Die Eiweißproben, makroskopisch angewendet auf Pflanzen.

Von

Hans Molisch.

Mit 2 Abbildungen im Text.

Im Jahre 1884 hat Sachs[1] ein vorzügliches Verfahren veröffentlicht, um den beiläufigen Gehalt und die Verteilung der Stärke in einem ganzen Pflanzenorgan, z. B. in einem Blatte, zu veranschaulichen, jene Methode, die heute in der Pflanzenphysiologie allgemein als »Sachssche Jodprobe« bekannt ist. Dieses Verfahren hat sich außerordentlich bewährt, wurde der Ausgangspunkt zahlreicher Arbeiten über Kohlensäure-Assimilation, Stärkebildung, Stärkewanderung, Entstärkung und stellt ein gutes Beispiel dafür dar, welch großer Wert einer trefflichen Methode in der Wissenschaft zukommt.

Mit Rücksicht darauf schien es mir schon lange wünschenswert, ein analoges Verfahren für den makroskopischen Nachweis des Eiweißes in Pflanzenorganen oder in der ganzen Pflanze auszuarbeiten und eventuell für wissenschaftliche Fragen zu verwerten. Dies ist mir in der Tat in letzter Zeit bis zu einem gewissen Grade gelungen und im folgenden soll darüber berichtet werden.

Will man in einem Pflanzenteil, z. B. in einem ganzen Blatte von Tropaeolum majus, das sich zur Einübung in vorzüglicher Weise eignet, das Eiweiß nachweisen, so muß das Objekt zunächst einer gewissen Vorbehandlung unterworfen werden und diese ist im großen und ganzen dieselbe wie bei der Sachsschen Jodprobe.

[1]) Sachs, J., Ein Beitrag zur Kenntnis der Ernährungstätigkeit der Blätter. Arb. d. bot. Inst. in Würzburg, III. Bd., 1888, p. 1.

Das Blatt wird zunächst eine Minute in siedendes Wasser getaucht und dann in warmem, etwa 80proz. Alkohol vom Chlorophyll befreit, bis das Blatt ganz weiß erscheint. Während dieser Vorbehandlung wird Eiweiß nicht ausgezogen, denn in siedendem Wasser wird es koaguliert und im Alkohol bleibt es erst recht unlöslich.

Nach solcher Vorbereitung kann dann das Blatt der Eiweißprobe unterworfen werden und wie der Erfolg lehrt, lassen sich die besten unserer Eiweißreaktionen mit Vorteil auf ganze Pflanzen und Pflanzenteile anwenden, so daß man einen guten Überblick über die Verteilung des Eiweißes in der Pflanze erhält.

Das, was über die folgenden Eiweißproben gesagt wird, bezieht sich zunächst auf das grüne Blatt von Tropaeolum majus.

1. Die Xanthoproteïnsäurereaktion. Bringt man das abgebrühte und von Farbstoffen befreite Blatt in eine verdünnte Salpetersäurelösung[1] (1 Volum käufliche konzentrierte Salpetersäure und 2 Volumen destilliertes Wasser), so nimmt es nach wenigen Minuten eine schwachgelbe Färbung an. Es ist aber zweckmäßig, das Blatt $^1/_2$ bis 1 Stunde darin zu belassen, bis der gelbe Ton seine größte Intensität erreicht hat. Darauf überträgt man das Blatt in eine verdünnte Ammoniaklösung (1 Volumen käufliches Ammoniak und 2 Volumen Wasser). Hier wird die gelbe Färbung des Blattes wesentlich verstärkt. Es wird nach etwa 10 Minuten intensiv kanariengelb.

Ich arbeitete zuerst mit konzentrierter Salpetersäure und konzentriertem Ammoniak, allein ich konnte mich alsbald überzeugen, daß die Reaktionen auch mit so verdünnten Reagentien, wie ich sie vorhin angegeben habe, sehr gut gelingen. In so verdünnter Form greifen die Reagentien die Gewebe nur mäßig an und belästigen den Arbeitenden fast gar nicht.

Es empfiehlt sich, die beiden Flüssigkeiten in mittelgroßen, zylindrischen Glasgefäßen ($^1/_2$ bis 1 Liter) mit weitem Hals und wohl eingeriebenem Stöpsel aufzubewahren. Man verhindert so die Verdampfung der Flüssigkeiten, schützt sich vor den Dämpfen und kann überdies ein- und dieselbe Flüssigkeit für zahlreiche Versuche immer wieder von neuem verwenden.

[1]) Vergilbte Blätter werden, wenn sie in die verd. Salpetersäurelösung getaucht werden, nach kurzer Zeit zunächst schwach lachsrot. Eine Ausnahme bildet das Blatt von Tropaeolum, die Ursache dieser Färbung kenne ich nicht.

2. Die Biuretprobe. Das abgebrühte und von grünem und gelbem Farbstoff befreite Blatt wird zunächst in eine 5 proz. Lösung von Kupfersulfat auf eine bis mehrere Stunden eingelegt, dann im destillierten Wasser wenige Sekunden abgespült und schließlich in 10 proz. wässerige Kalilauge übertragen. Sowie diese in das Blatt eindringt, färbt es sich deutlich violett. Nach mehreren Stunden hat die Färbung gewöhnlich ihren höchsten Grad erreicht.

3. Die Millonsche Probe. Das in der angegebenen Weise vorbehandelte Blatt wird in Millons Reagens übertragen. Schon nach $^1/_2$ bis 1 Stunde färbt sich das Blatt intensiv ziegelrot.

Die angeführten Eiweißreaktionen lassen sich also, vorausgesetzt, daß die Blätter zuvor von ihren Farbstoffen befreit wurden, dazu benutzen, das Eiweiß im ganzen Blatte makroskopisch zur Anschauung zu bringen, und aus der Intensität der Reaktion läßt sich auch ein beiläufiger Schluß auf die Eiweißmenge ziehen.

So wie sich aber für die Sachssche Jodprobe nicht jedes Blatt eignet, so auch bei der Eiweißprobe. Die besten Dienste leisten Blätter, die, wie das Tropaeolumblatt, nach der Vorbehandlung weiß erscheinen und die keine die Eiweißreaktionen störenden Substanzen enthalten. Vorzügliche Resultate erhielt ich mit Tropaeolum majus, Phaseolus multiflorus, Brassica olearacea, Sparmannia africana, Abutilon-Arten u. a.

Blätter von Cercis siliquastrum, Robinia pseudacaia und von anderen, die neben Eiweiß auch Stoffe enthalten, welche mit den Eiweißreagentien gleichfalls verschiedene Färbungen geben und daher die Eiweißreaktion mehr oder minder maskieren, geben weniger brauchbare Resultate.

So wird das Blatt von Cercis, gleichgültig ob früher grün oder vergilbt gewesen, beim Eintauchen in die Salpetersäure rot, dann gelbbraun und beim Übertragen im Ammoniak gleichmäßig rotbraun. Ein solches Blatt ist daher für unsere Zwecke unbrauchbar.

Sehr dünne Blätter wie die von Adiantum capillus veneris oder Elodea canadensis eignen sich gleichfalls nicht besonders für unsere Methode, da die Färbung wegen der zu geringen Blattdicke zu wenig intensiv ausfällt.

Bei der Interpretation der erhaltenen Färbungen wird man

mit der nötigen Vorsicht vorgehen und immer möglichst viele Eiweißreaktionen anwenden müssen, stets eingedenk der Tatsache, daß keine der bekannten Eiweißproben eindeutig ist und daß auch schon manche Abbauprodukte der Proteïnkörper dieselben Reaktionen geben[1].

Unter Berücksichtigung dieser Vorsichten und bei Anwendung von für unsere Zwecke tauglichen Blättern und anderen Pflanzenobjekten können die Eiweißproben bei makroskopischer Durchführung für manche Fragen herangezogen werden, wie aus folgendem zu ersehen ist.

a) Die Verteilung des Eiweißes in der Pflanze.

Wird ein Keimling, z. B. vom Kohl, mit einigen Primordialblättern einer der genannten Eiweißproben unterworfen, so läßt sich aus der Färbung und ihrer Intensität ein beiläufiger Rückschluß auf die Lagerung und den Gehalt des Eiweißes in der Pflanze machen. Die intensivste Färbung zeigen die Blätter, eine geringere die Stengel. Innerhalb der Wurzel erscheint das Eiweiß ganz besonders in der Spitze und ihrer nächsten Umgebung gehäuft. Vegetationspunkte enthalten stets viel Eiweiß. Will man die im jungen Wurzelkörper noch verborgenen Vegetationspunkte, die die Nebenwurzeln liefern, unterm Mikroskop deutlich machen, so bediene man sich der Eiweißproben. — Ähnliches läßt sich auch über die Verteilung des Eiweißes an Keimlingen von Nicotiana und Reseda beobachten.

b) Die Auswanderung des Eiweißes während der Vergilbung.

Wenn man ein normales und ein vergilbtes Tropaeolum-Blatt der Eiweißprobe in der früher angegebenen Weise unterzieht, so ergibt sich zwischen beiden ein sehr großer Unterschied. Schon unmittelbar nach der Extraktion der Farbstoffe zeigen die beiden Blätter eine recht merkbare Verschiedenheit. Beide sind zwar farblos, aber während das früher grüne Blatt trüb und undurchsichtig ist, ist das früher gelbe

[1]) Krasser, F., Untersuchungen über das Vorkommen von Eiweiß in der pflanzlichen Zellhaut usw. Sitzgsber. d. k. Akad. d. Wiss. in Wien, Jahrg. 1886, 1. Abt., p. 118.

Blatt glasig und durchscheinend. Und wenn man dann auf die beiden Blätter die Eiweißproben anwendet, so ergibt sich, daß das nicht vergilbte Blatt die Reaktion sehr deutlich, das vergilbte aber gar nicht oder ganz schwach zeigt. Der Unterschied ist höchst auffallend, besonders bei Heranziehung der Xanthoproteïnsäure- und der Millonschen Reaktion.

Die Ursache des großen Unterschiedes wird sofort klar, wofern man Querschnitte der Blätter mikroskopisch untersucht. Dann zeigt sich, daß das Stroma der Chromatophoren in dem vergilbten Blatte vollständig verschwunden ist.

Untersucht man ein lebendes, ganz vergilbtes Blatt, so sieht man anstatt der Chlorophyllkörner krümelige Massen oder stark glänzende Tröpfchen von orangegelber Farbe, die mit konzentrierter Schwefelsäure sehr deutliche Carotin-Reaktion geben. Die Prüfung des lebenden Blattes könnte den Beobachter noch im Zweifel lassen, ob mit dem Chlorophyllfarbstoff auch das Stroma des Chlorophyllkorns verschwunden ist.

Untersucht man aber ein vergilbtes Blatt, nachdem es mit warmem Alkohol behandelt und von den gelben Farbstoffen[1] völlig befreit worden war, so weicht jeder Zweifel, daß auch das Stroma während des Vergilbungsprozesses verschwunden ist. Fig. I und II. Von den Chromatophoren ist keine oder fast keine Spur zu sehen und die Zelle enthält nur einen dünnen Plasmaschlauch, einen Kern und reichlich Zellsaft.

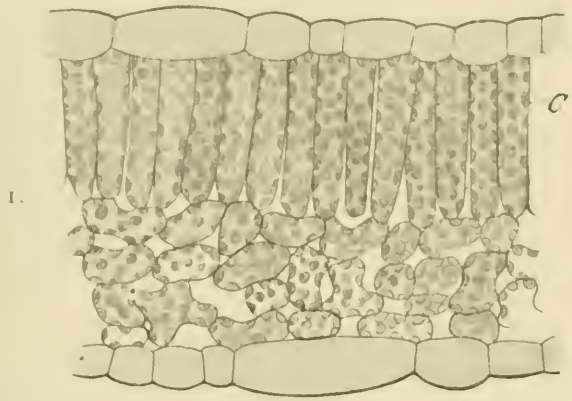
Ich sagte vorhin, die Chromatophorensubstanz sei verschwunden, ich sagte absichtlich nicht, sie sei ausgewandert, denn merkwürdigerweise verschwinden die Chromatophoren auch in Blättern, die in grünem Zustande am oberen Ende des Blattstiels abgeschnitten und dann mit der Oberseite auf Wasser gelegt oder in dunstgesättigtem Raume aufgehängt werden.

Solche Blätter vergilben nach und nach, im Finstern rascher als im Lichte, denn Abschluß von Licht begünstigt die Vergilbung. Aber obwohl sie vom Mutterstocke losgelöst sind, bieten die vergilbten Zellen im Mikroskope denselben Anblick wie am Stocke vergilbte, und doch war in den abgeschnittenen Blättern

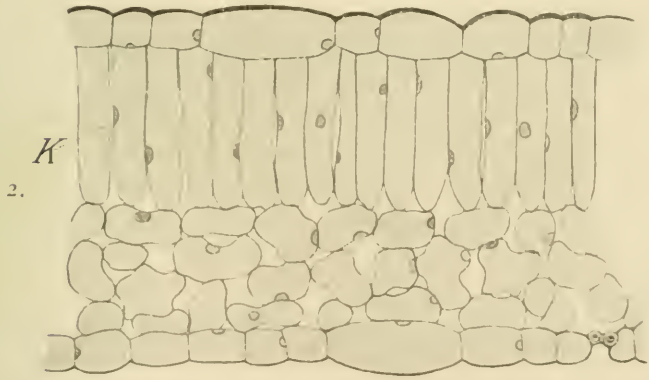
[1]) Tswett, M., Über das Pigment des herbstlich vergilbten Laubes. Ber. d. Deutsche bot. Ges., 1908, Jahrg. 26, p. 94.

eine Auswanderung nicht möglich. Daraus muß man schließen, daß die plasmatische Grundlage der Farbstoffträger in andere

Fig. 1 u. 2. Querschnitt durch das Blatt von Tropaeolum majus. Vergr.: 450.



1. Grünes Blatt. Die Mesophyllzellen mit vielen Chlorophyllkörnern c.



2. Vergilbtes Blatt nach Extraktion der gelben Farbstoffe. Die Zellen enthalten keine Chromatophoren, sondern nur äußerst dünne Plasmabeläge, Kerne K und Zellsaft.

lösliche Stoffe umgewandelt worden sein mußte, auch wenn die Möglichkeit einer Ableitung der Abbauprodukte nicht gegeben ist.

Ich zweifle aber nicht, daß bei an der Mutterpflanze

vergilbenden Blättern diese Umwandlungsstoffe wirklich auswandern und von der Pflanze weiter verwertet werden.

Die Auswanderung gewisser Stoffe, namentlich des Kali und der Phosphorsäure, geht schon aus älteren und aus neueren, von Swart[1] mit Sorgfalt durchgeführten Untersuchungen hervor.

Dieser konnte ziffernmäßig zeigen, daß die Blätter in der kurzen Zeit vor ihrem Abfall während der Verfärbung einen Verlust an Kali und insbesondere an Stickstoff und Phosphorsäure erleiden (p. 68), wodurch die Angaben älterer Autoren über die Auswanderung der genannten Stoffe bestätigt wurden,

In Übereinstimmung mit den eben erwähnten analytischen Ergebnissen stehen die Resultate der von mir makroskopisch verwendeten Eiweißreaktionen, denn sie demonstrieren in ebenso einfacher als anschaulicher Weise ad oculos den bedeutenden Unterschied im Eiweißgehalt zwischen einem grünen und einem vergilbten Blatt. Das vergilbte enthält, obwohl lebend, im Gegensatz zu einem grünen nur sehr geringe Mengen von Eiweiß, und dieser Eiweißmangel beruht zweifellos in erster Linie auf einer Lösung und einem Abbau der Chromatophoren. — Von Kienitz-Gerloff[2] ist behauptet worden, daß bei der Vergilbung das Plasma — abgesehen von dem der Schließzellen — aus allen Zellen bis auf geringe desorganisierte Reste auswandert. Demgegenüber bemerkt Swart (p. 81), daß er die Angaben von Kienitz-Gerloff nicht bestätigen kann und dies steht wieder in voller Übereinstimmung mit meinen Beobachtungen. Die vollständig vergilbten Blätter haben zwar keine Chromatophoren, wohl aber Plasma, Zellsaft und Kern. —

Es mag sein, daß auch aus dem Plasma während der Vergilbung Eiweißstoffe auswandern und das Plasma-Volum dadurch eine Einbuße erleidet. Aber der lebendige Leib der Zelle und der Kern werden dabei nicht zerstört, sie bleiben erhalten und damit auch das Leben der Zelle. Ich betone das letztere, weil man früher ein vergilbtes Blatt für ein totes ge-

[1]) Swart, N., Die Stoffwanderung in ablebenden Blättern. Jena 1914. Hier auch die einschlägige Literatur.

[2]) Kienitz-Gerloff, F., Die Plasmaverbindungen zwischen benachbarten Gewebselementen in der Pflanze. Bot. Ztg. 1891, p. 57.

halten hat. Daß dem aber nicht so ist, hat bereits Tswett[1] gegenüber Wehmer hervorgehoben.

Die makro- und mikroskopische Eiweißprobe lehrt, daß die Hauptmasse des Eiweißes der Blätter in den Chromatophoren steckt. Daher geben die grünen Blätter eine intensive und ganz vergilbte eine äußerst schwache Reaktion. In den letzteren fehlen eben die Chromatophoren.

Der Umstand, daß der größte Teil des Eiweißes seinen Sitz in den Chromatophoren hat, ist auch der Grund, warum man Schwankungen im Eiweißgehalt eines grünen Blattes durch die makroskopische Eiweißreaktion nicht angezeigt erhält; es ist eben mit dem Stroma der Chromatophoren schon so viel Eiweiß gegeben, daß man immer ein gutes positives Resultat erhält und Änderungen der Proteïnmenge in der Zelle daher nicht erkannt werden können. Insofern vermag sich meine makroskopische Eiweißprobe mit der Sachsschen Jodprobe nicht zu messen. Die grünen Blätter können leicht ganz entstärkt werden, ohne daß sie in ihrer normalen Funktion gestört werden. Jedes Wiederentstehen von Stärke kann dann leicht nachgewiesen werden. Analoges trifft in bezug auf das Eiweiß nicht zu.

Eine nahezu völlige Eiweißentleerung des Blattes findet ja nur bei der Vergilbung statt; aber dann kann das Blatt nicht mehr normal arbeiten und wahrscheinlich auch nicht mehr Eiweiß neu erzeugen.

Immerhin bietet jedoch, wie wir gesehen haben, die makroskopische Anwendung der Eiweißproben dem Physiologen Vorteile, insbesondere wenn man approximativ über die Verteilung des Eiweißes in einem Organ rasch einen Überblick gewinnen oder das Verschwinden des Proteïns beim Vergilbungsprozeß in ebenso einfacher als auch deutlicher Weise veranschaulichen will.

[1]) Tswett, Über die Verfärbung und die Entleerung des absterbenden Laubes. Ber. d. d. bot. Ges. 1908. Bd. 26a, p. 88.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Zeitschrift für Botanik

Jahr/Year: 1916

Band/Volume: 8

Autor(en)/Author(s): Molisch Hans

Artikel/Article: Die Eiweißproben, makroskopisch angewendet auf Pflanzen. 124-131