epilobium hirsutum* mit Asparagin. Wir erhielten beispielsweise das folgende Ergebnis.

Versuch 5.

Epilobium hirsutum. Material wie Vers. 1.

Temperatur 22°.

Versuchsbeginn 10. Januar 1913.

Alles im Dunkeln.

Datum	Dest. Wasser	Asparagin 0,3 %	Asparagin 0,1 %
17.—20. I.	Vergl. Vers. 2	32	12
21.—25. I.		28	6
26.—29. I.		8	4
		68	22

Die sehr hohe Keimziffer von 68 % auf 0,3 % Asparagin ist allerdings nicht ganz klar, denn die Keimlinge entwickelten sich hier nicht weiter, sondern blieben bald nachdem die Samenschale geplatzt war, in ihrer Entwicklung stehen. Auf Wasser übertragen keimten sie dann teilweise weiter.

Diese und ähnliche Versuche legen den Gedanken nahe, daß zur Keimung der Samen von *Epilobium hirsutum* im Dunkeln bei 22° eben die Eiweißspaltprodukte nötig seien. Allerdings bleibt auch hier zu berücksichtigen, daß es sich im Asparagin doch um einen Körper mit freier Karboxylgruppe handelt, also einen Stoff mit schwach saurer Wirkung. Die Säurewirkung ist indessen so schwach, daß sie wohl nicht ernstlich in Frage kommt. Es sollen aber Versuche angestellt werden, bei denen die freie Karboxylgruppe gebunden ist, also eventuell mit Estern.

Eigene Versuche mit Säuren.

Wir wissen nun aber weiter, daß eine katalytische, also reaktionsbeschleunigende Wirkung nicht nur durch Enzyme ausgelöst werden kann. Wir kennen vielmehr aus so vielen Fällen auch katalytische Wirkungen anorganischer Verbindungen, z. B. der Säuren. Es lag nun in erster Linie nach dem Bekanntwerden der Einwirkung von Knopscher Nährlösung und der bekannten Fischerschen (1907) Versuche der Gedanke nahe, zu untersuchen, ob nicht auch Säuren eventuell einen ähnlichen reaktionsbeschleunigenden Einfluß auf die Keimung lichtempfindlicher Samen im Dunkeln ausübten, wie die Enzyme, besonders auch nachdem Lawrow (1906) gezeigt hatte, daß Salzsäure auch ohne Pepsine Eiweißkörper sehr weitgehend spalten kann.

Der Einfluß der Säuren auf die Keimung ist ja schon sehr häufig Gegenstand der Untersuchung gewesen. Einmal liegen über denselben aus früherer Zeit zahlreiche Angaben vor, auf die aber an dieser Stelle nicht eingegangen werden soll. Dann aber ist in neuerer Zeit infolge der eben schon kurz erwähnten Arbeit über die Wirkung von H- und OH-Ionen auf die Keimung von Wasserpflanzensamen von Fischer die Aufmerksamkeit wieder auf dieses Gebiet gelenkt worden. Von Seiten Crockers wird allerdings diese Säurewirkung nicht so aufgefaßt, wie von Fischer. Crocker glaubt nämlich in der Säurewirkung eine

Beeinflussung der Samenschale vor sich zu haben und nicht eine Wirkung auf den Embryo. Ohne auf diese Fragen hier näher einzugehen, wird aus unseren Befunden ohne weiteres der Schluß zu ziehen sein, daß jedenfalls in unserem Falle keine Wirkung auf die Schale, sondern auf das Sameninnere anzunehmen ist.

Es seien nun aus unseren Versuchen über die Einwirkung von Säuren auf lichtempfindliche Samen die folgenden dargestellt.

Versuch 6.

Lythrum Salicaria. Gesammelt 11. Oktober 1912.

Temperatur 30°.

Versuchsbeginn 17. Dezember 1912.

Datum	Hell		Dunkel															
	Dest. Wasser		Dest. Wasser		HCl0,025		HCl 0,0125		HCl 0,00625									
	a)	b)	a)	b)	a)	b)	a)	b)	a)	b)								
19. XII. 12	99	98	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	20	20	13	13
20. XII. 12			3	3	6	6	0	0	0	0	30	31	22	24	50	70	31	44
? XII. 12			3	6	10	16	0	0	0	0	7	38	7	31	7	77	6	50
3. I. 13			3	9	1	17	0	0	0	0	1	39	7	38	0	77	2	52

Versuch 7.

Epilobium hirsutum. Gesammelt 14. September 1912.

Temperatur 22°.

Substrat: Salzsäure verschiedener molekularer Konzentration.

Versuchsbeginn 26. November 1912.

Alles im Dunkeln.

Datum	0,025 mol				0,05 mol				0,1 mol				0,2 mol			
	a)	b)	a)	b)	a)	b)	a)	b)	a)	b)	a)	b)	a)	b)	a)	b)
28. XI.	2	2	6	6	0	0	4	4	4	4	3	3	5	5	6	6
29. XI.	2	4	3	9	5	5	0	4	12	16	17	20	12	17	11	17
30. XI.	1	5	1	10	6	11	2	6	14	30	10	30	8	25	5	26
2. XII.	4	9	0	10	6	17	5	11	15	45	14	44	10	35	12	34
3. XII.	2	11	0	10	7	24	5	16	10	55	6	50	3	38	7	41
4. XII.	7	18	9	19	13	37	7	23	7	62	8	58	8	46	4	45
5. XII.	7	25	5	24	12	49	14	37	4	66	2	60	3	49	1	46
6. XII.	11	36	6	30	6	55	9	46	2	68	4	64	0	49	1	47
7. XII.	3	39	2	32	9	64	9	55	0	68	0	64	0	49	2	49
9. XII.	6	45	9	41	14	78	17	72	0	68	0	64	0	49	0	49
10. XII.	0	45	2	43	4	82	5	77	0	68	3	67	0	49	0	49
		45		43		82		77		68		67		49		49

Ganz allgemein geht aus diesen beiden Versuchen hervor, daß die Salzsäure bei bestimmter Konzentration und geeigneter Temperatur eine Keimung der Samen von *Epilobium hirsutum* und *Lythrum Salicaria* ermöglicht, wo die Keimung ohne Salzsäure, also auf destilliertem Wasser nicht ausgelöst wird. Die optimalen Säurekonzentrationen sind verschieden für die verschiedenen Arten. Sie schwanken aber auch, wie hier noch nicht weiter ausgeführt werden soll, mit verschiedener Temperatur. Es sei nur z. B. darauf hingewiesen, daß die Samen von *Lythrum Salicaria* bei 24° im Dunkeln auch durch Säureeinfluß noch nicht zur Keimung zu bewegen sind (vgl. dazu auch *Ranunculus scleratus*, Lehmann, 1909).

Die absolute optimale Säurekonzentration ist zumeist ziemlich niedrig, in einem Falle 0,00625 oder noch niedriger im anderen 0,05. Das stimmt mit zahlreichen früheren Versuchen auf anderen Gebieten überein, welche zeigten, daß noch sehr geringe Konzentrationen von Säuren und Salzen Reizwirkungen auszuüben imstande sind (Czapek, II, S. 892 ff). Ja es erscheint uns sehr wahrscheinlich, daß bei häufiger Verwendung von geringer Konzentration viel mehr über die fördernde Wirkung von Säuren bekannt wäre. Wahrscheinlich ist der folgende Satz, welchen Czapek (II, S. 894) gelegentlich der Besprechung der Reizwirkung von Salzen aussprach, auch für Säuren gültig: In der ziemlich bedeutenden Literatur über den Einfluß chemischer Agentien auf die Samenkeimung finden sich leider fast nur Versuche, welche mit großen Dosen von Substanzen angestellt sind und es wird ausschließlich über Hemmungen oder Indifferenz berichtet.

Die keimfördernde Wirkung von Säuren geringer Konzentrationen ist uns nach unseren bisherigen Kenntnissen auf verwandten Gebieten auch nicht mehr befremdlich. Kennen wir doch zahlreiche Fälle, in denen Säuren geringer Konzentration das Wachstum beschleunigen (vgl. aus neuerer Zeit Nabokich, 1910). Zudem sind wir aus zahlreichen Untersuchungen über die katalytische Wirkung der Säuren geringer Konzentration unterrichtet. Speziell wird das Trypsinogen durch Säure leicht in das wirksame Enzym übergeführt (Green-Windisch, 1901, S. 193). Wir werden also ohne Fehler auch hier die Säurewirkung katalytisch auffassen dürfen.

Katalytische Wirkung des freien Sauerstoffes.

Sehen wir uns weiter nach anderen reaktionsbeschleunigenden Faktoren um, welche unsere Annahme stützen. Es wäre da vor allem an die Wirkung des freien Sauerstoffes zu denken. Green zeigte, worauf in unserem Zusammenhange schon Kinzel (1913) hinwies, daß das Zymogen des Pankreas durch hindurchleiten eines Sauerstoffstromes während ungefähr 15 Minuten wirksam gemacht werden kann. Bruschi (1906) knüpfte an diese Versuche Greens an und konnte nun feststellen, daß die Profermente des Sameneiweißes im ruhenden Samen durch den Luft-sauerstoff aktiviert werden können. (Vgl. dazu auch Palladin, Pflanzenphysiologie, 1911.)

Zum in den Samenschalen eingeschlossenen Embryo kann nun, worauf besonders Crocker (1906, S. 265) aufmerksam machte, der Sauerstoff oft nur schwer vordringen. Er zeigte z. B., daß die Samen mancher Pflanzen viel höherer Sauerstoffpressionen zur Keimung bedürfen, wenn die Schale die Samen umgibt, als wenn sie entfernt ist. Es hat das durch Untersuchungen von Shull (1911) und Becker (1912) in verschiedenen Fällen bestätigt werden können. Gassner (1911, S. 708 u. 1912, S. 62) hat nun das Verdienst, solche Versuche zuerst mit dem lichtempfindlichen Samen von *Chloris ciliata* angestellt zu haben. Er zeigt, daß dem Sauerstoff die Fähigkeit zukommt, Samen dieser Pflanze im Dunkeln zur Keimung anzuregen, welche ohne erhöhte Sauerstoffpressionen unter diesen Bedingungen nicht keimen würden. In einer ganzen Reihe von Fällen ist es jetzt auch möglich geworden, lichtempfindliche Samen dann im Dunkeln zur Keimung zu bringen, wenn man sie ansticht. So verhält es sich beispielsweise auch bei unserem Versuchssamen *Epilobium hirsutum* (vgl. Lehmann, 1912, S. 486). Es ist wahrscheinlich, daß hier der ermöglichte Sauerstoffzutritt in Wirksamkeit kommt, wenngleich noch nicht ein Verwundungsreiz endgültig ausgeschlossen ist (vgl. dazu auch Kinzel (1913, S. 123 ff). Ebenso liegt es bei zerschnittenen Samen, bei welchen nach Zaleski (1900) die vermehrte Sauerstoffzufuhr eine große Rolle bei der Eiweißsynthese spielt (vgl. dazu auch Kinzel, 1913, S. 123 ff.).

Unter dem Eindrucke unserer bisherigen Befunde werden

wir diese Sauerstoffwirkung wohl auch als eine reaktionsbeschleunigende auffassen mögen. Wir schließen uns jedenfalls auf Grund unserer Resultate ganz besonders dem Satze von Becker (1912, S. 126) an, welcher lautet: Die Wirkung des reinen Sauerstoffes ist aber wahrscheinlich nicht mit Crocker in der dadurch gesteigerten Atmung des Samens zu suchen, auch nicht mit Hiltner die Wirkung des Schälens in der Beseitigung eines Sauerstoff absorbierenden Agens enzymatischer Natur in der Samen- oder Fruchtschale, ich glaube vielmehr, daß es sich um einen chemischen Reiz handelt, den der Sauerstoff ausübt, und der die Keimung auslöst.

Katalytische Lichtwirkung.

Alle die hier direkt oder indirekt erschlossenen katalytischen Wirkungen können nun aber auch durch das Licht ausgelöst werden. Das Licht wirkt sogar in den bisher untersuchten Fällen noch etwas stärker, als einige der angewandten katalytischen Mittel, z. B. die Enzyme Trypsin und Papayotin. Schon diese Befunde heben nun den Schluß, dem Lichte käme ebenfalls eine rein katalytische Wirkung bei der Auslösung des Keimungsvorganges zu, aus dem rein hypothetischen Zustande, in dem die Annahme sich bis zur Zeit befand, heraus. Es liegt indessen eine Reihe von Anhaltspunkten vor, welche dieselbe auf eine noch gesichertere Basis stellen. Es ist nämlich möglich, die Lichtwirkung auf Grund neuerer chemischer Versuche noch näher zu verstehen. Wir müssen bei Erörterung dieser Angelegenheit auf drei ganz verschiedenen Wegen getrennt vorgehen. Wir können nämlich einmal annehmen, daß das Licht die Wirkung der Enzyme beschleunigt und erhöht, 2. daß es die in den ruhenden Samen vorhandenen Zymogene aktiviert, 3. daß das Licht in Gegenwart bestimmter Stoffe selbst als Katalysator wirkt.

Die erste Annahme erscheint nun allerdings nach den jetzt vorliegenden Versuchen über die Beeinflussung der Enzyme durch das Licht keineswegs die nächstliegende zu sein. Durchblicken wir heute die Literatur über den Gegenstand, so finden wir fast durchgehends, daß das Licht die Enzymwirkung hemmt. Schon Heinricher (1909) führt bei Erörterung ähnlicher Ge-

dankengänge den Satz aus Czapeks Biochemie I, S. 67 an, daß starke Belichtung Enzymlösungen rasch zu zerstören pflegt. Heinricher hält aber diesen Satz nicht für allgemein gültig und sagt: Allein die große Menge der Enzyme ist ja gewiß noch nicht genügend erforscht, und es ist durchaus nicht erwiesen, daß auf alle das Licht einen zerstörenden Einfluß ausübt. Ja es liegt eine Untersuchung von Emmerling (1901) vor, welche in diesen Lehrsatz schon Bresche schlägt. Ein Referat faßt die Arbeit in folgender Weise zusammen: Das Ergebnis dieser Untersuchungen war, daß das Licht im allgemeinen nur von geringer Wirkung war; vielfach konnte eine schädigende Wirkung kaum nachgewiesen werden, so bei Invertin, Emulsin, Diastase und Laktase. Übrigens hat auch Green (1897), wie wir hinzufügen möchten, eine fördernde Wirkung des Lichtes auf Diastase festgestellt.

So könnten wir also vielleicht schon für die erste Annahme, daß das Licht die Wirkung von Enzymen fördere, von der Zukunft weitere Belege erhoffen. Eng mit dem ersten steht der zweite Erklärungsversuch in Zusammenhang. Unsere Kenntnisse darüber sind aber noch ganz verschwindend und unsicher, ob es möglich ist, daß das Licht ein Zymogen aktiviert. Wir wollen infolgedessen auch nicht lange hierbei verweilen.

Dagegen liegt für die dritte Annahme in den Versuchen Neubergs (1908—1913) Tatsachenmaterial vor, welches nach unserer Ansicht sicher für viele Fälle vorzüglich zur Erklärung geeignet ist. Neuberg hat gezeigt, daß fast alle wichtigen Substanzen des tierischen und pflanzlichen Organismus in ausgesprochenem Maße lichtempfindlich werden, wenn sie bei Gegenwart von Mineralstoffen, insbesondere von Eisen, Mangan und Uransalzen dem Sonnenlicht ausgesetzt werden. Das gilt für Kohlehydrate, Proteine und für viele aliphatische und cyclische Stoffe. Es handelt sich dabei im wesentlichen um Abbaureaktionen. Außer im Sonnenlicht gehen solche Wirkungen auch vom diffusen Tageslicht und von künstlichen Strahlenquellen aus. Neuberg bezeichnet diese Umwandlungen als katalytische Lichtreaktionen, da sie nur in Gegenwart eines Metallsalzes erzielt werden konnten und im Dunkeln völlig während der Zeit ausblieben,

die bei der Bestrahlung in den mineralstoffhaltigen Lösungen zu beträchtlichen Veränderungen führte. Da in der Natur jede Lichtwirkung in Gegenwart von Mineralstoffen stattfindet (Eisensalze), und die Versuche Neubergs bei Temperaturen angestellt wurden, welche als für die Versuchssamen normale oder physiologische bezeichnet werden können, so dürfen wir sie in ihrem Effekt den Enzymwirkungen gut an die Seite stellen.

Die Neubergschen Untersuchungen stimmen aber auch ausgezeichnet direkt zu dem, was in keimenden Samen in ähnlicher Richtung gefunden wurde. Scurti und Parrozani (1907) konnten feststellen, daß die Crotonsamen die Eigenschaft besitzen, Ester und Äther der aliphatischen wie aromatischen Verbindungen, Derivate der Alkohole, wie Phenole, in Säure und Alkohol resp. Phenol zu spalten. Die Samen können ferner Saccharose invertieren und Raffinose in reduzierende Zuckerarten verwandeln etc. Sie besitzen mithin ein ganz allgemeines Hydrolysierungsvermögen (nach Kochs Jahresbericht zitiert). Neuberg hat nun beispielsweise noch die folgenden Umwandlungen unter dem Einfluß des Lichtes konstatiert: Disaccharide und Polysaccharide werden invertiert und dann partiell wie die Monosaccharide weiter verändert und auch abgebaut; Glukoside werden hydrolysiert; Glyzeride (Fette) werden partiell verseift und die Spaltungsprodukte weiter umgewandelt; organische Phosphorsäureester werden gespalten und deren organische Paarlinge ihrer Natur nach verändert; Aminosäuren erleiden eine Aldehydspaltung unter gleichzeitiger Desaminierung. Offensichtlich also ganz die entsprechenden Vorgänge, wie im Samen¹.

Daran erinnert sei in diesem Zusammenhange, daß auch für die Eiweißbildung von Godlewski (1903) eine fördernde Wirkung des Lichtes aufgefunden wurde, was allerdings nicht

¹) Anm. Nach Absendung des Manuskriptes erschien noch die folgende Arbeit: Simon, Fr., Über die Keimung zuvor belichteter und chemisch vorbehandelter Samen. *Biochem. Zeitschr.* 1913. **48**, 410ff. Hier wird gezeigt, daß mit Eisen- oder Uransalzen vorbehandelte, sonst nicht als lichtempfindlich bekannte Samen durch Belichtung in der Keimung befördert werden können. Die genannten Salze allein bringen keine Förderung, oft sogar Hemmung hervor. Diese Resultate würden zu unseren Schlußfolgerungen vorzüglich passen. Nur wäre sehr zu wünschen, daß diese Versuche noch auf viel breitere Basis gestellt würden, unter Berücksichtigung aller die Keimung sonst beeinflussenden Faktoren.

unwidersprochen geblieben ist (vgl. Zaleski, 1909, E. Schulze, 1906). Es wäre das aber wieder eine von den Tatsachen, die uns auf die nahen Beziehungen von Einweißabbau zu Aufbau, in unserem Falle von Reifen und Keimen des Samens hinweisen. Zudem haben photochemische Studien in neuerer Zeit eine solche Fülle biologisch wichtiger Tatsachen zutage gefördert, daß darauf im Einzelnen hier nicht weiter eingegangen werden kann.

Sicher werden die Verhältnisse der Eiweißspaltung von verschiedenen Samen ganz verschieden von statten gehen. Es geht das ja schon aus der bisherigen Literatur klar hervor. Die Asparaginsmengen, welche bei den Papilionaceen bei der Keimung entstehen, sind bei anderen Pflanzen nicht zu finden. Bei *Tropaeolum* tritt Asparagin nur zu Beginn der Keimung und zwar in nicht unerheblichen Mengen auf (Pfeffer, 1874, S. 256). In manchen anderen Pflanzen lassen sich immer nur sehr geringe Asparaginsmengen nachweisen, bei den Caryophyllaceen überhaupt keine, hier wird es durch Glutamin ersetzt. Dazu führt Schulze (1906) aus: »In den Samen von *Helianthus annuus* traten Asparagin und Glutamin nebeneinander auf und zwar war bald das eine, bald das andere dieser beiden Amide in großer Menge vorhanden. Während ferner die Keimpflanzen des Kürbises in der Regel reich an Glutamin waren, aber nur sehr wenig Asparagin enthielten, fanden wir in einer Kultur solcher Pflanzen kein Glutamin, dagegen viel Asparagin«. Und so kann natürlich die allergrößte Mannigfaltigkeit in Abbau und Aufbau des Eiweißes zustande kommen. Damit aber ist die Möglichkeit gegeben, daß auch die katalytischen Wirkungen bei den einzelnen Samen auf sehr verschiedene Weise sich abspielen. In dem einen Falle werden die im Samen vorhandenen Enzyme oder Zymogene, eventuell in Verbindung mit anderen Stoffen innerhalb des Samens genügen, um die Katalyse, und somit die Keimung einzuleiten, in anderen Fällen wird das Licht dazu nötig sein, wieder in anderen Fällen wird der Sauerstoff in Betracht kommen. Dabei bleibt aber außerdem zu berücksichtigen, daß auf verschiedenen Stadien der Keimung und Reife offenbar andere Spaltungsprodukte vorhanden sind, so daß also auch damit die Enzymwirkung wechselt. Nicht zu

vergessen ist dabei, daß auch sekundäre bzw. ganz spezifische Faktoren hinzutreten können, welche mit der Lichtwirkung im engsten Konnex stehen. Es sei nur beispielsweise daran erinnert, daß manche Stoffe in der Pflanze nur im Licht gebildet werden, wie beispielsweise, wie Molisch und Strecker (1909) zeigten, das Scutellarin. Dieser Stoff wurde zudem nur bei einigen Labiaten ausgebildet. Übrigens ist auch daran zu denken, daß wir Fälle ins Bereich der Möglichkeit zu ziehen haben, wo Eiweißstoffe in den Reservestoffen unmittelbar durch die Membranen diosmieren können. Darauf macht Puriewitsch (1898, S. 68) aufmerksam, womit dann die Tätigkeit der proteolytischen Enzyme beim Übertreten der eiweißhaltigen Reservestoffe überflüssig wäre.

Wir wollen aber diesen an sich so einladenden Folgerungen nicht weiter nachgehen. Jeder kann hier, wenn er dem Verständnis näher kommen will, selbst weiter spinnen.

Wir wollen nur noch mit kurzen Worten darauf hinweisen, daß auch die durch die Dunkelheit in der Keimung begünstigten Samen mit unserer Theorie in gute Übereinstimmung gebracht werden können. Denken wir nur z. B. daran, daß eine Reihe fluoreszierender Stoffe, wie Farbstoffe, Alkaloidsalze u. a. im Lichte kräftige biologische Wirkungen äußern. In Konzentrationen, die im Dunkeln kaum einen Einfluß auf Enzyme üben, wirken diese fluoreszierenden Stoffe bei Sauerstoffzutritt im Lichte zerstörend und abtötend. Und derartiger, im Lichte zustandekommende, hemmende Wirkungen chemischer Umsetzungen ließen sich noch eine ganze Reihe weiterer anführen. Es können also durch das Licht wohl auch im Samen ähnliche Reaktionen ausgelöst werden, welche dann dazu führen, daß die betreffenden Dunkelkeimer im Lichte nicht oder nur langsamer zur Keimung zu bringen sind, wenngleich man andererseits vielleicht auch direkt an die Zerstörung besonders labiler Enzyme durch das Licht denken könnte (Kinzel, 1913, S. 112).

Nicht zu verwechseln sind aber natürlich diese Lichtwirkungen mit derjenigen Beeinflussung der Asparaginbildung in Keimlingen durch das Licht, welche früher durch Pfeffer (1872) und Borodin (1876) festgestellt wurde. Aus den Versuchen Pfeffers geht sicher hervor, daß es hier nicht die

direkte Lichtwirkung ist, welche die Anhäufung des Asparagins in jungen Keimpflanzen verhindert. Es kommt vielmehr in den Pflanzen zur Asparaginanhäufung, wenn es an geeignetem stickstoffreiem Material zur Regeneration von Proteinstoffen fehlt.

Mit der sicheren Feststellung, daß proteolytische Enzyme lichtempfindliche Samen im Dunkeln zur Keimung bringen, wo sie unter sonst gleichen Bedingungen nicht keimen, tritt das Problem der Lichtkeimung in ein neues Stadium. Wir sind jetzt nicht mehr auf die Hypothese angewiesen, daß bei diesen Keimungsprozessen katalytische Wirkungen mitspielen, sondern die angestellten Versuche lassen keinen Zweifel mehr, daß es sich dabei wirklich um derartige Prozesse handelt. Es wird nun möglich werden, den Anteil, den die Katalyse an den Lichtkeimungen hat, näher kennen zu lernen und festzustellen, welcher Art katalytische Prozesse an den verschiedenen Keimungs- und Reifeerscheinungen beteiligt sind.

Die Versuche weisen aber dann vor allem darauf hin, wie wichtig eine Untersuchung recht verschiedener Samen auf ihre proteolytischen Enzyme und ihre Eiweißspaltprodukte ist. Eine solche Untersuchung hätte auch in aufeinanderfolgenden Keimungsstadien zu geschehen. Vor allem aber wären andere Samen als unsere Kultursämereien heranzuziehen, welche bisher fast ausschließlich der chemischen Analyse bzw. der Untersuchung auf Enzyme unterzogen wurden. Das ganze Lichtkeimungsproblem hat ja dadurch ungemein gelitten, daß lange Zeit hindurch nur Kultursamen zur Untersuchung benützt wurden. Erst durch Berücksichtigung der Samen wildwachsender Pflanzen war der Lichteinfluß auf die Samenkeimung dargetan. So steht es aber heute bezüglich der chemischen Analyse usw. Sicher werden die vorgetragenen Gesichtspunkte Richtlinien für weitere Versuche abgeben. Vor allem werden Untersuchungen über proteolytische Enzyme und Eiweißspaltprodukte in lichtempfindlichen Samen im Licht und im Dunkeln bei den geeigneten übrigen Bedingungen gehaltenen anzustellen sein.

Das Interesse, welches die hier angeführten Ergebnisse nach sich ziehen, geht aber noch über das engere Gebiet der Lichtkeimung von Samen hinaus. Vor allem werden dieselben nutz-

bar zu machen sein, für alle Fälle, wo es sich um ein Erwecken von Organismen aus einer Ruheperiode handelt.

Nach Klebs (1911, S. 47) kommt es beim Aufheben einer jeden Ruheperiode im wesentlichen darauf an, daß die fermentative Tätigkeit wieder angeregt wird. Wir wissen auch, daß schon heute die Ruhe durch viele verschiedene Mittel tatsächlich verkürzt oder ganz beseitigt werden kann. Kombinierte Wirkungen von höherer Temperatur und Feuchtigkeit (Gewächshaukultur, Warmwassermethode von Molisch) befördern die fermentative Tätigkeit. Ebenso kann vielleicht auch der Einfluß des Äthers darauf zurückgeführt werden. In noch höherem Grade wirkt eine Zufuhr von Nährsalzen. Das hatte Klebs nun schon früher bei einigen grünen Algen gezeigt. Neuerlich aber hat Lakon (1912, S. 579) darauf aufmerksam gemacht, daß eine gesteigerte Nährsalzzufuhr die Knospen der Holzgewächse aus ihrer Ruhe erwecken kann. In der Salzlösung kann Lakon aber mit Klebs nur eine Anregung der Tätigkeit der durch die Anhäufung von Reservestoffen inaktiv gewordenen Fermente erblicken. Aus allerneuester Zeit liegt dann noch eine Abhandlung von Wisniewski (1912) vor, in welcher nun auch die Bedeutung des Lichtes für ein Erwecken von Knospen aus der Ruheperiode dargelegt wird. Der Verfasser zeigte nämlich, daß die Ruheperiode der Winterknospen von *Hydrocharis Morsus ranae* durch Verdunklung verlängert (mindestens 6 Monate) werden kann, ohne daß dabei die Knospen ihre Keimfähigkeit verlören. Ebenso ist die Keimung der Winterknospen von *Utricularia vulgaris* vom Lichte in gewissem Grade abhängig. Wir werden nicht fehlgehen, wenn wir auch hier mit einer katalytischen Wirkung des Lichtes rechnen.

Wie weit aber dann solche katalytische Lichtreaktionen auch auf anderen Gebieten pflanzlicher Lebenserscheinungen in Frage kommen, das steht hier nicht zur Erörterung. Vielleicht läßt sich indessen in der oder jener Richtung auch dort an die hier dargelegten Untersuchungen anknüpfen.

Literaturübersicht.

1. Abderhalden, E., und Dammhahn, Über den Gehalt ungekeimter und gekeimter Samen verschiedener Pflanzenarten an peptolytischen Fermenten. *Zeitschr. f. physiol. Chemie.* 1908. **57**, 332—338.
2. Arthur, J., Delayed germination in the cocklebur and other paired seeds. *Proc. soc. prom. agric. science.* 1895. **16**, 70—79.
3. Baar, H., Über den Einfluß des Lichtes auf die Samenkeimung und seine Abhängigkeit von anderen Faktoren. *Sitzgsber. Ak. Wiss. Wien. Math. nat. Kl. Abt. I.* 1912. **121**, 667 ff.
4. Becker, H., Über die Keimung verschiedener Früchte und Samen bei derselben Spezies. *Diss. Münster.* 1912 und *Beih. bot. Centralbl.* 1912.
5. Beyer. *Landw. Versuchsstat.* 1867. **9**, 168.
6. Bokorny, Enthalten die keimenden Samen peptonisierende oder andere proteolytische Enzyme? *Pflügers Archiv.* 1902. **90**, 34.
7. Borodin, Über die physiol. Rolle und die Verbreitung des Asparagins im Pflanzenreiche. *Bot. Zeitg.* 1878. **36**, 801.
8. Borowikow, G. A., Über die Ursachen des Wachstums der Pflanzen. *Biochem. Zeitschr.* 1913. **48**, 230—246.
9. Bruschi, D., Autolyse im Endosperm des Ricinus. *Atti r. acad. dei Lincei Roma.* 1907. **16**, I, 781.
10. —, Untersuchungen über die Vitalität und die Verdauung der Gramineen. *Ebenda.* 1906. **15**, II, 384.
11. Butkewitsch, W., Über das Vorkommen proteolytischer Enzyme im gekeimten Samen und über ihre Wirkung. *Ber. d. d. bot. Ges.* 1900. **18**, 185 u. 358.
12. —, Über das Vorkommen eines proteolytischen Enzyms im gekeimten Samen und über seine Wirkung. *Zeitschr. f. physiol. Chemie.* 1902. **32**, 1.
13. Crocker, W., Role of seed coats in delayed germination. *Bot. Gaz.* 1906. **42**, 265—291.
14. Czapek, *Biochemie der Pflanzen.* 1905.
15. Detmer, W., Vergleichende Physiologie des Keimungsprozesses. 1880.
16. Emmerling, Die Einwirkung des Sonnenlichts auf die Enzymie. *Ber. d. d. chem. Ges.* 1901. **34**, 3811—3814.
17. Fermi und Buscaglioni. *Centralbl. f. Bakt. II.* 1899. **5**, 63.
18. Fischer, A., Wasserstoff und Hydroxylionen als Keimungsreize. *D. bot. Ges.* 1907. S. 108.
19. Gassner, Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes und des Temperaturwechsels auf die Keimung von *Chloris ciliata*. *Jahrb. d. Hamburg. wissenschaftl. Anstalten.* 1911. **29**. *Beih. Arbeiten d. botan. Staatsinstitute.* S. 1—120.
20. Godlewski, E. sen., Zur Kenntnis der Eiweißbildung in den Pflanzen. *Bull. acad. sc. de Cracovie. Cl. sc. math. et nat.* 1903. 313—380.
21. Gorup-Besanez und Will, H. *Ber. d. d. chem. Ges.* 1874. **7**, 1478.
22. —, —, *Ebenda.* 1875. **8**, 1510.
23. Green. *Phil. trans. roy. soc.* 1887. **39**.
24. —, *Ebenda.* 1886. **41**, 466.
25. —, *Ebenda.* 1890. **47**, 146.

26. Green. Phil. trans. roy. soc. 1891. **48**, 370. 1897. 555.
27. Green, J. R., Die Enzyme, ins Deutsche übertragen von W. Windisch. 1901.
28. Grimmer, W., Zur Kenntnis der Wirkung der proteolytischen Enzyme der Nahrungsmittel. Biochem. Zeitschr. 1907. **4**, 80.
29. Größ, J., Biologie und Kapillaranalyse der Enzyme. Berlin. 1912.
30. Hartig, Th., Entwicklungsgeschichte des Pflanzenkeimes. 1858.
31. Heinricher, E., Beeinflussung der Samenkeimung durch das Licht. Wiesner Festschrift Wien. 1908. S. 263—279.
32. —, Die Keimung von *Phacelia tanacetifolia* Benth. und das Licht. Bot. Zeitg. 1909. **67**, 45—66.
33. Höber, R., Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 3. Aufl. 1911.
34. Jost, L., Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. 1908.
35. Kinzel, W., Über den Einfluß des Lichts auf die Keimung. »Lichtharte Samen«. Ber. d. d. bot. Ges. 1907. **25**, 269—276.
36. —, Frost und Licht als beeinflussende Kräfte bei der Samenkeimung. 1913.
37. Klebs, G., Über die Rhythmik in der Entwicklung der Pflanzen. Sitzgsber. Heidelb. Akad. d. Wiss. 1911. 23. Abh.
38. Lakon, G., Die Beeinflussung der Winterruhe der Holzgewächse durch die Nährsalze. Zeitschr. f. Bot. 1912. **4**, 561—582.
39. Lawrow, D., Zur Kenntnis des Chemismus der peptischen und tryptischen Verdauung der Eiweißkörper II. Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1906. **43**, 447.
40. Lehmann, E., Zur Keimungsphysiologie und Biologie von *Ranunculus sceleratus* und einigen anderen Samen. Ber. d. d. bot. Ges. 1909. **27**, 476—494.
41. —, Neuere Untersuchungen über Lichtkeimung. Jahresber. d. Vereinigung für angewandte Botanik. 1911. **8**, 248—257.
42. —, Temperatur und Temperaturwechsel in ihrer Wirkung auf die Keimung lichtempfindlicher Samen. Ber. d. d. bot. Ges. 1911. **29**, 577—589.
43. —, Über die Beeinflussung der Keimung lichtempfindlicher Samen durch die Temperatur. Zeitschr. f. Bot. 1912. **4**, 465—529.
44. Nabokich, Über die Wachstumsreize. Beih. bot. Centralbl. 1910. **26**, 7—149.
45. Neuberg, Chemische Umwandlungen durch Strahlenarten. Biochem. Zeitschr. 1908. **13**, 365. 1910. **27**, 271. 1910. **29**, 279. 1912. **39**, 158.
46. —, Beziehungen des Lebens zum Licht. Berlin. 1913.
47. Oppenheimer, Fermente. 1909. II.
48. Palladin, W., Pflanzenphysiologie. Berlin. 1911.
49. Pfeffer, W., Untersuchungen über die Proteinkörner und die Bedeutung des Asparagins beim Keimen der Samen. Jahrb. f. wiss. Bot. 1872. **8**, 429—574.
50. —, Über die Beziehung des Lichtes zur Rückbildung von Eiweißstoffen. Bot. Zeitg. 1874. S. 236.
51. —, Pflanzenphysiologie. 2. Aufl. 1897. **1**.
52. Pfenninger, M., Untersuchung der Früchte von *Phaseolus vulgaris* in verschiedenen Entwicklungsstadien. Ber. d. d. bot. Ges. 1909. **27**, 224—227.
53. Puriewitsch, K., Physiologische Untersuchungen über die Entleerung der Reservestoffbehälter. Jahrb. f. wiss. Bot. 1898. **31**, 1—76.
54. Schulze, E., Über den Abbau und den Aufbau organischer Stickstoffverbindungen in den Pflanzen. Landw. Jahrb. 1906. **35**, 621—666.

55. Schulze und Winterstein, Studien über die Proteinbildung in reifenden Pflanzensamen. Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1910. **65**, 431—476.
 56. Scurti und Parrozzani, Über die hydrolytischen Eigenschaften der Crotonsamen. Gazz. chim. ital. 1907. **37**, I, 486.
 57. —, Über die Gegenwart eines proteolytischen Enzyms in den Crotonsamen und über die Wirkung, welche dasselbe auf die mit ihm verbundenen Albuminoide ausübt. Ebenda. 488.
 58. Shull, Ch. A., The oxygen minimum and the germination of Xanthium seeds. Bot. Gaz. 1911. **52**, 453—477.
 59. Stone, G. E., Influence of chemical solutions upon the germination of seeds. Rep. mass. agric. exp. stat. 1901. **13**, 74—83.
 60. Strecker, E., Das Vorkommen des Scutellarins bei den Labiaten und seine Beziehungen zum Lichte. Sitzgsber. Ak. Wiss. Wien. Math. nat. Kl. Abt. I, 2. 1909. **118**, 1379.
 61. Thompson, A., Zum Verhalten alter Samen gegen Fermentlösung. Gartenflora. 1896. **45**, 344.
 62. Vines, The proteases of Plants. Ann. of bot. 1903. **17**, 237. 1904. **18**, 289. 1905. **19**, 545. 1906. **20**, 113. 1909. **23**, 1.
 63. Wassiljeff, N., Die Umwandlung der stickstoffhaltigen Stoffe in reifenden Leguminosensamen. Journ. f. experimentelle Landwirtschaft. (Russisch.)
 64. —, Eiweißbildung in reifenden Samen. Ber. d. d. bot. Ges. 1908. **26a**, 454—467.
 65. Waugh, F. A., The enzymic ferments in plant physiology. Science, N. S. 1897. **6**, 950—952.
 66. Weis, Fr., Studien über proteolytische Enzyme in keimender Gerste (Malz). Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. 1903. **26**, 301.
 67. —, Über das proteolytische und ein eiweißkoagulierendes Enzym in Keimen der Gerste. Zeitschr. f. physiol. Chemie. 1900. **31**, 79 u. a. A.
 68. Wisniewski, P., Beiträge zur Kenntnis der Keimung der Winterknospen der Wasserpflanzen. Bull. d. l'acad. d. sc. Cracovie. 1912. 1045—1060.
 69. Zaleski, W., Über die Bedingungen der Eiweißbildung in den Pflanzen. 1900. (Russisch.)
 70. —, Beiträge zur Kenntnis der Eiweißbildung in reifenden Samen. Ber. d. d. bot. Ges. 1905. **23**, 126—133.
 71. —, Zur Kenntnis der proteolytischen Enzyme der reifenden Samen. Ebenda. 133—142.
 72. —, Über die Rolle des Lichts bei der Eiweißbildung in den Pflanzen. Ebenda. 1909. **72**, 56—62.
-

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Botanik](#)

Jahr/Year: 1913

Band/Volume: [5](#)

Autor(en)/Author(s): Lehmann Ernst, Ottenwälder Albert

Artikel/Article: [Über katalytische Wirkung des Lichtes bei der Keimung lichtempfindlicher Samen. 337-364](#)