

# BEITRAG ZUR KENNTNIS DES N-STOFFWECHSELS VON SINAPIS ALBA, BESONDERS IN BEZUG AUF DAS LICHT

von

W. J. KABOS.

## I. KAPITEL

### Einleitung.

Der erste Anlaß zu den nachfolgenden Untersuchungen war die von Laurent & Marchal (31) veröffentlichte Arbeit über den Einfluß des Lichtes auf den Eiweißstoffwechsel.

Die beiden Forscher haben besonders an *Sinapis alba* zu beweisen gesucht dasz die Eiweiß-synthese im direkten Sinne vom Lichte abhängig sei und den kurzwelligen Strahlen ein synthesesfördernder Einfluß zukomme.

Aus verschiedenen Gründen schien es mir notwendig diese Arbeit nachzuprüfen und noch einmal die Bearbeitung des Problems der Lichtwirkung in die Hand zu nehmen.

Die Lichtfrage ist schon vielfach erörtert worden.

Der Beweis eines positiven Lichteinflusses läßt sich nicht leicht erbringen, denn die Möglichkeiten einer Lichtwirkung sind vielfältig. Am besten kann man, um sich einen guten Begriff zu bilden über diese Möglichkeiten, das von Ullrich (88) 1924 ausgearbeitete Schema verwenden. Ich gebe es einigermaßen ergänzt wieder.

Der Lichteinfluß kann sein:

1. Direkt.

Hierbei lassen sich 2 Fälle unterscheiden:

a. Photokatalyse.

Das Licht spielt die Rolle eines Katalysators, d.h. übt einen beschleunigenden oder verzögernden Einfluß aus, ohne dasz irgendwie eine Energie-aufnahme stattfindet.

b. Photosynthese.

Die Lichtenergie wird verwendet.

2. Indirekt.

Diese Einflüsse sind sehr wichtig, denn andere Stoffwechsel-

vorgänge die mit dem Eiweißstoffwechsel zusammenhängen und z.B. die Assimilation im Dunkeln völlig ausscheiden, werden den Eiweißumsatz stark beeinflussen können.

a. Permeabilitätserhöhung.

Die vom Lichte hervorgebrachte Permeabilitätserhöhung bewirkt eine grözere Salzaufnahme.

Es lässt sich nicht mit Sicherheit feststellen ob das Licht die Permeabilität wirklich erhöht, denn die Untersuchungen über diese Frage stimmen keineswegs mit einander überein.

b. Transpirationserhöhung.

Dittrich 1931 (9) hat auf die Transpirationssteigerung im Lichte hingewiesen. Diese bewirkt eine Beschleunigung der Salzaufnahme.

c. C-Assimilation.

Die Assimilation kann nur im Lichte stattfinden und liefert die für die Eiweißbildung notwendigen C-Körper.

d. Innenatmosphäre.

Das „Spiel“ der Stomata ist sehr wichtig für die Zusammensetzung der Atmosphäre in der Pflanze. Wenn z.B. der Sauerstoff beim Eiweißstoffwechsel eine Rolle spielt, so werden die Bewegungen der Stomata den Gaswechsel regulieren.

Beim Studium des Problems des Lichteinflusses ist es sehr wichtig ob man imstande ist diese Möglichkeiten zu unterscheiden.

Im Grunde handelt es sich nur um einen direkten Einfluss, denn niemand wird dem Lichte einen indirekten Einfluss absprechen.

Der Prozess der N-Assimilation besteht aus einer Reihe unterschiedlicher Einzelreaktionen.

Es lassen sich wahrscheinlich drei Hauptstufen erkennen:

1. Nitratreduktion.
2. Aminosäurebildung.
3. Zusammenschluss der Aminosäureketten zum Eiweißmolekül.

Von diesen drei Stufen ist die zweite am wenigsten bekannt, weil die Zusammenhänge des Eiweißstoffwechsels mit der CO<sub>2</sub>-Assimilation nicht klar sind.

Ich habe mich darauf beschränkt hauptsächlich den Lichteinfluss beim dritten Prozess zu studieren. Zu diesem Zwecke habe ich die Änderungen des Eiweißspiegels verfolgt.

## II. KAPITEL.

### Literaturübersicht.

Die ältesten erwähnenswerten Auffassungen, über den Einfluss des Lichtes auf den Eiweißstoffwechsel findet man bei Pfeffer

1872 (62). Dieser Forscher meinte aus seinen Versuchen schliessen zu dürfen, dass die Regeneration der Eiweiszstoffe unabhängig vom Lichte sei. Die Kohlenhydrate nehmen, seiner Ansicht nach, eine für die Eiweiszbildung sehr wichtige Stelle ein.

Er schreibt dem Lichte nur einen indirekten Einfluss zu, insofern die Bildung der KH im Lichte ermöglicht wird.

Pagnoul 1879 war einer anderen Meinung. Er behauptete dass keine Nitratverarbeitung möglich sei, ohne Mitwirkung des Lichtes. Es soll einen Einfluss ausüben der dem Einfluss auf die Kohlensäureassimilation analog ist.

Wie im ersten Abschnitt schon bemerkt wurde, lassen sich 3 Stufen unterscheiden bei der N-Assimilation. Die nach Pagnoul auftretenden Forscher beschäftigten sich entweder allein mit der Aufnahme und Reduktion der Nitrate, oder nur mit dem eigentlichen Eiweiszbildungsprozess.

Molisch 1887 (39) untersuchte Aufnahme und Verarbeitung der Nitrate im Lichte und Dunkeln. Er verwendete abgeschnittene Blätter von Bohnen und Maispflanzen. Zuerst liess er diese Pflanzen Nitrate speichern und als die Blätter eine starke Blaufärbung mittels Diphenylamin aufwiesen, stellte er eine Hälfte der Portionen ins Dunkelzimmer, die andere wurde der Belichtung ausgesetzt. Nach Ablauf der Versuchsdauer liess sich bei den Dunkelpflanzen mehr Nitrat nachweisen als bei den Lichtpflanzen.

Er bestimmte den Nitratgehalt mittels einer qualitativen Reaktion und meinte aus seinen Versuchen die Schlussfolgerung ziehen zu können, dass die Nitratreduktion durch das Licht günstig beeinflusst wurde.

Schimper 1888—90 (70, 71) beobachtete ebenfalls eine schnellere Nitratverarbeitung im Lichte und erkannte dem Chlorophyll eine wichtige Rolle zu. Die Meinung Schimpers wurde weiter von Meyer (33) u. Saposchnikoff (69) verteidigt. Dieser letztgenannte Forscher glaubte dass Eiweisz überhaupt nur in den Chloroplasten gebildet werden kann.

Ihm pflichtete später Ullrich (l.c.) bei, während Schumacher (74, 75) aus seinen Versuchen schloss dass dem Protoplasma die ausschlaggebende Rolle zukommt.

Kinoshita 1894—1897 (23) beobachtete Eiweiszbildung im Dunkeln unter der Bedingung dass genügend KH vorhanden waren.

Suzuki 1897—98 (82, 83, 84) arbeitete mit Helianthusblättern und Gerstenkeimpflanzen. Er beobachtete während der Nacht Eiweiszabnahme und schrieb sie KH-Mangel zu. Bei den Gerstenkeimpflanzen liess sich, falls die Zuckerkonzentration nicht zu

gering war, Eiweiszbildung im Dunkeln feststellen. Wenn der Zuckergehalt 1% war, liesz sich keine Eiweiszneubildung erzwingen.

Zaleski 1897—1899 (95. 97) behauptete dasz Eiweisz-aufbau und -Abbau in der lebenden Zelle zugleich immer nebeneinander stattfinden, ohne dass dem Lichte eine Rolle zukommt. Die wichtigste Bedingung für eine überwiegende Synthese bildet der KH Gehalt.

Nach Zaleski lässt sich die Eiweiszabnahme die im Dunkeln stattfindet, durch Zugabe von Glyzerin oder Zucker hemmen.

Seine Versuchsobjekte bildeten Helianthusblätter und Zwiebeln der *Allium Ceba*.

Hansteen 1896—1899 (19,20) arbeitete mit Lemna. Wenn er diesen Pflanzen Asparagin und Zucker zuführte, liesz sich ohne Beleuchtung eine ausgiebige Eiweiszbildung feststellen. Er verglich eine grosze Anzahl Kombinationen von Aminosäuren und Zuckern und konstatierte, dasz nicht jede Säure mit jedem Zucker eine Eiweiszbildung zur Folge hat. So war es z.B. unmöglich Leucin und Rohrzucker zu kombinieren.

Harnstoff wurde schnell mit Glukose verarbeitet. Ohne fördernden Lichteinflusz entstand Eiweisz aus  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  und Glukose, und diese Eiweiszbildung setzte mit ebenso groszer Leichtigkeit ein, wie die aus Asparagin und Glukose.

Aus seinen sehr ausführlichen, leider nur qualitativen Untersuchungen schloss Hansteen, dasz die alte Meinung Pfeffers, welche dem Lichte nur einen indirekten Einflusz beimasz, als eine unbestrittene Tatsache nicht eines weiteren Beweises bedürfe.

Palladin 1899 (54) änderte die Anschauungen über die Lichtfrage mit seiner Behauptung dasz Eiweiszbildung im Dunkeln möglich, im Lichte aber gröszer sei. Er betonte zugleich dasz im kurzwelligen Teil des Spektrums eine ausgiebigere Eiweiszbildung stattfinde. In seinen Versuchen verwendete er Keimpflanzen und stellte eine Hälfte der Portionen unter eine blaue, die andere unter eine gelbe Glasglocke.

Wie Gouwentak (15) in ihrer Arbeit schon bemerkt hat, enthalten diese Ergebnisse nur eine sehr geringe Beweiskraft.

Godlewski 1897 (13. 14) behauptete dasz im Dunkeln keine Eiweiszbildung möglich sei, aber seit 1903 stellt er den, nunmehr auch im Dunkeln stattfindenden, Aufbau vom KH Gehalt abhängig.

Das Licht hat, nach Godlewski, einen indirekten und auch einen direkten Einflusz. Er hat ihn mit seinen Versuchen in Kohlen-

säurefreier Atmosphäre zu beweisen gesucht.

Hier konstatierte er eine eingeschränktere Abnahme als im Dunkeln.

Im Kohlensäurefreien Raum ist die  $\text{CO}_2$ -Assimilation geradezu ausgeschaltet worden. Durch seine Trockengewichtsbestimmungen meinte er den Beweis geliefert zu haben, dasz die Assimilation tatsächlich völlig unterbunden gewesen sein soll.

Laurent & Marchal 1903 (l.c.) arbeiteten u.a. mit *S. alba* und meinten annehmen zu dürfen dasz im Dunkeln eine Eiweißbildung auf Kosten der  $\text{NH}_4$ -Salze und Nitrate unmöglich sei.

Sie stellten Portionen von 5 g Samen unter verschiedenfarbige Glasglocken.

Die Tabelle war:

Dunkelpflanzen	Eiweiß	— 143.4 mg
Lichtpflanzen		— 172.3 „
Unter Glasgl. mit $\text{Cu SO}_4 \text{ NH}_4 \text{ OH}$		— 158.9 „
„ „ „ $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$		— 151.4 „
„ „ „ Chininsulfat		— 146.8 „

Aus diesen Ergebnissen schlossen sie dasz die Eiweißbildung die im Lichte sehr aktiv ist, in günstigem Sinne von den Strahlen des brechbareren Teils des Spektrums beeinflusst wird.

Zaleski 1909 (97) hielt die Laurent & Marchalsche Versuche für wenig beweiskräftig und unfähig das Problem zu lösen. Seine eigenen Versuche mit *Helianthus*blättern ergaben dasz im Dunkeln auf einer 10% Zuckerlösung annähernd 100% mehr Eiweiß gebildet wurde als auf einer 5% Lösung.

Er folgerte, dasz der direkte Einflusz des Lichtes keineswegs sicher sei.

Moore 1919 (40) wies auf die Nitratreduzierende Wirkung des Lichtes hin. Er glaubte dasz in den Pflanzen dem Lichte eine ähnliche Wirkung zukomme.

Warburg & Negelein 1920 (90) verwendeten eine einzellige Alge *nl. Chlorella*.

Sie bestimmten den  $\text{CO}_2$ -Gehalt und es gelang ihnen die Atmungs- $\text{CO}_2$  von der  $\text{CO}_2$  der Nitratreduktion zu trennen. Mittels  $\text{HCN}$  liesz sich die Nitratreduktion sehr leicht verhindern. Es bildet sich infolge der Reduktion  $\text{NH}_3$ . Im Lichte ohne Kohlensäure findet  $\text{O}_2$ -Bildung statt, weil die  $\text{CO}_2$  der Nitratreduktion verarbeitet wird.

Dieser sog. Extrasauerstoff war mit der Extrakohlensäure zu

vergleichen. Die Extrasauerstoffbildung im Lichte war gröszer als die im Dunkeln stattfindende Extrakohlensäureausscheidung. Es war also deutlich dasz die Verarbeitung der Nitrate im Lichte intensiver ist als im Dunkeln. Sie schrieben es der Permeabilitäts-erhöhung durch das Licht zu.

M u e n s c h e r 1923 (46) arbeitete ebenfalls mit Chlorella.

Er wies auf die Tatsache hin dasz sich in der Literatur wenig Beweise dafür finden dasz im Dunkeln Eiweiszstoffe gebildet werden können.

Er züchtete Chlorella-Kulturen in Erlenmeyerkolben. Darin wurden pro Kolbe 2 Tropfen einer Chlorella-Suspension inokuliert und eine N-haltige Nährlösung zugeführt.

Er setzte einen Teil der Kulturkolben dem Lichte aus, den anderen Teil liess er im Dunkeln stehen. Von jeder Portion wurde das Trockengewicht und Tot-N bestimmt. Aus der Zunahme des Trockengewichts und des Tot-N schloz M u e n s c h e r dasz Proteinsynthese im Dunkeln möglich ist. Er äuszerte sich folgenderweise: „How otherwise could the inoculum, a few algal cells in two drops of nitrogen-free solution build up enough protoplasm to supply a quantity of cells represented in a volume of 1.5 cc or 251 mg of dry weight“.

Wenn der N in Nitratform dargeboten wurde war die Tot-N-Zunahme gröszer als auf  $\text{NH}_4$ -Salzen.

S o p h i a E c k e r s o n 1924 (10) bestimmte mittels qualitativer Reaktionen Nitrate, Nitrite,  $\text{NH}_3$  und Aminosäuren. Sie konnte niemals irgend einen Lichteinflusz feststellen. Die Nitratreduktion, in der lebenden Pflanze war während drei Tagen im Dunkeln ebenso intensiv wie im Lichte.

Später traten Differenzen auf, welche sie nicht erklären konnte.

Ü l l r i c h 1924 dessen Schema oben wiedergegeben wurde, beobachtete Eiweiszbildung in den Chlorophyllkörnern. Er äuszerte sich aber nicht über Lichteinflüsse.

G o u w e n t a k 1929 (loc. c.) veröffentlichte eine Arbeit aus dem hiesigen Institut. Sie studierte den Eiweiszstoffwechsel bei *Helianthus annuus* am Tage und über Nacht. Die Blätter waren nachts imstande Eiweisz auf- und abzubauen.

Sie betonte dasz der vermeintliche Nachtstoffwechsel und Tagesstoffwechsel, wie C h i b n a l l (6,7) und M o t h e s es sich dachten eine haltlose Fiktion war. Diese Meinung wurde schon von W e e v e r s (93) bezweifelt. •

D i t t r i c h 1931 (9) beobachtete dasz die Stellen wo Nitratreduktion stattfindet grüne Blätter sind.

Aufnahme und Verarbeitung der Nitrate sind im Lichte gröszer,

weil die Transpiration gröszer ist und infolgedessen mehr aufgenommen wird.

Smirnow 1928 (77, 78) bestätigte die Untersuchungen von Petrow (61) und Schulow (64) und beobachtete Eiweiss-synthese auf Kosten der zugeführten KH und  $\text{NH}_4$ -Salze. Im Falle des KH-Mangels wird  $\text{NH}_3$  aufgespeichert und dieses Ammoniak kann unabhängig vom Lichte, bei Zugabe von Zuckern verwendet werden um ausser Amide auch Eiweisse über Aminosäuren zu bilden.

Kultscher 1932 betonte nochmals die schon öfters erwähnte Tatsache dasz eine Pflanze im Dunkeln anfängt die Eiweissstoffe abzubauen. Bei diesem Abbau häuft sich Ammoniak an.

Dieser Giftstoff wird entgiftet und von den sog. Amidpflanzen zu Amiden umgebildet, von den Säurepflanzen dagegen in Oxalatform angehäuft.

Es gelang Kultscher Eiweissneubildung auf Kosten des Harnstoffs, Asparagins u.s.w. und Glukose im Dunkeln zu erzwingen.

In den meisten Arbeiten der verschiedenen Forscher wird gezeigt dasz nach Verdunkelung eines Pflanzenteiles oder einer Pflanze Eiweissabbau einsetzt.

Diese Abnahme kann man durch KH-Zufuhr hemmen. Nach Gouwentak und Mothes ist die Hemmung der Eiweissabnahme von der Konzentration der zugeführten Kohlenhydrate im höchsten Grade abhängig. Mothes gibt an dasz die Senkung des Eiweissgehalts sich mittels 1 à 2% Glukoselösung verhindern lässt und dasz bei höheren Konzentrationen Synthese eintritt.

Es leuchtet ein dasz die im Dunkeln einsetzende Eiweissabnahme dem KH-Mangel zu verdanken ist.

Eine völlig neue Ansicht des Eiweissstoffwechsels wurde 1933 von Mothes (45) vertreten. Der allgemeine Regulator der ganzen N-Assimilation ist nach diesem Forscher der Sauerstoff.

Das Sauerstoffpotential das in den Zellen herrscht ist der Hauptfaktor. Eine hohe  $\text{O}_2$ -Tension hemmt den Eiweissabbau, eine niedrige bewirkt Senkung des Eiweisspiegels.

Stellt man eine Pflanze ins Dunkel, dann fängt Eiweissabbau sofort an, und dieser ist nach Mothes die Folge des Schliessens der Stomata, das das Oxydationspotential der Zellen erniedrigt.

Das Licht spielt eine indirekte Rolle beim Eiweissstoffwechsel. Die Sauerstofftension ist übrigens eng verbunden mit den anderen Prozessen, welche in der Pflanze vorgehen n. Assimilation und Atmung.

Über früheren Meinungen nach denen die Chloroplasten die

Stellen seien, wo Eiweißstoffe gebildet werden, wie z.B. Meyer (33), Ullrich und Schumacher (l.c.) meinten, liesze sich nach Mothes noch streiten.

Mothes hatte schon 1928 gezeigt dasz dem Sauerstoff eine wichtige Rolle bei der Amidbildung zukommt. Die Frage des Sauerstoffes hatten Zaleski 1901 und Palladin 1888 zu lösen versucht.

Erstgenannter Forscher beobachtete einen vom atmosphärischen Sauerstoff abhängigen Eiweißaufbau.

Er zerschnitt Zwiebeln und erlangte einen Eiweißaufbau der vom freien  $O_2$  abhängig war, denn der beim Zerschneiden einsetzende Aufbau blieb aus, wenn er die Zwiebeln in einen Sauerstofffreien Raum stellte.

Palladin 1888 beobachtete einen vom atmosphärischen  $O_2$  unabhängigen Eiweißaufbau.

Wie stellt Mothes sich die regulierende Wirkung des Sauerstoffes vor? Von Waldschmidt-Leitz (91, 92) und Graszmann (16, 17, 18) wurde gezeigt dasz im tierischen Gewebe die Proteinase aktiviert wird. Der Aktivator war ein reduziertes Glutathion das SH-Gruppen enthält.

Durch O-Aufnahme werden diese in S-S umgebildet. Der Aktivator wird unwirksam und deshalb bleibt weitere Proteolyse aus.

Mothes möchte einen dem Glutathion ähnlichen Körper für die Pflanzen annehmen d.h. einen SH-Gruppen enthaltenden Aktivator, der vom Luftsauerstoff geändert wird, wodurch die Aktivierung aufhört.

Das Eiweißspaltende Ferment befindet sich nach Mothes im aktivierten Zustande in der Pflanze und wird inaktiviert wenn der Sauerstoff den begleitenden Faktor (Aktivator) durch Oxydation unwirksam macht.

Auf diese Weise stellt Mothes sich den Zusammenhang zwischen  $O_2$  und dem Eiweißstoffwechsel vor obwohl er angibt dasz der Aktivator ein ganz anderer ist als das Glutathion.

K Paech (51, 52) kritisierte in seiner Arbeit 1935 die Mothesche Sauerstofftheorie. Er beobachtete dasz  $O_2$ -Mangel keineswegs einen explosionsartigen Eiweißabbau eintreten lässt <sup>1)</sup>.

Die Aktivierung der Proteolyse tritt auf sobald die Zellen infolge Veränderungen, die in anderen Prozessen begründet liegen, beim anaeroben Leben beschädigt worden sind. Die plötzlich einsetzende Proteolyse ist nach Paech eine postmortale Erscheinung.

<sup>1)</sup> Nach G. Michael beschleunigt  $O_2$ -Reichtum den Eiweißabbau, und hemmt  $O_2$ -Armut durch Anhäufung der Spaltprodukte.

nung. Es handelt sich im Grunde nur darum ob die Versuchsobjekte nach Ablauf der Versuche völlig turgeszent und lebendig sind.

Obwohl P a e c h dem  $O_2$  keine Wirkung einräumt, d.h. im Sinne eines Regulators, findet er doch dasz  $O_2$  einen Einfluß auf den autolytischen Eiweißabbau ausübt.

Bei dieser Autolyse werden die Eiweißspaltende Fermente vom  $O_2$  vergiftet.

P a e c h nimmt also an dasz das Ferment in der lebenden Pflanze aktiv vorhanden ist. Bei Nekrobiose ist jedoch eine Aktivierung möglich, wenn  $O_2$ -Einwirkung vorher stattgefunden hat.

In seinen Versuchen mit Autolysepräparaten stellt er fest dasz in  $N_2$  (ohne  $O_2$ ) eine Proteolyse nur  $1\frac{1}{2}$  Tag braucht und in  $O_2$  10 Tage. Zur Erklärung des Eiweißstoffwechsels kommt P a e c h wieder auf die KH-Theorie zurück die er ungemodell hat. Der Eiweißgehalt einer Zelle sollte nach P a e c h in direktem Zusammenhang mit dem Monosegehalt stehen.

Ob Eiweiß gebildet oder abgebaut wird ist nur abhängig von der Richtung nach der sich das Gleichgewicht  $KH + NH_3 \rightleftharpoons$  Eiweiß verschiebt.

Von irgend einem Regulator oder hormonähnlichen Mutator wie S c h u l z e 1932 (73) angab ist bei P a e c h nicht die Rede.

Er steht völlig im Einklang mit den Anschauungen E n g e l s (12), der Aufbau oder Abbau vom KH-Gehalt und der Menge der lösl. N-Verbindungen abhängig stellte. Es leuchtet ein dasz, was das Licht betrifft, P a e c h nur auf einen indirekten Einfluß, nl. mittels C-Assimilation, Wert legt.

Aus dieser Literatur stellt sich heraus dasz den KH von den meisten Forschern eine entscheidende Rolle für den Eiweißspiegel zugeteilt wird.

### III. KAPITEL

#### Vorbemerkungen.

Im vorhergehenden Kapitel habe ich die wichtigste Literatur herangezogen, ohne dabei die einzelnen Untersuchungen näher zu berücksichtigen oder zu kritisieren. Ich will jetzt klarmachen weshalb ich die Lichtfrage für ungelöst hielt und welchen Bedenken die meisten Arbeiten unterliegen.

Die meisten Forscher kennen dem Lichte nur einen indirekten Einfluß zu d.h. sie sprechen nicht, wie bei der Kohlensäure-assimilation von einem photochemischen Einfluß.

G o d l e w s k i, L a u r e n t & M a r c h a l nehmen einen direk-

ten Einfluss an. Die Untersuchungen dieser Forscher sind schon wiederholt kritisiert worden und es lässt sich nicht leugnen dass sie wenig Beweiskraft besitzen. Der Fehler der Laurent- & Marchalschen Versuche liegt im Gebrauch der Glasglocken. Zaleski hat schon darauf hingewiesen dass die Lichtintensitäten unter den Glocken nicht miteinander vergleichbar sind.

L. & M. verwendeten Portionen von je 5 oder 10 g Senfsamen.

Die Möglichkeit besteht dass durch Verfaulung und Nichtkeimen der Samen ziemlich grosse Unterschiede zwischen Parallelportionen auftreten d.h. Portionen die in derselben Weise behandelt worden sind. Die störende Wirkung der nicht gekeimten Samen wurde von Godlewski auch vermutet.

Bei allen Samenversuchen ist es unbedingt notwendig dass Gewissheit besteht über die Frage ob die Samen wirklich gekeimt sind.

Ich werde mich bei der Besprechung meiner Methoden mit dieser Frage weiter befassen.

Ein Fehler der in vielen älteren Versuchen steckt, besteht in der Anwendung qualitativer Methoden für quantitative Zwecke, wie z.B. die Diphenylaminreaktion vielfach zur quantitativen Nitratbestimmung verwendet wird.

Es braucht keiner weitem Auseinandersetzung dass diese Reaktion sehr unzuverlässig ist, weil sie mit verschiedenen Stoffen verhindert werden kann.

Von Tottingham (24) wird der Diphenylaminreaktion jede quantitative Beweiskraft abgesprochen.

Bei Anwendung qualitativer Reaktionen bekommt man durchaus keine Klarheit über die natürlichen Schwankungen des Materials.

Wenn man die Literatur kritisch prüft, bleibt schliesslich nur sehr wenig übrig das einwandfreie Ergebnisse aufzeigen kann.

Ich hielt es deshalb nicht für überflüssig die Lichtfrage nochmal zu studieren. Ursprünglich hatte ich nur die Absicht nachzugehen ob das Licht einen direkten Einfluss auf den Eiweissstoffwechsel hat.

Die von Mothes aufgestellte Theorie der Sauerstoffwirkung hat mich jedoch dazu veranlaszt auch die Sauerstoffwirkung näher zu studieren. Es wunderte mich einigermaßen dass Mothes behauptet dass die normale  $O_2$ -Tension nicht imstande ist Eiweiss-synthesen zu fördern.

Die Sauerstofftheorie vermag m.E. den Eiweissstoffwechsel nicht ganz zu erklären. Der Fehler scheint mir darin dass man einen verwickelten Prozess, wie die Eiweiss-synthese nun einmal ist, in einfachster Weise erklären möchte.

Man möchte nur einem Faktor die ausschlaggebende Rolle zuschreiben. Dieser Faktor ist nach Mothes  $O_2$ , nach Paech KH. Die Paech'sche Massenwirkungstheorie die besagt dasz sich in der Pflanze durch einfachen Zufuhr von Zuckern und lösl. N-Verbindungen stets Eiweiszbildung erzwingen lässt, ist meiner Meinung nach, ebenfalls zu simplistisch.

Es lässt sich nicht bestreiten, dasz zwischen KH und bestimmten, bis heute unbekanntem, C-Körpern ein Zusammenhang besteht.

Dieser Zusammenhang wird aber nicht durch einfache zahlenmäßige Gleichungen anzugeben sein.

Auch ist es gefährlich aus Ergebnissen eines einzigen Objektes, Schlüsse für das ganze Pflanzenreich zu ziehen, denn <sup>1)</sup> Eiweisse von 2 verschiedenen Pflanzenarten weichen vielleicht noch mehr voneinander ab in chemischem Bau u.s.w. als 2 Alkaloide.

Bei den Betrachtungen über den Eiweiszstoffwechsel nimmt man die Fischersche Theorie meist als Basis an. Es gibt aber auch andere Auffassungen über den Bau des Eiweiszmoleküls z.B. die von Troensegaard. (Klein 1933).

Meines Einsehens ist die Loew'sche (32) Auffassung wichtiger. Dieser Forscher legt besonderen Wert auf das Asparagin und Asparaginaldehyd. Seiner Meinung nach nimmt Asparaginaldehyd  $H_2S$  auf und diese Sulphydrilverbindung schlieszt zum Eiweisz zusammen. Bei dieser Bildung kann der Sauerstoff Akzeptor sein. Trotz der wenig experimentellen Begründung verdient die Loew'sche Auffassung groszes Interesse. Vielleicht kann eine andere Betrachtung der Asparaginfrage die Einsicht vertiefen.

Wenn man mit Zuckern arbeitet wird gewöhnlich dieser Fehler gemacht dasz man die Zuckerbestimmungen unberücksichtigt lässt.

Paech stellt seine Objekte auf verschiedene Zuckerkonzentrationen. Er beobachtet einen abgestuften Eiweiszabbau, in dem Sinne dasz bei der geringsten Zuckerkonzentration der Eiweiszabbau am höchsten ist. Der Eiweiszabbau lässt sich sogar in eine Synthese verändern, wenn nur genügend Zucker anwesend ist. Dieses „genügend“ besagt aber nichts über den Zustand in der Pflanze.

Wenn Paech seine Theorie beweisen möchte, so müsste er Zuckerbestimmungen in der Pflanze vornehmen. Man wird dann feststellen können, ob am Reaktionsort die Zuckerkonzentration wirklich höher oder geringer ist.

<sup>1)</sup> Stekelenburg. (1931) (79) hat dargetan dasz ganz bestimmte Eiweisse zur HCN-Bildung veranlassen, sodasz das Fehlen der HCN in der groszen Mehrzahl der Pflanzen erklärlich wird.

Ich kann diese Bemerkungen nicht schlieszen ohne darauf hinzuweisen dasz (wie schon angegeben bei Gouwentak, Weevers und Mothes), wenn im Nachfolgenden von Eiweiszufbau die Rede ist, immer gemeint wird dasz beim gleichzeitigen Auf- und Abbau die Synthese überwiegt, sodasz die Eiweiszwaige in der Richtung der Zunahme des absoluten Eiweiszgehalts ausschlägt.

#### IV. KAPITEL

##### Material und Methode.

###### § 1. Versuchsobjekt.

Die Pflanze, die ich verwendete war dieselbe mit der Laurent und Marchal gearbeitet hatten nl. *Sinapis alba*. Sie hat mehrere Eigenschaften, die es ermöglichen in kürzester Zeit eine sehr grosse Zahl Portionen zu verarbeiten.

Die Samen sind klein, keimen schnell und besitzen einen groszen Gehalt an Eiweisz-N. Laurent und Marchal verwendeten Portionen von 5 oder 10 g Samen und bestimmten in diesen Portionen die verschiedenen N-Fraktionen. Das Arbeiten mit solchen groszen Portionen ist sehr unzuverlässig. Niemals wird der Zustand so sein, dasz 5 g Samen = 830 Stück ohne Verlust keimt.

Bei der von mir verwendeten *Sinapis* war der Keimungsprozentsatz ziemlich gering, 75%. Von jeder Portion von 100 Samen keimen deren 25 nicht und es ist also selbstverständlich dasz man auf das Entkeimen die gröszte Aufmerksamkeit lenken musz. Unterlässt man es, so werden die nicht gekeimten Samen einer Portion verfaulen und dabei ihre Zersetzungsprodukte dem Substrat abgeben. Das dadurch unerklärliche Vorgänge auftreten können versteht sich und wurde auch von Godlewski schon vermutet. Er gibt an dasz der Keimprozentsatz nicht ganz 100% war. Bei meinen Versuchen waren alle nicht gekeimten Samen entfernt. Die Wahl einer Versuchskonstante ist für physiologische Untersuchungen immer sehr wichtig. Beim Arbeiten mit Keimpflanzen gibt es drei Möglichkeiten aus denen man eine Wahl treffen kann. Es sind folgende:

1. Anzahl z.B. 1000 Stück.

Auf diese Einheit werden alle Veränderungen der N-Fraktionen bezogen.

2. Frischgewichtsmethode z.B. 1 g Samen.

3. Trockengewichtsmethode.

Ich wählte die Frischgewichtsmethode aus folgenden Gründen. Es stellte sich heraus dasz einzelne Portionen von 1000 Samen ein sehr verschiedenes Gewicht hatten z.B. 6.69, 6.01, 6.14, 6.55 gram. Der mittlere Fehler der N-Fractionen war in diesem Falle 3.2%, berechnet nach der Formel  $\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum v^2}{n(n-1)}}$

Die Ursache der Schwankungen, die bei dieser Methode auftreten, liegt in der Ungleichheit womit man Portionen von 1000 Stück abzählt.

Bald wählt man grözere Samen, bald kleinere. Der mittlere Fehler war beim Frischgewicht als Versuchskonstante immer kleiner als bei der Anzahl. Ich entschloz mich aus praktischen Gründen nach manchem Versuch Portionen von 1 oder 1.5 g Samen zu verwenden. Das Trockengewicht kann wegen des groszen Fettgehaltes der Samen nicht in Betracht kommen.

Das Verfahren war folgendes: In Pétrischalen deren Boden mit Flieszpapier bedeckt war, wurden Mengen von 1 oder 1.5 g ausgesät. Nach 2 Tagen hatten sich die gekeimten Samen schon recht gut entwickelt und wurden die nicht oder schlecht gekeimten Stücke mit einer gleich groszen Zahl gut entwickelten Keimpflänzchen getauscht. Es war also immer notwendig eine Zahl Reserveschalen auszusetzen. Das Abzählen der toten Samen forderte viel Zeit aber ich erreichte damit dasz die einzelnen Portionen nur aus gut entwickelten Pflanzen bestanden. Die Pflänzchen sind wenn sie gut gekeimt sind weniger der Gefahr ausgesetzt während der weiteren Entwicklung zu miszlingen. Man könnte diese Verwechslungsmethode als eine Kombination der Zahl und des Frischgewichtes betrachten. Die Differenz bei 2 Eiweiszparallelbestimmungen darf bei Portionen von 1.5 g Samen 1.7 mg nicht überschreiten.

Bei 5 g war die Differenz im Eiweisz-N zwischen 2 Portionen  $\pm 8$  mg. Laurent & Marchal gaben an, dasz Kulturen unter blauen und roten Glasglocken eine Differenz von 7.5 mg aufwiesen. Ich möchte darauf hinweisen dasz solche Differenzen vielleicht den natürlichen Schwankungen des Materials zu verdanken sind.

Bei jedem meiner Versuche fing ich damit an die Samen mittels Uspulun zu reinigen. Nach dem Abspülen mit Wasser wurden die Portionen auf Flieszpapier ausgesät. Die Pétrischalen wurden in die Dunkelkammer gestellt ( $T = 27.5^\circ \text{C}$ ).

Nach 2 Tagen war die Keimung so weit fortgeschritten dasz die Würzelchen eine Länge von 0.5 cm hatten.

Sobald diese Grösze erreicht war, wurden die Pflänzchen mit einer Pinzette auf eine, über einer Schale ausgespannte Gaze ver-

pflanzt und die Schale wurde mit Aq-Dest oder Nahrlösung gefüllt. Die Kultur auf Gaze war am geeignetsten denn die Versuche, die Portionen auf mit HCl gereinigtem Sande zu züchten, mislang.

Es war sehr schwer das HCl zu entfernen und auch viele Samen wurden in ihrer Keimung verlangsamt, so dasz die Parallelportionen sehr große Differenzen aufwiesen. Auf dem Sande zeigte sich auch eine größere Neigung zur Pilzbildung.

Auf Gaze wachsen die Pflanzen ausgezeichnet, während Pilze fast nicht auftreten wenn man die schleimbildenden Samenhüllen entfernt.

### § 2. Die N-Bestimmungen.

Der Eiweisz-N wurde in folgender Weise bestimmt.

Das getrocknete gepulverte Material wurde mit Wasser erhitzt und als die Flüssigkeit zu kochen anfang wurde ein Fällungsmittel zugesetzt. Die Eiweiszfällungsmittel stimmen in den meisten Fällen, wie auch von Gouwentak angegeben wurde, überein. Verwendet man einen Kupferbrei nach Stutzer, so ist es am besten in der Wärme zu filtrieren, denn Aminosäuren bilden leicht Kupfersalze mit  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  die nach Abkühlung auskristallisieren können.

Ich habe die bekanntesten Eiweiszfällungsmittel in ihrer Wirkung nachgeprüft und dazu in von mir bereiteten Ansätzen von Edestin, Glutaminsäure, Asparagin die Eiweiszmengen bestimmt mit Hilfe von  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  Lösung, Na-Wolframat und Fe-Sol.

	N	Stutzer	Fe-Sol	Na-Wolframat	
150 mG. Edestin	24.0	Filter-	28.6	23.9	24.2
100 mG. Asparagin	21.2	Filtrat	35.9	40.5	40.4
200 mG. Glutaminsäure	19.6				
	<hr/>		<hr/>	<hr/>	<hr/>
	64.8		64.5	64.4	64.6

Aus dieser Tabelle geht es deutlich hervor dasz Na-Wolframat und Fe-Sol einen Niederschlag bewirken der nur Edestin enthält, während Kupferbrei eine Menge N präcipitiert die größer ist als die theoretisch berechnete.

Mothes gebraucht Tanninlösung. Die Tanninfiltrate verursachen im van Slyke-Apparat eine Bildung von Gasen, die nicht mittels  $\text{KMnO}_4$  absorbiert werden können. Die Amino-N-Werte würden beim Gebrauch dieses Fällungsmittels unzuverlässig sein.

Rahn 1933 (67) hat diese Erscheinung beobachtet und auch

Neil Stuart 1935 (81). Stuart äuszert sich in folgender Weise: „Investigations disclosed that the diphenols and their derivatives (Tannins) were readily oxydized in the van Slyke Determination with the formation of gases difficultly soluble in K-permanganate“.

Aus den beiden übrigen Fällungsmitteln wählte ich der Einfachheit wegen, das von Thomas (85) empfohlene Fe-Sol. Ich verwendete die im Handel zu beziehende Solutio Ferri hydrogen-dial.

Die einzige Schwierigkeit beim Arbeiten mit diesem Mittel ist das Auffinden der richtigen Menge, denn ein Zuviel soll man möglichst vermeiden und es bilden sich in den Destruktionskolben Krusten die sehr schwer zu entfernen sind.

Ich brauchte vom Fe-Sol 5 cc. Das verkleinerte Pflanzenmaterial wurde also mit Wasser erhitzt und im Moment wo es zu kochen anfangt wurde Fe-Sol zugesetzt. Wenn das Fe-Sol keinen Niederschlag bewirkt, genügt der Zusatz einer kleinen Menge  $MgSO_4$  um ihn hervorzurufen. Die Destruktion des Niederschlages wurde in der üblichen Weise mittels  $H_2SO_4 + H_3PO_4$  vorgenommen.

Die Destillation geschah mit Wasserdampf.

Das Ammoniak wurde in  $1/20$  normal  $H_2SO_4$  aufgenommen. Indikator bei der Titration war Methylrot. Bei einigen Versuchen bei denen ich geringere Mengen verarbeitete, verwendete ich  $1/40$  normal  $H_2SO_4$ .

Im Filtrat wurde die lösl.-N-Fraktion bestimmt. Total-N wurde durch einfache Summierung des Eiweisz-N und des lösl.-N ermittelt.

Der  $\alpha$ -Amino-N wurde mit dem van Slykeschen Apparat bestimmt (76).

Bekanntlich spalten die  $NH_2$ -Gruppen der  $\alpha$ -Aminosäuren ihren N mit  $HNO_2$  in der Form des Stickstoffes ab. Dieser  $N_2$  wird in der Gasbürette gemessen und daraus lässt sich der Amino-N leicht berechnen. Die Extrakte wurden bei gelinder Wärme eingeeengt und von jedem Filtrat 2 Bestimmungen vorgenommen.

Die Abweichung zwischen 2 Parallelbestimmungen war nie grösser als 0.4 mg.

Nach Stuart sei es empfehlenswert die Filtrate zuerst mit Blei-azetat oder mit Kohle zu behandeln zur Entfernung der Phenole.

Auch Gerbstoffe bewirken eine Reaktion mit  $HNO_2$ . Der Amid-N wurde nach Sachsse bestimmt.

Der  $NH_3$ -N wurde bei  $40^\circ C.$  unter niederem Drucke mit Dampf abdestilliert und in  $H_2SO_4$  aufgenommen. Statt des gewöhnlich verwendeten  $MgO$  wurde gesättigte Boraxlösung gebraucht, weil  $MgO$  zuviel zusammenklebt.

### § 3. Das Trocknen.

Das Trocknen ist sehr wichtig, denn es handelt sich darum ob die N-Fractionen beeinflusst werden oder nicht.

Schulze (72) hat bewiesen dasz bei 75°—80° getrocknete Pflänzchen keinen geringern Wert an Aminosäuren aufwiesen als solche die bei Temperaturen unter 60° getrocknet waren.

Er folgerte daraus dasz die Art und Weise des Trocknens die N-Fractionen nicht beeinflusst.

Ich habe die verschiedenen Temperaturen in ihrer Wirkung verglichen. Von einigen Portionen zu 5 g Samen wurden

1. 2 durch kochenden Alkohol extrahiert.
2. 4 bei 40° C. getrocknet und mit H<sub>2</sub>O extrahiert.
3. 3 bei 100° C. getrocknet.

Die  $\alpha$ -Aminowerte waren bezw.

1. Alkohol	17.0 mg	17.0 mg	
2. 40° C. getrocknet	16.7 „	15.6 „	
	15.6 „	17.7 „	
3. 100° C. getrocknet	9.3 „	8.9 „	7.6 mg

Aus diesen wenigen Zahlen geht schon hervor dasz das Trocknen bei 100° C. den  $\alpha$ -Amino-N um 50% verringert.

Für *Simplicia* gilt es auch als praktische Erfahrung dasz langes Trocknen bei 40° C. besser ist als kurzes bei 100° C. (v. d. Wielen 94). Die Eiweiszfraktion war anscheinend von der Temperatur unbeeinflusst. Beim Vergleichen einiger Puder die bei verschiedenen Temperaturen getrocknet waren ergaben sich keine Differenzen zwischen den Eiweiszwerten. Der lösl.-N änderte sich auch nicht. Es scheint also dasz die Aminosäuren in andere N-Verbindungen umgebildet werden. Das ganze Material wurde nach Abtötung in einem Trockenschrank bei 37.5° C. getrocknet.

In den Versuchen, bei denen NH<sub>3</sub> bestimmt wurde, trocknete ich das Material gar nicht, sondern verarbeitete die frischen Pflänzchen, indem ich sie mit Hilfe von Quarzsand zerrieb.

## V. KAPITEL.

### Kultur bei N-Hunger.

Fast aller Stickstoff in den Samen ist in der Form von Eiweisz vorhanden. Ein Teil dieses Eiweisz-N wird von Globulinen gebildet, ein grösserer Teil von Glutelinen.

Es leuchtet ein dasz Samen die reich an Reserve-Eiweisz-N

sind während der ersten Zeit der Entwicklung eine allgemeine Abnahme des Eiweisz-N aufweisen.

Das bedeutet nicht dasz nur Abbau stattfindet. Viele Synthesen verlaufen, die von der groszen Reserve-Eiweiszmobilisierung überstimmt werden. Um etwas von diesen Aufbau- und Abbau-prozessen zu bemerken, musz man feststellen wie die Eiweiszarten sich in ihrem Gehalt ändern.

Es ist eine bekannte Tatsache dasz z.B. der Glutelingehalt mit der Blattbildung zunimmt, weil sich nach Chibnall im Blatte viel Glutelinen befinden.

Bestimmt man nach der Osborne-schen Methode wie der Gehalt an Globulin-N in Senfsamen ist, so stellt sich heraus dasz sich in den ungekeimten Samen viel mehr Globulinen als Albumosen befinden.

Samen	Albumosen	4 %	des Eiweisz-N.
	Globulinen	25 %	„ „
Nach 4 Tagen			
Keimung	Albumosen	22 %	
	Globulinen	7 %	

Der total-Eiweisz-N hat indessen um 25 % abgenommen.

Es lässt sich also leicht feststellen dasz der Albumose-N zunimmt und der Globulin-N verringert, während sich nur eine Abnahme feststellen liesze wenn man nur den total-Eiweiszgehalt bestimmte. Nach den neuesten Anschauungen (Gouwentak, Weevers, Mothes, Smirnof) findet in der lebenden Zelle immer Abbau und Aufbau des Eiweiszes zugleich statt.

Um die Änderungen des Eiweisz-N während der ersten Zeit der Keimung zu studieren, habe ich um eventuelle Lichteinflüsse feststellen zu können eine Hälfte der Portionen dem Lichte ausgesetzt, die andere Hälfte wurde im Dunkeln gelassen.

Weiter wurde die Keimung bei N-Hunger und bei N-Zufuhr vorgenommen. Im ersten Falle ist die Pflanze nicht imstande N aufzunehmen, obwohl es vielleicht einen Unterschied machen könnte, ob nur Aq-Dest oder ob alle Elemente mit Ausnahme des N. zugesetzt werden.

#### § 1. Keimung auf destilliertem Wasser.

In der oben beschriebenen Weise wurden Portionen von 1.5 g Samen auf Fliespapier ausgesät, nach vorhergehender Reinigung mit Uspulun.

Nach der Aussaat quollen die Samen und entwickelten sich so rasch, dasz schon nach 2 Tagen die Wurzeln erschienen. Darauf

wurden die Pflanzen auf Gaze verpflanzt und eine Hälfte unter Sonnenlichtlampen in die Dunkelkammer gestellt; die andere Hälfte der Portionen würde zwar in die Dunkelkammer gestellt, aber mit schwarzen Tüchern zugedeckt. Die Temperatur der Dunkelkammer war 27,5° C. Jede 48 Stunden wurden Licht- und Dunkelkulturen geerntet, bei 100° C. getötet und danach fand das Trocknen des Materials bei 37,5° C. statt. Eiweisz-N, lösl.-N,  $\alpha$ -amino-N wurden in der oben beschriebenen Weise bestimmt.

Die Belichtung der Lichtkulturen dauerte von 9.30 a.m.—5.30 p.m. Die Stärke der Lampen war mit einem Luxmesser gemessen. Es stellte sich heraus dasz sie hinreichend war um ein normales Wachstum zu ermöglichen. (8—9000 Lux).

Über das Resultat gibt folgende Tabelle Aufschluß:

TABELLE I.

Versuchsdauer Unkeimte Samen	Licht			Dunkel		
	M.W. Eiweisz-N; 60,4±1,7	Tot-N; 67,4	$\alpha$ -Amino-N; Spur	M.W. Eiweisz-N; 60,4±1,7	Tot-N; 67,4	$\alpha$ -Amino-N; Spur
2 Tage	53.9	—	2.6	58.6	—	2.5
4 "	44.5	—	4.2	48.2	—	4.7
6 "	36.8	—	8.0	36.8	—	7.1
8 "	36.8	60.9	5.9	35.5	61.4	5.1
10 "	30.0	—	9.2	29.7	—	8.3
12 "	25.8	60.4	10.0	25.9	61.0	11.0
14 "	26.1	—	6.6	19.5	58.7	7.3
16 "	25.1	61.1	4.1	—	—	—

Aus der Tabelle I zeigt sich dasz Keimung und demzufolge die hydrolytische Eiweiszspaltung im Dunkeln und im Licht ungefähr gleich verlaufen. Während der ersten 4 Tage verläuft die Eiweiszabnahme im Lichte etwas schneller. Die Temperatur unter den Lampen war 1,5° C. höher als in der Umgebung.

Nach 6 Tagen sind die Eiweiszwerte in beiden Fällen gleich und dieser Zustand dauert bis zum 12 Tage.

Danach treten bei den Dunkelpflanzen Schädigungen auf und sie sterben ab. Die Lichtpflanzen erreichen eine Länge von 1 dm, haben ein gut entwickeltes Wurzelsystem und können bis 3 Wochen lebendig erhalten werden. Später sterben sie an deutlich erkennbarem N-Hunger (Vergilbung der Primärblätter).

Niemals setzt sich bei den Lichtpflanzen das Wachstum des Vegetationspunktes fort, sodasz eine Entwicklung von Blättern und Stengeln ausbleibt. Die Unterseite der Blätter und die Stengel

sind während der ersten Tage des Keimens durch Anthocyanbildung rot gefärbt. Dieses Anthocyan verschwindet später allmählich. Der Tot-N (erhalten durch Summierung des Eiweisz-N und lösl.-N) nimmt ab. Es wird den Umständen zuzuschreiben sein dasz die Samenhülsen entfernt wurden. Der a-Amino-N nimmt bis zum 6. Tage ab, vom 6-8 sinkt der Wert um danach allmählich bis zum 12. Tage zuzunehmen; nach dieser Zeit schreitet die Abnahme weiter fort.

Speziell bei den Lichtpflanzen sieht man deutlich dasz der Amino-N zunimmt wenn die Eiweisz-Abnahme eintritt, und wenn die Eiweiszwerte konstant bleiben, Abnahme des Amino-N einsetzt.

Ich möchte das Gleichgewicht Eiweisz  $\rightleftharpoons$  Aminosäuren berücksichtigen. Dieses Gleichgewicht wird wie alle Gleichgewichtsreaktionen in der Richtung des geringsten Widerstandes verschoben. Je grösser die hydrolytische Eiweiszspaltung sein wird, destomehr Aminosäuren werden gebildet. Sie werden jedoch nicht aufgespeichert, sondern spalten schnell weiter ab, sodasz Anhäufung nur bedeutend in dem Falle ist wenn die Eiweiszhydrolyse sehr gross ist.

Wenn die Eiweiszhydrolyse nachlässt nimmt der Amino-N weiter ab. Übrigens zeigt sich dasz der Eiweisz-N sich bei weitem nicht in der Aminosäurefraktion zurückfinden lässt.

Es bilden sich vielleicht andere N-Verbindungen oder Diaminosäuren die nicht nach van Slyke zu bestimmen sind. Selbst bei Duplikation des Amino-N bekommt man keinen Wert, der mit dem verschwundenen Eiweisz-N übereinstimmt. Wie sich aus meinen Amidbestimmungen ergab, konnte die Amidbildung ebenfalls nicht dafür verantwortlich sein.

(Von vielen Forschern wurde Amidbildung im Dunkeln bei Leguminosen beobachtet).

Bei der Keimung im Dunkeln und während der ersten Zeit im Lichte sind die Pflanzen unfähig, wegen mangelhafter C-Assimilation, neue C-haltige Substanzen zu erzeugen. Die Reservestoffe die verbraucht werden, sind in den Samen vorhanden. Sobald die Primärblätter ganz grün und ausgewachsen sind kann man erwarten dasz die Kohlensäureassimilation einsetzt und nun tritt ein wichtiger Unterschied zwischen Licht- und Dunkelpflanzen auf.

Zu Anfang des Keimens wird die grosse Menge der Reserveweiszstoffe mobilisiert und mit dieser Proteolyse steht die Aminosäurebildung im Zusammenhang. Das bedeutet nicht dasz Aminosäuren direkt aus Eiweisz gebildet werden.

M o t h e s (l.c.) sagt: „Der Eiweißabbau ist wesentlich schneller beendet als die Bildung chemisch-analytisch faszbarer Spaltkörper. Das deutet darauf hin dasz Eiweißabbau und Freilegung von Aminogruppen nicht dasselbe ist“.

Bei meinen Senfpflanzen sind die Blätter vom 4. Tage an grün und wird, falls die Stomata fungieren, C-Assimilation auftreten.

Von ihr wird der Eiweißstoffwechsel beeinflusst werden. Aus meiner Tabelle I ist ersichtlich dasz die Eiweißwerte der Licht- und Dunkelpflanzen nach 6 Tagen anfangen immer mehr übereinzustimmen. Nach 14 Tagen treten Differenzen auf, denn die Dunkelpflanzen zeigen infolge des Absterbens einen abnehmenden Eiweißgehalt.

Das Licht hat eine wichtige formative Rolle zu erfüllen, wie die Erfahrung gezeigt hat. Aus dem Teil der Eiweißkurve den wir hier übersehen können, lässt sich konstatieren dasz das Licht keinen verzögernden und auch keinen beschleunigenden Einfluss auf die Eiweißhydrolyse hat.

Die Eiweißhydrolyse kann man sich als eine Gleichgewichtsreaktion vorstellen. Das Licht hat auf diesen Vorgang keinen Einfluss, wohl aber die Temperatur. Ich darf aus meinen Versuchen folgern: Die hydrolytische Eiweißspaltung in der lebenden Pflanze ist eine vom Lichte unabhängige Erscheinung.

### § 2. Keimung auf Sachs ohne N.

Alle Elemente die für die Entwicklung der Pflanze wichtig sind, wie K, P, u.s.w., sind jetzt vorhanden, nur der Stickstoff fehlt. Ich verwendete eine Sachslösung ohne N.

Das Wachstum der Pflanzen war besser als auf Aq. Dest. Müller 1932 (47) und Müller & Larsen 1935 (48) beobachteten dasz bei Pflanzen, die einige Wochen alt sind, die C-Assimilation viel geringer ist bei K- und N-Mangel, als wenn alle Elemente vorhanden sind. Die N-Mangelpflanzen verwendeten mehr Assimilate zum Stengel Aufbau als Normal- und K-Hungerpflanzen, bei denen hauptsächlich Blattbildung überwiegt.

Die Portionen wurden bei 27.5° C. kultiviert, und die Belichtungsstärke war 9000 Lux.

Die Hydrolyse ist auf Aq. Dest. und Sachs-N ungefähr gleich groß. Auf destilliertem Wasser lässt sich nach 12 Tagen eine Stabilisation des Eiweißgehalts feststellen. Dieses Wort soll nicht im Sinne T. r. S c h u l z e s (73) aufgefasst werden. Es bezeichnet keinen Ruhezustand, sondern es bedeutet dasz Abbau und Synthese sich die Wage halten.

TABELLE II.  
Keimung auf Sachs-N.

Versuchsdauer	Eiweiszwert Aq. Dest.	Eiweiszwert Sachs-N.
Samen	Gem. 60.4 ± 1.7	60.4 ± 1.7
2 Tage	53.7	51.3
4 "	45.2	47.4
6 "	37.4	42.1
8 "	36.0	—
10 "	29.5	33.1
12 "	25.6	—
14 "	24.9	26.3
16 "	25.0	25.7
17 "	26.7	21.1
18 "	23.9	18.2

Das Wachstum der Pflanzen auf Aq. Dest. setzt sich nicht weiter fort, wegen des völligen Mangels an allem.

Auf *Sachs-N* ist das Verhalten der Pflanzen dem auf Aq. Dest. nicht gleich. Hier setzt das Wachstum sich weiter fort, der Vegetationspunkt entwickelt neue Blätter und die beiden Primärblätter vergilben (Eiweiszschwund) und schrumpfen schliesslich zusammen.

Engel (l.c.) gibt an dass junge Teile ihr Wachstum bei N-Hunger weiter fortsetzen, durch N-Zufuhr aus den älteren Teilen, die dann absterben.

Hier tritt eine stets weitergehende Senkung des Eiweiszgehalts auf. Aus der Tabelle II zeigt sich dass der Eiweiszgehalt nicht allmählich abnimmt, sondern z.B. vom 6.-8. Tage auf derselben Höhe bleibt.

Nach Pri anischnikoff (65, 66) lässt sich am Eiweisz-N eine „grosze Periode“ während der Keimung feststellen; dieser Begriff trägt jedoch nichts zur Verdeutlichung bei.

Es können bestimmte Vorgänge stattfinden die ihren Grund im N-freien stoffwechsel haben.

Nach 8 Tagen fängt wieder Abnahme an die nicht auf Schwund der Vitaleiweisse beruhen kann, denn es wäre in diesem Falle unmöglich dass eine neue Stabilisation aufträte.

### § 3. Öl.

Die Samen enthalten 26.6% fettes Öl.

Die Frage erhebt sich wie lange es dauert bevor das Reserve-Öl verschwunden ist.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Es handelt sich nicht um quantitative Genauigkeit sondern um einen globalen Ueberblick.

Portionen von 7 g Samen wurden ausgesät und zu bestimmten Zeiten geerntet und bei 37.5° getrocknet. Danach wurden die Fette und Öle im Soxhlettschen Apparat mittels Aether Petrolei extrahiert. Nach beendeter Extraktion wurde der Aether P. abgedampft und das Öl durch Wägung bestimmt.

TABELLE III.

	Ölgehalt	Abnahme
Ungekeimte Samen	26.6 %	—
3 Tage gekeimt	20.0 %	— 6.2 %
5 Tage „	8.6 %	—17.6 %
6 „ „	7.5 %	—18.7 %
8 „ „	2.7 %	—23.5 %
9 „ „	1.0 %	—25.1 %
10 „ „	0.6 %	—25.6 %

Es stellt sich heraus dasz die gröszte Abnahme bis zum 8. Tage stattfand, danach vermindert der Fettgehalt sehr langsam.

Die Abnahme des Öls verläuft in derselben Zeit wie der Abbau des Eiweisses.

## VI. KAPITEL

## Keimung mit N-Nahrung.

In den Kulturschalen wurde eine Knop'sche Lösung zugefügt.

Portionen von je 1.5 g Samen wurden auf Flieszpapier ausgesät und nach 2 Tagen auf Gaze verpflanzt. Jede 48 Stunden

TABELLE IV.  
Keimung auf Knop'scher Lösung.

	Aq. Dest.	Knop.
Ungekeimte Samen	60.4	60.4
2 Tage	—	—
4 „	—	—
6 „	37.9	35.9
8 „	—	—
10 „	30.1	34.0
12 „	—	—
14 „	26.1	46.4
16 „	24.9	51.0

wurde geerntet und zum Vergleich wurden auch Kulturen auf Aq. Dest. hergestellt.

Alle Kulturen wurden dem Lichte ausgesetzt.

Aus Tabelle 4 geht hervor dasz nach 8 Tagen der Eiweisz-N zu differieren anfang.

Indem der Gehalt auf Aq. Dest. immer weiter sank, fand später auf Nährlösung eine ständige Zunahme statt.

Das Wachstum der Pflanzen auf vollständiger Nährlösung war allerdings besser als im N-Hungerzustande und die Pflanzen bekamen nicht nur grözere Primärblätter sondern bildeten sogar neue Blätter.

Für meine folgenden Versuche ist es sehr wichtig dasz zuerst ein Zustand des völligen N-Hungers erreicht ist d.h. die N-Salze werden dargereicht wenn die grosze Mobilisierung der Reserveproteinen schon vorbei ist. Wäre dieser Zustand nicht erreicht, so würde die Hydrolyse alle Synthesen völlig überstimmen und schliesslich hätte man nur den Eiweiszabbau studiert.

Es versteht sich aber auch dasz die Pflanzen einen zu lange dauernden Hungerzustand nicht ertragen können ohne dasz der ganze Mechanismus irreversibel beschädigt wird.

In diesem Falle wird keine neue Synthese stattfinden können.

Tabelle 5 zeigt dasz es sehr empfehlenswert ist nach 8-9 Tagen N-Salze darzureichen.

TABELLE V.

	Eiweisz-N.			Bemerkung.
Kulturen 14 Tage ohne Salze, danach Zugabe einer Knop Lösung. Ernte nach 3 Tagen. Alter also 17 Ta.	14 T.	27.0	26.9	Wachstum nicht fortgesetzt.
	17 T.	26.2	25.8	Mechanismus angeblich beschädigt.
Kulturen 8 Tage ohne Salze, danach Zugabe einer Knop Lösung. Ernte nach 6 Tagen und nach 9 Tagen.	8 T.	28.8	29.1	
	14 T.	32.2	32.4	Wachstum geht
	17 T.	33.6	30.2	weiter
		38.9	37.8	

Das Resultat des Versuchs zeigt deutlich dasz ein zu lange dauernder N-Hunger den Pflanzen schadet.

Es ist unmöglich unter solchen Umständen ein neues Wachstum hervorzurufen. Fügt man, nach 8 Tagen N-Hunger, N-Salze zu,

so setzt sich das Wachstum fort und der Eiweißgehalt steigt bedeutend.

Auch Schulze 1900 (72) hat dargetan dasz ein zu lange dauernder Hungerzustand bei Blättern Schädigungen hervorruft.

## VII. KAPITEL

### Licht und Eiweißstoffwechsel.

Im vorhergehenden Kapitel habe ich gezeigt dasz die Reserveeiweißabnahme nach 8 Tagen beendet ist und dasz darauf ein Zustand des Gleichgewichtes zwischen Aufbau und Abbau eintritt.

Ich werde mich jetzt mit der Lichtfrage beschäftigen. Es wird sich hauptsächlich darum handeln ob ein direkter Einflusz besteht. Das Licht übt einen Einflusz auf die C-Assimilation aus und nach einigen Forschern (v. d. Pauw (50)) auch auf die Atmung.

Um in meinen Versuchen den indirekten Einflusz des Lichtes soviel wie möglich ausschalten zu können war es notwendig die Assimilation durch Entfernung der Kohlensäure zu verhindern.

Die Versuchsanordnung war folgende.

Ein großer Eksikkator wurde mit einer Glasplatte versehen. Diese Platte hat 2 Löcher die mit Gummistopfen verschlossen werden konnten. Der untere Raum des Eksikkators wurde mit 50% KOH gefüllt.

In einen der Gummistopfen steckte ich ein Natronkalkröhrchen. In den Eksikkator stellte ich eine Schale mit Keimpflanzen und danach verschloz ich ihn luftdicht mit der Platte.

Darauf leitete ich Luft durch den Eksikkator die zuerst durch einige Waschflaschen geströmt war.

Der ganze Eksikkator wurde unter eine Sonnenlichtlampe gestellt (8000 Lux).

Es wurden mit einander verglichen.

1. Kulturen mit Licht — CO<sub>2</sub>.
2. Kulturen im Dunkeln.

8 Tage nach der Aussaat wurde den Pflanzen eine völlige Knopsche Lösung gegeben. Sie wurden 3 Tage unter normalen Umständen belassen und dann fing der Versuch an.

Die Versuchsdauer war 3 Tage. In Kohlensäurefreiem Raum treten nach längerer Zeit Schädigungen der Chloroplasten auf die K. Noack photooxydative Störungen nennt.

Meivius 1935 (36) hat gezeigt dasz das Verhalten verschiedener Pflanzenarten in Kohlensäurefreiem Raum sehr variabel ist. Tradescantiapflanzen zeigten bald gelbe Blätter infolge der Eiweißabnahme. Junge Blätter dagegen können wochenlang turges-

zent und grün bleiben. Der  $\text{CO}_2$ -Mangel führte nicht zu Schädigungen, wenn das Atmungsmaterial noch nicht verbraucht war.

Er weist darauf hin das man für jedes Objekt feststellen musz wie  $\text{CO}_2$ -Mangel wirkt.

Aus der Tabelle des Versuchs A zeigt sich dasz die Eiweiszwerte im Lichte und Dunkeln abgenommen haben und diese Abnahme in beiden Fällen annäherend gleich ist, 17.4% und 17.1%.

Wäre nun dem Lichte ein direkter Einfluss auf die Eiweissynthese beizumessen, so müsste die Abnahme in  $\text{CO}_2$ -freiem Raum kleiner sein. Im Lichte sind die Stomata geöffnet und der  $\text{O}_2$  kann besser hineindiffundieren als bei den Dunkelpflanzen.

Hätte Mothes mit seiner Sauerstofftheorie recht, so müsste der Eiweisz-N im Lichte höher sein als im Dunkeln. Die Eiweiszwerte stimmen aber überein.

Ich darf annehmen dasz das Oxydationspotential höher war, weil die Stomata geöffnet waren.

Das Ergebnis zeigt vorläufig dasz der  $\text{O}_2$  die Proteolyse nicht verhindert, es sei denn dasz man annähme dasz die  $\text{O}_2$ -Tension bei den Dunkelpflanzen gleich grosz war oder dasz die  $\text{O}_2$ -Tension in beiden Fällen zu gering war eine bedeutende Synthese hervorzurufen.

Jedenfalls ist bei meinen Versuchen die Abnahme weder grösser, noch kleiner als im Dunkeln.

Es ist unmöglich einen direkten Einfluss zu konstatieren.

Die Sauerstofffrage habe ich hier nur gestreift; später werde ich mich mit dem angeblichen Zusammenhange zwischen Sauerstoff und Eiweisz weiter beschäftigen.

VERSUCH A.

	Eiweisz-N.		Lösl.-N.		Total-N.	
Kontrolle	38.3	37.3	23.2	24.1	61.5	61.4
Dunkel	31.5	31.0	28.2	27.0	59.7	58.0
Licht — $\text{CO}_2$	32.7	30.0	28.1	33.7	60.8	63.7

Der verschwundene Eiweisz-N lässt sich beim lösl.-N zurückfinden, weil der tot-N konstant bleibt oder die Neigung hat abzunehmen.

Was ist nun für diesen Schwund verantwortlich? In diesen beiden Fällen können keine KH neu gebildet werden. Die Pflanzen die dem Lichte ausgesetzt sind vermögen nur jene  $\text{CO}_2$  zu assimilieren die bei der Atmung gebildet wird. Es steigt die Vermutung auf dasz diese  $\text{CO}_2$  die Pflanze nicht verlässt und deshalb nicht von der

KOH gebunden werden kann. Diese kleinen Mengen sind angeblich nicht imstande die Abnahme des N abzustoppen weil die Werte gleich sind. Ich werde jetzt die KH in den Eiweiszstoffwechsel hineinziehen müssen. Zuerst habe ich aber diese Frage zu lösen versucht, ob die Pflanzen nach der Abnahme des Eiweiszspiegels zur erneuerten Synthese fähig waren. Es könnte der Eiweiszschwund vielleicht Sterbeerscheinungen zuzuschreiben sein.

Aus dem Versuch geht hervor dasz die Pflanzen sich; nachdem sie 2 Tage im Dunkeln oder im Kohlensäurefreien Raum verbracht hatten, erholen und eine Zunahme des Eiweisz-N aufweisen. Der Tot-N hat ebenfalls zugenommen. Die Abnahme des Eiweisz-N ist daher keinen Absterbeerscheinungen zuzuschreiben, denn dann wäre die Zunahme des Eiweisz-N nicht so leicht zu konstatieren wie es jetzt der Fall ist.

## VERSUCH B.

Kontrollportionen	Eiweisz-N.		Lösl.-N.		Total-N.	
7 Tage nach der Aussaat wurde Knop zugefügt, danach wurden sie 3 Tage im Lichte gezüchtet	39.3	38.8	24.6	26.0	63.9	64.8
Dunkelportionen 2 Tage	31.2	31.5	29.2	29.6	60.4	61.1
Dunkelportionen. 2 Tage. Danach 3 Tage dem Lichte ausgestellt	40.0	43.1	25.6	22.9	65.6	66.0
Licht — CO <sub>2</sub> 2 Tage. Danach 3 Tage dem Lichte und CO <sub>2</sub> ausgesetzt	39.8	42.2	26.1	25.9	65.9	68.1
Licht — CO <sub>2</sub> 2 Tage	31.0	29.8	28.1	29.2	59.1	59.0

Ich entschloz mich nun zu versuchen ob eine Zuckerzugabe imstande sei den Eiweiszschwund zu hemmen. Nach *Hansteen* (19, 20) und *Björkstén* (3) seien Monosen zur Eiweiszsynthese am geeignetsten. Ich reichte eine 1% Lösung dar. Wegen dieser Zuckerzugabe tritt eine verringerte Abnahme auf. Diese kleinere Abnahme im Dunkeln ist der im kohlensäurefreien Raum gleich. Im Dunkeln und Lichte-CO<sub>2</sub> ohne Zuckerzusatz nimmt der Eiweisz-N mehr ab als bei Zuckerzugabe.

De 1% Glukose war vielleicht die Ursache dasz die Eiweisz-

abnahme nicht ganz eingeschränkt wurde.

Daher stellte ich auch Versuche an mit höheren Glukosekonzentrationen, damit sich eine Konzentration herausfinden liesze, die eine Eiweisszunahme ermöglichte.

## VERSUCH C.

Kontrollportionen	Eiweisz-N.		Lösl.-N.		Total-N.	
8 Tage auf Aq. Dest. 3 Tage auf Knop.	38.9	39.1	25.9	24.4	64.8	63.5
Dunkelportionen 3 Tage	31.2	31.1	29.2	29.5	60.4	60.6
Dunkelportionen 3 Tage 1% Glukose	35.3	36.9	27.9	28.2	63.2	65.1
Licht — CO <sub>2</sub> 3 Tage	31.0	29.9	29.1	29.3	60.1	59.2
Licht — CO <sub>2</sub> 1% Gl. 3 Tage	34.6	34.9	29.3	29.6	63.9	64.5
Licht + CO <sub>2</sub>	47.3	46.2	30.1	29.5	77.4	75.7

1. Nach Verhinderung der C-Assimilation (und der Zuckerbildung) tritt Eiweiszabnahme auf.

2. Nach Chibnall und Mothes kommt dies während der Nacht immer vor und lassen sich Nacht- und Tagesstoffwechsel unterscheiden.

Dies wird von Weevers und Gouwentak geleugnet. Weevers zeigte dasz bei *Helianthus tuberosus* kein Eiweiszabbau über Nacht stattfindet.

Gouwentak beobachtete bei der Sonnenblume dasz über Nacht sowohl der Eiweiszabbau wie der Eiweiszaufbau überwiegen kann. Sie konnte feststellen dasz auch im Dunkeln Eiweissynthese stattfinden kann, wenn nur N-haltige und N-freie Stoffe anwesend sind.

Bei meinem Objekt ist es dem KH-Mangel zuzuschreiben und die Frage erhebt sich: Tritt Eiweisschwund auf nachdem alle Zucker verschwunden sind oder schon bevor dieser Zustand erreicht ist? <sup>1)</sup>

Meyer (33) hat den Zusammenhang zwischen Eiweisz- und KH-Gehalt studiert. Er stellte fest dasz der Eiweiszgehalt bis zu einem gewissen KH-Wert konstant bleibt; darauf fängt eine energische Spaltung der Eiweiszstoffe an. Die Kohlenhydrate

<sup>1)</sup> Nach meinen Bestimmungen waren die Zucker noch nicht verschwunden, wenn der Eiweiszabbau einsetzte.

schützen das Eiweiß aber es versteht sich dasz Eiweißschwund schon einsetzt wenn noch KH vorhanden sind.

Die Eiweißabnahme die in Blättern im Dunkeln auftritt bringt K. Paech in direktem Zusammenhang mit den Kohlenhydraten. Nach den Anschauungen dieses Forschers wären die Abänderungen des Eiweißgehalts eine Folge der Regulation durch die KH im Sinne der chemischen Massensteuerung.

Je mehr KH vorhanden sind umso grösser soll der Aufbau der Eiweiße sein, unter der Bedingung dasz sich lösliche N-Verbindungen in genügender Menge in der Pflanze befinden.

Paech stellt sich die Gleichgewichtsreaktion sehr simplistisch in folgender Weise vor:



In diesem Gleichgewicht bestimmt die Komponente die im Minimum verkehrt die Richtung nach der es verschiebt.

Paech beobachtet in seinen Versuchen einen verringerten Eiweißschwund nach Zugabe von Glukose.

Bei einer höheren Konzentration ist die Eiweißabnahme geringer und bei einer Konzentration von 5—7% Glukose tritt Zunahme auf.

Es gelingt ihm durch stufenweise Zugabe von verschiedenen Glukoselösungen die Eiweißabnahme einzuschränken und sogar eine schwache Zunahme zu bewirken. Bei Kotyledonen der Lupinen beobachtet er eine Eiweißabnahme von 37.1% auf destilliertem Wasser. Auf 3% und 6% Glukoselösung beträgt diese bezw. 14.6% und 9.7%.

Andererseits findet er eine Wiederherstellung der Eiweißwerte, wenn er nach Verdunkelung Zucker hinzufügt.

Aus seinen Daten könnte man aber auch den Schluss ziehen dasz Zugabe von Glukose den Eiweißabbau einfach hemmt.

Er gibt zu dasz die Rücksynthese nicht sehr ergiebig war aber er sucht die Hauptschwierigkeit im Auffinden der richtigen Zuckerkonzentration.

Es ist aber klar dasz der Eiweißabbau durch Zuckerzugabe gehemmt wird. In den alten untersuchungen Hansteens tritt Eiweißaufbau ein wenn KH vorhanden sind und ausserdem genügend lösl. N-Verbindungen.

Wenn letztere fehlten, wurde die Glukose in der Form von Stärke aufgespeichert.

Aus vielen anderen Beispielen könnte man schlieszen dasz KH Gehalt mit dem Eiweißstoffwechsel im Zusammenhang steht.

Nach Paech wird das zugefügte Glukosemolekül ins Eiweiß

eingebaut. Die Glukose wird zwar nicht als solche einfach ins Eiweismolekül aufgenommen, sondern zuerst in Oxysäure umgebildet wie nach den Erfahrungen K n o o p 's (26, 27) bekannt ist.

Ich habe an erster Stelle untersucht ob der Eiweiszabbau im Dunkeln von der Zuckerkonzentration abhängig ist.

Wenn die P a e c h'sche Theorie richtig ist, musz bei einer höheren Zuckerkonzentration Eiweizaufbau auftreten. Ich habe den Versuch so angeordnet dasz einige von 1,5 g Samen stammenden Portionen in die Dunkelkammer gestellt und mit verschiedenen starken Zuckerlösungen versehen wurden.

Bei höheren Konzentrationen traten Schädigungen auf und ich habe darum nur jene Pflanzen verwendet die am Ende des Versuches völlig frisch waren.

## VERSUCH D.

Versuchsbedingung	Eiweisz-N.		Bemerkungen
Kontrollportionen	38.7	37.1	
Dunkel ohne Zucker	30.2	31.3	Abnahme ungefähr 8.
Dunkel + 1% Zucker	35.2	36.8	Abnahme gering.
" + 2% "	37.0	37.2	Keine Abnahme.
" + 3% "	37.2	38.1	" "
" + 4% "	38.2	37.1	" "
" + 5% "	37.4	34.1	" "
" + 6% "	36.1	35.2	Schädigungen.

Eine deutliche Eiweiszabnahme findet sich bei den Pflanzen ohne Glukose. Auf 1% Glukose ist dieser Abbau geringer und bei höheren Konzentrationen setzt keinerlei Abbau mehr ein.

Der Eiweiszwert bleibt dem der Kontrollportionen gleich.

Niemals findet aber eine Steigerung des ursprünglichen Eiweiszgehalts statt.

Das deutet darauf hin dasz im vorliegenden Falle die Änderung einer Komponente im P a e c h'schen Gleichgewicht nicht unbedingt eine gleiche der anderen Komponenten nach sich zieht. Ein abgestufter Eiweiszabbau der mit der Glukosemenge im Zusammenhange steht, lässt sich nicht feststellen. Eine Konzentration von 2—6% ruft immer denselben Effekt hervor. Nach P a e c h sollte man mit 5% Glukose mehr Eiweisz erhalten als mit 2%. Mit 6% Glukose mindert der Wert sogar ein wenig, vielleicht infolge des anfangenden Absterbens oder des Turgorverlusts. M o t h e s hat gezeigt dasz Turgorverlust Eiweiszabbau hervorruft.

Jedenfalls beobachtete ich keine Vermehrung des Eiweiszspiegels, wie nach der P a e c h'schen Theorie zu erwarten war. Ich

entschloß mich durch weitere Versuche der Lösung dieses Problems näherzukommen. Ein zweiter Versuch wird entscheiden müssen ob die Paech'sche Theorie sich hier behaupten kann oder eine Fiktion ist.

Wird die Pflanze nach *Verdunkelung* zum Eiweißabbau schreiten, dann wird eine später zugefügte Glukoselösung zur Eiweißrücksynthese Anlaß geben müssen.

Ich habe die Pflanzen 3 Tage im Dunkeln stehen lassen und danach Zuckerlösungen dargereicht, die zuerst alle im Autoklaven sterilisiert worden waren.

## VERSUCH E.

<i>Versuchsbedingung</i>	<i>Eiweiß-N.</i>	
Kontrollwert	41.4	
3 Tage im Dunkeln	32.1	31.9
3 Tage ohne Zucker, danach 2 Tage mit 3% Glukose	31.4	32.5
3 Tage ohne Zucker, danach 2 Tage mit 4% Glukose	32.6	32.2
3 Tage ohne Zucker, später 2 Tage 5% Glukose	30.5	32.1
3 Tage ohne Zucker, 2 Tage 6% Glukose	28.2	25.2
5 Tage im Dunkeln	25.4	24.2

Aus der Tabelle geht hervor dasz niemals Zunahme des *Eiweiß-N* auf Kosten der Glukose auftritt. Die 6% Konzentration hat hier vielleicht schädigend gewirkt, wenigstens ist der Wert am niedrigsten. Diese Abnahme ist Turgeszenzverringering zuzuschreiben, während bei den anderen Portionen findet keine abgestufte Hemmung statt.

Wie sich schon aus dem vorhergehenden Versuch zeigte, läßt sich die Hemmung des Eiweißabbaus von einer bestimmten *Konzentration* ab, erzwingen. Es ist mir unmöglich bei diesem Objekt die Versuchsergebnisse in derselben Weise wie Paech zu deuten. Wie haben wir uns die Eiweißabnahme im Dunkeln und die anderen Erscheinungen vorzustellen?

Wenn man die Pflanzen in die Dunkelkammer stellt nimmt die Atmung der Pflanzen möglicherweise ab, aber die Assimilation

wird unmöglich gemacht, und Verbrennungsmaterial wird nicht neu gebildet.

Die Atmungsfermente haben, jedes für sich, eine eigene Wirkungssphäre. Diese liegt zwischen zwei Extremen n. dem vollständig oxydierten und dem vollständig reduzierten Zustande. Andererseits ist der Gehalt des Stoffes worauf das Fermentsystem einwirkt von grösster Bedeutung.

Im Dunkeln scheidet die Assimilation aus und demzufolge wird das Oxydationspotential und auch der Zuckergehalt erniedrigt.

Der Gedanke liegt nahe dasz die zuckerveratmenden Fermente einen derartigen Oxydationszustand erreichen, dasz die Zucker weniger leicht veratmet werden können. So ist es möglich dasz ein Zustand entsteht wobei eine andere Fermentgruppe eingeschaltet wird. Weil deren Oxydationspotential noch nicht so hoch ist wie der anderen Gruppe, kann sie arbeiten und greift z.B. Eiweisz an. Infolgedessen tritt Eiweiszschwund auf. Wenn man durch künstliche Zugabe Zucker darbietet, steigt der Zuckergehalt der Zellen und bietet die Möglichkeit dar dasz bei demselben Oxydationspotential wieder Zucker veratmet werden kann, während die Eiweiszveratmung zurücktritt.

In dieser Weise läßt es sich denken dasz der Eiweiszgehalt der nach Verdunkelung erniedrigt wurde, nach Zugabe der Glukose keiner weiteren Abnahme unterlag, sondern auf der erreichten Höhe blieb. Es leuchtet ein dasz der Zusammenhang zwischen Eiweisz und Zucker eine Atmungsfrage ist und nicht eine chemische Relation, in dem Sinne, dasz die Glukose in die Eiweiszbildung eingreift.

Die Eiweiszveratmung kann durch KH-Zufuhr gehemmt werden, weil die Eiweiszstoffe offenbar veratmet werden wenn der KH-Gehalt abnimmt.

Es ist nicht notwendig dasz die KH ganz verschwinden, nur ist das Überschreiten einer bestimmten Minimumkonzentration Ursache dasz eine Fermentgruppe welche andere Stoffe angreift zu wirken anfängt.

Dieser Erklärungsversuch ist ein ganz anderer als P a e c h's Massensteuerungstheorie.

Ich habe noch einige Bemerkungen über den Zusammenhang zwischen Eiweisz und Zuckern in biochemischem Sinne zu machen.

Ich habe nur auf die Bedeutung der Atmung hingewiesen. Nach P a e c h greift die Monose direkt in den Eiweiszstoffwechsel ein. Er stellt sich den Verlauf des Ab- oder Aufbaus in folgender Weise vor dasz „Die Steuerung nach Aufbau oder Abbau der Eiweisz in der intakten Zelle durch die Mengen der chemisch

aktiven Form der Kohlenhydrate (Monosen) und der aktiven Form des Stickstoffes ( $\text{NH}_3$ ) in der Weise geschieht dasz die im Minimum vorhandene Komponente durch eine Zunahme oder Abnahme des Eiweiszumsatz gleichsinnig nach sich zieht".

Notwendigerweise musz man, wenn man diesen Zusammenhang weiter festlegen will Versuche anstellen, bei denen die Paech'schen Voraussetzungen erfüllt sind.

In den vorhergehenden Versuchen wurden immer Nitrate verwendet. Da man annehmen könnte dasz die Nitratreduktion im Dunkeln nicht oder nur wenig stattfindet, wären die Voraussetzungen für Eiweiszbildung in diesem Falle nur für die Hälfte erfüllt.

Ich machte folgende Versuchsanordnungen.

1.  $\text{NH}_4$ -Salznahrung + Glukose.
2. Bestimmung des Zuckergehalts in der Pflanze.
3. Vergleich zwischen Glukose und Laevulose.

Die allgemeine Annahme ist dasz die  $\text{NH}_4$ -Salze in allen Ph Gebieten hinter den Nitraten zurückbleiben. (Pirschle) (63) oder sie arbeiten bei neutralem hohen Ph schädlich, bei niederem Ph-Wert günstig (Mevius & Engel) (37).

Im allgemeinen war meine Erfahrung dasz Sinapis besser auf Nitraten wächst als auf  $\text{NH}_4$ -Salzen.

Ich versuchte verschiedene Lösungen u.a. Mes.

1.474 KCl.

1.—  $\text{CaSO}_4$

1.—  $\text{MgSO}_4$

0.56  $\text{K}_2\text{HPO}_4$

1.306  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Eine Lösung nach Sachs, von Mes (1930) (34) verändert, wurde benutzt.

#### VERSUCH F.

Die Pflanzen wuchsen 8 Tage auf dest. Wasser, danach wurde eine Lösung zugefügt die 4% Glukose enthielt. Eine andere Gruppe erhielt Sachs ohne Zucker.

Die Versuchsdauer war 5 Tage.

	<i>Eiweisz-N</i>	<i>Lösl.-N.</i>	<i>Tot.-N</i>
Kontrollportion	42.7	26.2	68.9
Sachs + KH	43.8	39.3	83.1
	42.9	39.8	82.7
	42.0	38.1	80.1
Sachs	33.2	42.4	75.6
	30.1	43.7	73.8

Obgleich das Wachstum nicht so schön war als auf Nitrat, was sich aus dem schlecht entwickelten Wurzelsystem und dem Kleinerbleiben der Pflanzen zeigte, weist die Tabelle deutlich auf eine durch Zucker gehemmte Eiweiszabnahme hin.

Der Tot.-N nahm zu und zwar mit Glukose mehr als mit einer zuckerlosen Lösung. Die grözere Zunahme wird vielleicht der Glukose zuzuschreiben sein (Hoagland & Davis). (21, 22). Im Versuch G bestimmte ich zugleich den Monosegehalt in der Pflanze, so dasz ich imstande war Schlüsse über das Verhältnis zwischen Eiweisz und Monose zu ziehen.

## VERSUCH G.

Semimikroversuch 15 Pflanzen pro Portion.	Eiweisz-N.	Glukose.
Kontrollportion		
7 Tage auf Dest. Wasser	3.359 mg.	8.2 mg.
Danach 3 Tage auf Knop	3.299 mg.	7.9 mg.
Dunkel 3 Tage	3.010 mg.	6.3 mg.
	2.987 mg.	4.2 mg.
Licht 3 Tage	4.233 mg.	11.3 mg.
	4.265 mg.	12.8 mg.
Dunkel 3 Tage	3.346 mg.	10.9 mg.
1% Glukose	3.351 mg.	11.2 mg.
Dunkel 3 Tage	3.329 mg.	13.1 mg.
5% Glukose	3.286 mg.	14.6 mg.

Auch in diesem Versuch mit Zucker tritt eine gehemmte Eiweiszabnahme auf. Im Lichte nimmt der Eiweisz-N zu. Der Monosegehalt der Pflanzen war auf Glukoselösung grözzer; es hatte also eine Zuckeraufnahme stattgefunden, die auf 5% Glukose bedeutender war als auf 1% Glukose.

Der Monosegehalt der, dem Lichte ausgesetzten Pflanzen, war geringer als der Gehalt der 5% Glukosepflanzen. Dieses Ergebnis stimmt durchaus mit meinen Anschauungen überein.

Schliesslich liesz sich die Frage stellen ob die Wirkung der Zuckerarten gleich ist.

Bei allen Versuchen verwendete ich Glukose. Ich entschlosz mich daher Laevulose zu probieren. Nach einigen Forschern sei Laevulose besser zur Aufnahme geeignet als Glukose.

Die Hemmung der Eiweiszabnahme ist gleich. Es gibt keinen Unterschied zwischen Laevulose und Glukose.

## VERSUCH H.

Versuchsbedingung	Eiweisz-N.		Lösl.-N.		Total-N.	
Kontrollportion	22.9	23.1	17.1	16.8	40.0	39.9
2 Tage Dunkel 4% Laevulose	24.7	24.9	15.8	16.1	40.5	41.0
2 Tage Dunkel 4% Laevulose	23.7	24.0	14.6	16.0	38.3	40.0
2 Tage Dunkel 4% Glukose	24.6	23.9	17.2	16.9	41.8	40.8
2 Tage Dunkel 4% Glukose	23.5	22.8	15.9	16.3	39.4	39.1
2 Tage Dunkel	18.1	17.9	17.4	15.9	35.5	33.8

Wenn man annimmt dasz der Zucker nicht als solcher und auch nicht nach kleinen Veränderungen ins Eiweiszmolekül eingebaut werden kann, braucht dies nicht zu wundern.

Es gibt dann keinen direkten, sondern einen sehr weit entfernten Zusammenhang zwischen Zucker und Eiweiszpiegel. Konzentrationsänderungen des Zuckers ziehen nicht solche im Eiweiszgehalt nach sich. Nach der Massensteuerungstheorie müszten ganz andere Ergebnisse auftreten.

Bei den Paechschen Versuchen handelt es sich immer um einen gehemmten Eiweiszabbau und nur in einem Falle war eine sehr geringe Zunahme zu konstatieren.

Paech sagt „Wenn auch die Eiweiszrücksynthese nicht sehr ergiebig war, so ist es nicht zu übersehen dasz sie auszerordentlich rasch zu bewerkstelligen ist, sobald es gelingt der Zelle eine genügende Menge Zucker zu bieten.“

Ich möchte aus meinen Ergebnissen den Schlusz ziehen dasz der Zusammenhang zwischen Eiweisz, Zucker und lösl.-N. nicht als eine einfache Gleichgewichtsreaktion vorzustellen ist, für welche die Massensteuerung zutrifft.

M.E. kommt Paech in seiner Schluszbetachtung zu derselben Auffassung, indem er bemerkt „Obwohl wir uns durchaus nicht zwischen der zahlenmäszigen Konzentration des  $\text{NH}_3$  und Monosaccharids auf der einen Seite und Eiweisz auf der anderen Seite ein unmittelbares, durch eine Gleichung reproduzierbares Verhältnis vorstellen dürfen“.

Es versteht sich dasz hiermit nichts anderes besagt ist als

dass das Gesetz der Massensteuerung in diesem nicht bestehenden, denn nicht durch eine Gleichung vorstellbaren Gleichgewicht nicht zutrifft.

Denn eben das Kennzeichnende und das Integrierte jedes chemischen Gleichgewichts ist der deutlich erkennbare Zusammenhang zwischen den Konzentrationen der Komponenten des Systems.

Ich verstehe nicht wie man in der lebenden Zelle ein solches Gleichgewicht annehmen kann, weil der Zusammenhang zwischen diesen Substanzen unbekannt ist. Auch sind die Reaktionen die notwendig sind um die Monosen in geeignete C-Körper zu verändern nicht durch einfache chemische Gleichungen vorzustellen.

Es ist nur für Stoffe von denen man weiß dass sie mit einander in dynamischem Zusammenhang stehen erlaubt ein Gleichgewicht anzugeben. Aus der Tatsache dass 2 Stoffe mit einander im Zusammenhang stehen, darf man nicht sofort auf ein labiles Gleichgewicht schlieszen.

Die Feststellung dass die KH befähigt sind den Eiweiszabbau zu verhindern ist nicht neu; um etwas anderes handelt es sich bei der Behauptung Paech's dass: „bei reichlichem Monosegehalt durch bloszen  $\text{NH}_4$ -Salzzufuhr Proteinsynthese erzwungen wird“.

Es finden sich in meinen Ergebnissen keine Gründe für die Auffassung dass aus KH und lösl.-N unbedingt Eiweisz gebildet wird.

Es lässt sich nicht leugnen dass die Monosen in stande sind den Eiweiszpiegel zu beeinflussen aber es scheint mir dass die primären Verbindungen, die bei der Assimilation gebildet werden eher für eine Eiweiszsynthese in Betracht kommen als die Monosen. Solche Substanzen wären z.B. Aldehyden. Ich werde später weiter verfolgen wie bestimmte C-Körper ausserordentlich leicht eine Synthese hervorrufen können.

Es leuchtet ein dass Paech auch einen regulierenden Faktor annehmen musz, was er aber nicht tut.

Er meint dass im Gleichgewicht Eiweisz  $\rightleftharpoons \text{NH}_3 + \text{Glukose}$ , der im Minimum verkehrende Faktor das Gleichgewicht verschiebt.

Das ist nicht sehr klar, denn was bedeutet z.B. Eine Komponente verkehrt im Minimum? Das Minimum wäre ein bestimmter Gehalt den die Zelle zu vermeiden sucht. In den verschiedenen Zellen kann diese Minimalkonzentration nicht gleich sein, denn bei Blättern ist das Verhältnis ganz anders als in reifenden Samen, die Reserve-eiweisz enthalten.

Ohne einen Faktor der alles in einer für jede Zelle günstigen Richtung reguliert, lässt sich das Gleichgewicht nicht vorstellen.

So kommt man wieder auf den unbekanntem Faktor zurück der nach Smirnow alles reguliert.

Mit einer simplistischen Vorstellung eines physiologischen Prozesses wie Paech es macht, stellt man im allgemeinen eher ein neues Problem statt eines zur Lösung zu bringen.

Paech hat das Eiweißproblem nicht gelöst, weil er ein Prinzip, das er auf induktivem Wege erhalten hat, für allgemein gültig erklärt.

Wir führen dies als Beispiel einer der Theorienbildungen in der Biologie an, bei der mit den mangelhaften Kenntnissen die wir vom Chemismus besitzen, durch generalisierende Induktion eine Ansicht erworben wurde, die das Wesentliche des Problems nicht berührt. Denn nur die Tatsache dasz die Monose- und  $\text{NH}_3$ -Konzentrationen den Eiweißgehalt beeinflussen trägt nichts zur Lösung der Frage bei.

Das ist nur möglich, wenn man untersucht wie Eiweiß entsteht und wie  $\text{NH}_3$  oder Glukose zum Eiweißaufbau verwendet werden kann.

Als ich gesehen hatte dasz zur Eiweißsynthese für Sinapis Monosen nicht leicht verwendbar sind, versuchte ich andere organische Substanzen mit einfacheren C-Ketten.

Ich wählte deren zwei: Asparagin und  $\text{NH}_4$ -Laktat.

Wiederholt wurde der Zusammenhang zwischen Asparagin und dem Eiweißstoffwechsel studiert.

Heute betrachtet man Asparagin als  $\text{NH}_3$ -Entgifter. Die alte Pfeffer'sche Meinung findet keine Unterstützung mehr. Nach dieser Theorie war das Asparagin ein sehr wichtiges Element zum Eiweißaufbau, so dasz durch einfache Polymerisation des Asparaginmoleküls Eiweiß gebildet wurde.

Loew (32) kennt dem Asparagin eine wichtige Rolle bei der Eiweißbildung zu. Eiweiße werden seiner Meinung nach mit Elementen eines Sulphydrilgruppen enthaltenden Asparaginaldehyds aufgebaut.

Laurent & Marchal haben bei Sinapis die Wirkung des Asparagins zu erforschen gesucht.

Folgende Frage erhob sich:

„La Moutarde peut-elle produire des substances albuminoïdes aux dépens des corps amidés fournis comme aliments?“

Die Versuchsdaten waren

Kontrollwert	156.7 mg Eiweiß
Pflanzen auf 1%/ <sub>00</sub> Asparagin	
Licht	156.3 mg Eiweiß
Dunkel	142.3 mg Eiweiß

Es liesz sich also keine Eiweiszbildung auf Kosten des Asparagins beobachten.

Es gelang H a n s t e e n eine mit dem Asparagin- und Glukosegehalt proportionale Eiweiszbildung zu erzielen.

Meine Versuche mit Asparaginzugabe geschahen im Dunkeln und im Lichte.

Die Lösung enthielt 2% Glukose, 0.5% Asparagin in dem einen, 0.5% Asparagin im anderen Falle.

Die Lösungen waren vor dem Gebrauch sterilisiert. Während der Versuchsdauer wurden täglich frische Lösungen gegeben.

Meine Ergebnisse sind folgende (Versuch I).

Im Dunkeln ohne Zucker oder Asparagin tritt wie immer Eiweiszabnahme auf.

Im Dunkeln + KH vermindert diese Abnahme. Eine überwiegende Eiweiszsynthese findet auf Glukose + Asparagin im Dunkeln statt.

Die Amidfraktion hat ebenfalls zugenommen. Es stellt sich weiter heraus dasz die Werte des Eiweisz-N bei den Dunkelpflanzen ebenso grosz sind wie bei den Lichtpflanzen im CO<sub>2</sub>-losen Raum.

Bei den Versuchen im Licht-CO<sub>2</sub> und im Dunkeln, nur mit Asparagin, nimmt der Eiweisz-N wenig zu. In diesem Falle kann man besser 31.7 statt 42.1 (Dunkelportion) als Vergleichswert annehmen.

Es hat auf Kosten des Asparagins eine wichtige Eiweiszbildung stattgefunden: Das Asparagin wird nicht in der Pflanze aufgespeichert, denn der Amid + NH<sub>3</sub> N bleiben konstant.

Das Asparagin lässt sich also leicht ins Eiweizmolekül aufnehmen.

Weil die Pflanzen, welche Glukose zur Verfügung haben, ihre Eiweize im Dunkeln nicht angreifen, werden sie imstande sein alles zugeführte Asparagin zur Eiweiszbildung zu verwenden.

Bei der Bildung des Asparagins übt das Licht keinen Einfluss aus, insofern sich aus der Tabelle folgern lässt, denn die Daten der Kulturen im Licht-CO<sub>2</sub> und im Dunkeln sind von derselben Grösze.

Das Asparagin ist also leicht zu verarbeiten. Dieses lag einigermaßen auf der Hand weil es NH<sub>2</sub>-Gruppen enthält, d.h. Stickstoff in reduziertem Zustande und der C-Körper kann in biochemisch wichtige Substanzen umgebildet werden.

Der zweite Stoff mit dem ich Eiweiszbildung zu erzielen versuchte war NH<sub>4</sub>-Laktat.

Ich wählte diesen Stoff, nicht nur weil M o t h e s eine ergiebige Eiweiszsynthese im Blatte erhielt, sondern weil er eine wichtige

## VERSUCH I.

Versuchsbedingung	Eiweisz-N	Amid + NH <sub>3</sub>	lös.-N	Tot.-N
Kontrollportion	42.1	13.2	30.8	72.9
5 Tage Dunkel	33.9	11.6	27.8	61.7
	33.5	13.1	28.3	61.8
5 Tage Dunkel + 2% Glukose	39.2	15.3	29.1	68.3
	38.9	16.1	28.9	67.8
5 Tage Dunkel + 0.5% Asparagin	44.5	15.4	32.7	77.2
	46.2	15.1	31.7	77.9
5 Tage Licht-CO <sub>2</sub> 0.5% Asparagin	42.1	13.2	36.4	78.5
	45.3	14.9	30.3	75.6
5 Tage Dunkel + 0.5% Asparagin + 2% Glukose	52.5	20.8	42.4	94.9
	49.8	21.9	43.5	93.3
5 Tage Licht-CO <sub>2</sub> 0.5% Asparagin + 2% Glukose	48.2	19.7	41.9	90.1
	51.9	21.3	42.3	94.2

Struktur hat. Die C-Kette ist die Milchsäure-Gruppe und der N ist in der Form der NH<sub>4</sub>-Gruppe anwesend. Soll der Stoff verwendbar sein, so muss die NH<sub>4</sub>-Gruppe sich in eine NH<sub>2</sub>-Gruppe umbilden. Es wäre möglich dass die NH<sub>2</sub>-Gruppenbildung vom Lichte beeinflusst würde.

Ich verglich daher Kulturen im Lichte — CO<sub>2</sub> und im Dunkeln.

Es wurde eine 0.4 mol. Lösung des NH<sub>4</sub>-Laktats verwendet. Die N-Fractionen wurden nach der Halbmikromethode bestimmt.

Aus dem Versuch J. lässt sich ableiten dass mit Laktat eine Eiweiszbildung eintritt und ausserdem Tot.-N-Zunahme.

Die Zunahme des Eiweisz-N weist bei den Laktatpflanzen im Lichte und im Dunkeln gleichen Wert auf. Es scheint also dass die Umbildung der NH<sub>4</sub>-Gruppe in eine für Eiweisz wichtige Gruppe nicht vom Lichte beeinflusst wird, d.h. ohne Licht verläuft die Reaktion ebenfalls.

Wir werden niemals sagen können dass das Licht gar nichts zu bedeuten hat, denn besonders in letzter Zeit hat man darzutun versucht dass das Licht das Protoplasma beeinflusst.

Ich glaube aber aus meinen Versuchen schlieszen zu können dass die von mir verfolgte Etappen der Eiweiszbildung d.h. aus

## VERSUCH J.

15 Pflanzen Semimikroversuch	Eiweisz-N	Löst-N.	Tot.-N	NH <sub>3</sub> -N	Amid-N
Kontrollversuch	3.36 mg	0.75 mg	4.11 mg	0.24 mg	0.35 mg
	3.35	0.88	4.23	0.11	0.29
Dunkel	3.29	1.57	4.86	0.65	0.05
	3.26	1.45	4.71	0.58	0.03
Dunkel + Laktat	4.14	1.35	5.49	0.96	0.04
	4.19	1.42	5.61	0.89	0.04
Licht CO <sub>2</sub> + Laktat	3.90	1.43	5.33	0.63	0.03
	4.11	1.38	5.49	0.58	0.05
	4.02	1.40	5.42	0.56	0.04

Amiden und Milchsäure-C-Ketten und aus der Umbildung der NH<sub>4</sub>- in NH<sub>2</sub>-Gruppen keine photokatalytische Prozesse sind.

Die Lichteinflüsse sind nur indirekt d.h. die Senkung des KH Gehalts der Zelle und das Ausbleiben der für die Bildung wichtigen Primärsubstanzen der Assimilation, beeinflussen den Eiweiszpiegel.

Weil die Assimilation versagt, ist die Neubildung der Substanzen die ins Eiweizmolekül eingeschaltet werden können verhindert, und die Senkung des KH-Spiegels ermöglicht das Auftreten einer Eiweizveratmung.

Ich glaube aus meinen Ergebnissen den Schluss ziehen zu dürfen dasz Eiweiz und Glukose nicht in direktem Zusammenhang miteinander stehen.

Die Eiweizsynthese bedingt offenbar weniger weit fortgeschrittene Substanzen, deren C-Körper mehr den Bausteinen aus denen die Eiweize gebildet werden gleichkommen.

## VIII. KAPITEL.

## Einflussz des Sauerstoffs.

Der von Mothes festgestellte Einflussz des O<sub>2</sub> auf den Eiweizspiegel veranlaszte mich zu versuchen dieser Frage näherzukommen.

Über den O<sub>2</sub>-Einflussz waren schon längst Versuche angestellt worden.

Zaleski 1901 (98) beobachtete bei *Allium Cepa* die bemerkenswerte Erscheinung dasz beim Austreiben der Zwiebeln eine Zunahme des Eiweiz-N stattfand, wofür Sauerstoff notwendig ist. Ebenfalls entdeckte er dasz beim Zerschneiden der Zwiebeln Eiweizsynthese auftritt. Er sagte: „Sauerstoffanwesenheit ist eine

notwendige Bedingung für die Eiweißsynthese, da in  $O_2$ -freier Atmosphäre in zerschnittenen Zwiebeln keine Eiweißvermehrung zu beobachten ist".

Palladin 1888 (68) stellte den Einfluss in diesem Sinne des  $O_2$  in Abrede.

Er beobachtete jedoch einen großen Einfluss des  $O_2$  auf die normale Eiweißhydrolyse in hemmendem Sinne.

Die proteolytische Fermente sind anaerob. In der lebenden Zelle wird die Wirkung der Fermente vor dem schädlichen Einfluss der gleichzeitig stattfindenden Oxydationsprozesse geschützt.

Nach dem Tode fangen, nach Palladin, die oxydierenden Reaktionen an, die Fermente zu vergiften, weil die regulierende Wirkung des Protoplasmas nicht mehr besteht.

Mothes 1933 (45) schloss aus seinen Versuchen, dass in der Pflanze 2 Prozesse unabhängig von einander verlaufen n. Eiweißabbau und -Aufbau. Wenn anscheinend kein Umsatz stattfindet, z.B. weil der Eiweißgehalt unverändert bleibt, wird dies dadurch verursacht weil Aufbau und Abbau sich die Wage halten.

Das bedeutendste Ergebnis der Mothes'schen Forschungen liegt hierin, dass dem  $O_2$  beim Eiweißstoffwechsel eine wichtige Rolle zuzukommen scheint.

Aus früheren Arbeiten (Mothes 1926 (41,42), Borodin 1878 (5)) hatte sich schon ergeben dass Asparaginbildung vom Sauerstoff abhängig ist.

Palladin beobachtete dass der  $O_2$  den Bau der Eiweißzerfallsprodukte beeinflusste.

Es versteht sich leicht das  $O_2$  bei der Desaminierung notwendig ist. Mothes kennt dem  $O_2$  eine viel größere Rolle zu als man bisher angenommen hatte. Er nennt  $O_2$  den entscheidenden Regulator beim Eiweißstoffwechsel. Dem von Waldtschmidt-Leitz 1930, 1931 und Graszmann 1928, 1929 in tierischen Geweben aufgefundenen Glutathion entsprechend nimmt Mothes einen Aktivator an der zur Aktivierung des Ferments dient das den Eiweißstoffwechsel reguliert.

Dieser Aktivator ist dem Glutathion nicht ganz gleich; er enthält aber auch SH-Gruppen. Wenn der Aktivator oxydiert wird, wird er unwirksam und Proteolyse bleibt aus.

Es ist demnach nur vom  $O_2$ -Gehalt der Zelle abhängig ob Eiweißabbau stattfinden kann.

Mothes drückt sich in diesen Worten aus: „Das in der Zelle herrschende Oxydationspotential“.

Er möchte diesen Einfluss statt abbauhemmend sogar synthese-fördernd nennen. Der  $O_2$ -Gehalt in der Pflanze hängt vom Öff-

nungszustande der Stomata, Assimilation u.s.w. ab. Es leuchtet ein, dasz das Licht bei grünen Pflanzen nach M o t h e s die Eiweiss-synthese fördert, denn bei Belichtung öffnen sich die Stomata und fängt die Assimilation an. Durch diese beiden Prozesse ändert sich das Oxydationspotential der Zellen direkt. Es ist aber merkwürdig dasz M o t h e s behauptet dasz die normale  $O_2$ -Tension der Luft nicht ausreicht um wichtige Synthesen zu unterhalten.

Im Lichte ohne  $CO_2$  müsste nach M o t h e s grösseren Abbau eintreten als im Dunkeln. Wie oben schon erwähnt wurde ging dies aus meinen Versuchen nicht hervor.

Die M o t h e s s c h e Theorie wurde von P a e c h kritisiert.

Ich habe in VII. Kapitel schon besprochen wie Paech sich die Regulierung des Eiweiszstoffwechsels vorstellt.

Er beobachtete bei Triticum, dasz die Proteolyse in der lebenden Pflanze unabhängig vom  $O_2$  war.

Das Eiweiszspaltende Ferment liegt nach P a e c h in der lebenden Pflanze aktiv vor und ist nicht aktivierbar. Bei Nekrobiose wird es vergiftet und unwirksam und verliert seine Unempfindlichkeit für Aktivatoren.

Er betrachtet den Abbau den M o t h e s in anaerober Umgebung erhält, als eine Folge des Absterbens.

Die 2 Meinungen sind in der Folgenden Weise vorzustellen:

#### M o t h e s

Ferment aktiviert  
von Sulfhydrilkörpern  
Sauerstoff vernichtet die  
S-H Gruppen  
 $O + SH = H_2O + S-S$   
Der Aktivator wird  
unwirksam.

#### P a e c h

Ferment aktiv,  
anaerob in der  
lebenden Pflanze.  
 $O_2$  vergiftet das  
Ferment bei Nekrobiose  
Danach ist  
Aktivierung möglich.

Es wäre also eine postmortale Erscheinung.

Ich habe versucht welchen Einflusz der  $O_2$  bei Sinapis auf den normalen Eiweiszstoffwechsel ausübt. Ich verglich zu diesem Zwecke Eiweiszabbau in Dunkeln mit wenig und mit viel  $O_2$ .

Die Versuchsanordnung war folgende:

Die Pflanzen wurden in Eksikkatoren gestellt. In den einen Eksikkator wurde zwecks  $O_2$ -armer Atmosphäre eine Pyrogallol-lösung gebracht die schwach alkalisch war. Danach wurde dieser Eksikkator mit einer Glasplatte verschlossen. Aus einer  $O_2$ -Bombe liess ich einen konstanten  $O_2$ -Strom in den zweiten Eksikkator strömen. Die Zusammensetzung war 95%  $O_2$ .

Bei Dunkelversuchen in normaler Luft wurden die Pflanzen unter eine Glasglocke gestellt die zu bestimmten Zeiten aufgehoben wurde. Im Dunkeln + O<sub>2</sub> blieb der Eiweisz-N dem des Kontrollwertes gleich. Der Total-N nimmt im O<sub>2</sub>-armen Raum ab.

## VERSUCH K.

Versuchsdauer 3 Tage	Eiweisz-N.		Lösl.-N.		Total-N.	
Kontrolle	42.4		25.0		67.4	
Dunkel + O <sub>2</sub>	41.9	42.2	26.2	25.3	68.1	67.5
Dunkel - O <sub>2</sub>	34.5	33.8	29.2	26.2	63.7	60.0
Dunkel (Normal)	34.2	35.4	33.2	34.1	67.4	69.5

Dieser Versuch steht mit einem andern in Widerspruch. Dabei ist der Eiweiszabbau in beiden Fällen gleich (Versuch L.).

## VERSUCH L.

5 Tage	Eiweisz-N.		Lösl.-N.		Total-N.	
Kontrolle	38.2	39.2	25.9	24.4	64.8	63.5
Dunkel + O <sub>2</sub>	35.5	34.2	25.0	27.2	60.5	61.2
Dunkel	33.9	33.5	27.8	28.3	61.7	61.8

Wenn die Ergebnisse nicht mit einander im Einklang sind, können verschieden Ursachen dafür verantwortlich sein.

1. Der O<sub>2</sub> übt gar keinen Einfluss aus und die Eiweiszabnahme wird von anderen zum Teil unbekanntem Faktoren verursacht.

2. Der O<sub>2</sub> beeinflusst die Bildung der Eiweiszzeretzungsprodukte so dass sich kein direkter Zusammenhang mit dem Eiweiszspiegel beobachten lässt.

3. Der O<sub>2</sub> konnte nicht hineindiffundieren. (Diese Frage muss offen gelassen werden.) Das bedeutet dass der Aminosäure — oder NH<sub>3</sub>-Gehalt die Eiweiszabnahme hemmen können.

Ich habe durch andere Versuche diese Fragen zu lösen gesucht.

Zuerst wurden die Analysen während einiger Tage vorgenommen und zeigte es sich wie die Eiweiszabnahme bei O<sub>2</sub>-Reichtum und in normaler Atmosphäre verläuft.

Versuch M. dauerte 5 Tage und jede 2. Tage wurde geerntet. Aus der Tabelle ergibt sich dass die Abnahme im Sauerstoff etwas geringer war als in normaler Luft.

Wir dürfen annehmen dass in allen Versuchen die Stomata ge-

## VERSUCH M.

<i>Versuchsdauer</i>	<i>Eiweisz</i>		<i>Versuchsdauer</i>	<i>Normal.</i>	
Kontrollwert	37.2		Kontrollwert	36.3	
2 Tage Dunkel + O <sub>2</sub>	34.5		2 Tage Dunkel	31.0	
4 Tage Dunkel + O <sub>2</sub>	33.8	32.9	4 Tage Dunkel	30.2	29.8
5 Tage Dunkel + O <sub>2</sub>	31.0		5 Tage Dunkel	28.2	

geschlossen waren. So ist es wahrscheinlich dasz der O<sub>2</sub> nicht oder schwer hineindiffundieren konnte.

Ich habe deshalb 2 Lichtkulturen miteinander verglichen. Bei diesem Versuch war es dem O<sub>2</sub> möglich durch die geöffnete Stomata hineinzudringen.

Die Zunahme des Eiweisz-N ist im O<sub>2</sub> nicht grözser als bei normaler O<sub>2</sub>-Tension. Nur der Tot.-N hat etwas mehr zugenommen und diese Zunahme wäre vielleicht der höheren O<sub>2</sub>-Tension zuzuschreiben.

## VERSUCH N.

	<i>Eiweisz-N.</i>		<i>Lösl.-N.</i>		<i>Total-N.</i>	
Kontrollwert	39.4	38.2	24.9	25.4	64.3	63.6
3 Tage Licht + O <sub>2</sub>	44.5	45.2	26.8	27.1	71.3	72.3
3 Tage Licht (Normal)	44.3	45.8	22.1	23.4	66.4	69.2

Damit ich die Zusammenstellung des lösl.-N besser untersuchen konnte habe ich in einem zweiten Versuch die einzelnen Fraktionen mittels der Halbmikromethode bestimmt. Die Anordnung war dieselbe wie beim vorgehenden Versuche.

Aus der Tabelle O. ist ersichtlich dasz nach 24 Stunden der Eiweiszwert der Pflanzen in 95% O<sub>2</sub>, niedriger ist als der, der Pflanzen in 20% oder weniger als 20% O<sub>2</sub>. Nach 48 Stunden sind alle Eiweiszwerte, mit Bezug auf die Kontrolle, vermindert.

In den zweiten 24 Stunden ist bei den O<sub>2</sub>-armen Pflanzen plötzlicher Eiweiszabbau eingetreten.

Er ist mit NH<sub>3</sub>-N-Zunahme und Total-N-Abnahme verbunden die wohl dem Absterben zuzuschreiben ist.

Es ist notwendig die beiden Zeiten hinsichtlich der Schlussfolgerung in Betracht zu ziehen, denn sonst würden die Ergebnisse nicht miteinander übereinstimmen.

Aus den ersten 24 Stunden ergibt sich „Der O<sub>2</sub> fördert den

## VERSUCH O.

<i>Semimikro-Versuch</i>	<i>Eiweisz-N.</i>	<i>Löst. N.</i>	<i>Total-N.</i>	<i>Amid-N.</i>	<i>NH<sub>3</sub>-N.</i>
Kontrollwert	3.54 3.45	0.75 0.86	4.29 4.31	0.44 0.42	0.03 0.03
Nach 24 Stunden mit O <sub>2</sub> im Dunkeln (95% O <sub>2</sub> )	2.78 2.84	1.73 1.61	4.51 4.45	0.08 0.10	0.45 0.51
Nach 24 Stunden ohne O <sub>2</sub> im Dunkeln	3.05 3.20	1.21 1.12	4.26 4.32	0.05 0.04	0.27 0.28
Nach 24 Stunden Normale Luft im Dunkeln	3.15 3.06 3.04	1.39 1.26 1.42	4.54 4.32 4.46	0.03 0.04 0.04	0.26 0.27 0.24
Nach 48 Stunden mit O <sub>2</sub> 95% im Dunkeln	2.56 2.43	1.97 2.06	4.53 4.49	0.04 0.03	0.62 0.59
Nach 48 Stunden ohne O <sub>2</sub> im Dunkeln	2.21 2.13	1.80 1.19	4.01 4.12	<i>spur</i> <i>spur</i>	0.96 0.97
Nach 48 Stunden Normal im Dunkeln	2.41 2.52	1.96 1.90	4.37 4.42	— —	0.72 0.62

Eiweiszabbau, aus den 2. Bei Sauerstoffmangel findet Abbau statt. Es ist auf diese Weise möglich dasz die Ergebnisse *Mothes'* und *Paechs* einander widersprechen.

Nach meinen Ergebnissen ist die allgemein regulatorische Wirkung des O<sub>2</sub> nicht deutlich ausgeprägt. Beim obenerwähnten Versuch O. hat sich herausgestellt dasz in höheren O<sub>2</sub>-Konzentrationen eine grözere Abnahme des Eiweisz-N stattfinden kann als in einer niedrigen.

Der O<sub>2</sub> wirkt auf andere Stoffwechselfvorgänge und übt auf den Oxydationswert der Fermentgruppen einen Einfluss aus. Wie die schnellere Abnahme in normaler Atmosphäre zu erklären ist, lässt sich nicht näher bestimmen. Es scheint mir dasz die O<sub>2</sub>-Einflüsse nicht so einfach sind wie *Mothes* angibt.

Der Eiweiszstoffwechsel wird in mehr als einer Hinsicht vom O<sub>2</sub> beeinflusst, aber O<sub>2</sub> ist kein entscheidender Regulator.

Auszerdem wirken noch unbekannte Faktoren.

## IX. KAPITEL

## Ultraviolettes Licht.

Bei der Besprechung des Zusammenhanges zwischen Licht und Eiweisz habe ich das Uviollicht geradezu auszer Acht gelassen.

Ich habe es getan weil die Strahlen die zum kurzwelligen Teil des Spektrums gehören eine besondere chemische Wirkung ausüben. Neuberger (49) zeigte dass d-Glukose mit Quarzlampenbestrahlung in  $H_2$ ,  $CH_4$ ,  $CO_2$  und  $CO$  gespalten wird. Die bereits wiederholt genannten Untersuchungen Laurent's und Marchal's ergaben: La synthèse des albuminoïdes, très active à la lumière complète; est surtout favorisée par la portion la plus réfrangible du spectre et particulièrement par les rayons ultraviolets.

Der Beweis dieses Satzes ist keineswegs ausschlaggebend. Bei den Versuchen sind die ultravioletten Strahlen schon von den Glasglocken absorbiert worden. Welchen Einfluss haben uviol. Strahlen im allgemeinen auf eine Pflanze?

Nach den meisten Erfahrungen wurde es klar dass das Licht der Quecksilberlampen eine schädigende Wirkung hatte.

Man wusste schon dass einzellige Organismen mittels ultravioletter Strahlung getötet werden konnten. Barr & Bovie 1923 (2) zeigten dass Bestrahlungen die nur eine Minute dauerten den *Tod* verursachten. Die lethale Wirkung war ausserordentlich stark. Bei höheren Pflanzen wurde die Wirkung der Strahlen von Kluver (25) zuerst eingehend studiert.

Er verwendete eine Quecksilberlampe. Pflanzen wie *Aucuba* zeigten ernste Schädigungen. Die schädigende Wirkung war hauptsächlich den Strahlen mit Wellenlänge von weniger als  $300 \mu$  zuzuschreiben.

Nach seinen Erfahrungen üben die ultravioletten Strahlen keine verheerende Wirkung auf das Chlorophyll aus, dagegen wurde Anthocyan sehr wenig verändert<sup>1)</sup>. Ursprung & Blum (89) untersuchten mittels der plasmolytischen Methode eine Anzahl Fälle die alle eine schädigende Wirkung des ultravioletten Lichtes aufwiesen.

Dieselbe sei dem Sauerstoffmangel zuzuschreiben, der bei etiolierten Pflanzen grösser sein soll als bei grünen chlorophyllhaltenden.

Moldenhauer-Brooks (38) zeigte dass die Permeabilität bei *Valonia* grösztenteils vom Lichte abhängig ist. Es stellte sich heraus dass die Permeabilität des 2.6. Dibromphenolindophenols im Uviollicht am schnellsten stattfand.

M. E. Delf 1928 (8) studierte die Wirkung der verschiedenen Strahlen. Sie wies nach dass die Strahlen von 2900-3200 Å. E. biologisch sehr aktiv sind. Im allgemeinen war bei kleinen

<sup>1)</sup> Auch Stoklasa (80) hat den schädigenden Einfluss der ultravioletten Strahlen beobachtet.

Bestrahlungen während langer Versuchsdauer ein günstiger Erfolg zu erreichen.

Ethel Eltinge 1928 (11) arbeitete mit der Quarzlampe. Eine ungeschützte Lampe war für höhere Pflanzen immer schädlich. In bestimmten Fällen war eine günstige Wirkung zu erzielen wenn zwischen Lampe und Pflanze ein Vitaglasschirm aufgestellt wurde.

Es ist notwendig für jede Pflanze festzustellen wann die schädigende Wirkung anfängt.

P. Metzner 1930 (35) beobachtete dass Strahlen von  $300 \mu \mu$  immer Schädigend wirken. Diese Wirkung beruht auf der Denaturierung und Koagulation der Eiweisse. Eine dünne Glasplatte war schon imstande die schädigende Wirkung der Strahlen mit kürzester Wellenlänge zu verhindern. Die Uviol-Strahlen mit langer  $\lambda$  wirken nicht lethal und werden nicht so stark absorbiert wie die Strahlen mit kleiner  $\lambda$ .

Tottingham und Moore (86) verwendeten Vitaglas. Diese Glasart lässt Strahlen durch bis  $2894 \text{ \AA. E.}$ , während Fensterglas nur bis  $3400 \text{ \AA. E.}$  durchlässt. Sie untersuchten den Einfluss des Vitaglases auf den Eiweisz-N und lösl.-N. Oft wurde eine Zunahme der beiden Fraktionen festgestellt.

Gouwentak 1929 (15) arbeitete mit *Helianthus*. Sie verglich den Eiweiszgehalt der Pflanzen die unter Vitaglas dem Sonnenlicht ausgesetzt waren mit dem der Pflanzen unter normalem Fensterglas. Sie konnte keine Unterschiede feststellen und daher war auf eine fördernde Wirkung der Strahlen mit kurzer  $\lambda$  nicht zu schliessen. Ich möchte bemerken dass dieser Versuch keineswegs ausschlaggebend ist, denn das Uviollicht dass auf unsrer Breite die Erde erreicht, ist vielleicht zu schwach um einen Effekt zu bewerkstelligen.

W. Arnold 1933 (1) beobachtete dass ultraviolettes Licht bestimmter Wellenlänge den Assimilationsapparat von *Chlorella* ausser Tätigkeit setzt, während die Atmung nicht beeinflusst wurde.

Bei meinen eigenen Versuchen verwendete ich eine Quarzlampe die Prof. Stomps mir bereitwilligst zur Verfügung stellte.

Diese Lampe wurde in eine Dunkelkammer mit konstanter Temperatur in einer Entfernung von  $0.5 \text{ m}$  vom zu bestrahlenden Objekt aufgestellt. Die Versuchspflanzen wurden im Gewächshaus auf Knopscher Lösung gezüchtet. Nach 11 Tagen wurden sie in die Dunkelkammer gebracht, und unter Sonnenlichtlampen gestellt. Die eine Hälfte der Portionen wurde auch noch mit der Quarzlampe bestrahlt. Nach meinen Erfahrungen waren die

kürzesten Bestrahlungen mit unabgeschirmter Lampe lethal. Die Pflanzen bekamen zusammengeschrumpfte Blätter und entwickelten sich nicht weiter. Im diesen Fällen bestimmte ich keine N-Fractionen. Wenn die Lampe brennt, entwickelt sich Ozon das vielleicht schädigend wirkt. K o f m a n 1933 (28) hat aber dargetan dasz Ozon auf die Keimung der Samen keinen Einfluß ausübt, nur besteht die Möglichkeit dasz die Blätter geschädigt werden.

Meine späteren Versuche wurden unter Benutzung eines Schirmes ausgeführt. (Hierfür diente eine dünne Glasplatte).

Jeden Tag wurde 15 Sek. bestrahlt. (Versuch P.)

VERSUCH P.

	Eiweisz-N.		Lösl. N.		Total-N.	
Kontrollwert	25.6		35.3		60.9	
Licht	27.7	29.2	33.0	31.9	60.7	61.1
Licht 15 sek. Uviollicht	31.3	32.1	35.4	36.2	66.7	68.3
Kontrollwert	36.2		25.9		62.1	
Licht	42.1	41.9	25.0	27.1	67.1	69.0
Licht 15 sek. Uviollicht	44.6	45.9	24.9	26.1	69.5	72.0
Kontrollwert	38.3		23.2		61.5	
Licht	43.5	42.4	24.3	25.0	67.8	67.4
Licht 15 sek. Uviollicht	46.2	47.0	24.2	23.0	70.4	70.0

Aus meinen Ergebnissen geht hervor dasz die Eiweiszwerte und der Tot.-N bei Bestrahlung immer höher sind. Die Aufnahme der N-Verbindungen wurde vielleicht stimuliert und demzufolge die Eiweiszbildung ebenfalls. Die Ergebnisse stimmen mit den von T o t t i n g h a m, S t e p h e n s und L e a s e (87) dargebrachten Tatsachen völlig überein. Sie stellten einen fördernden Einfluß des kurzwelligen Lichtes auf den Eiweiszstoffwechsel fest.

Weil die Glasplatte Strahlen von 3400-3900 Å. E. durchläßt können wir diesen Uviol-Strahlen einen günstigen Einfluß zuschreiben, während die kurzwelligen (3000 Å. E.) immer lethal sind.

Die alte Meinung L a u r e n t & M a r c h a l's erhält sich daher vielleicht mit Recht, obwohl ihre Nachweisversuche nicht imstande waren sie einwandfrei zu beweisen.

## X. KAPITEL

### Schluszbetrachtung.

Zum Schlusze werde ich nach der Besprechung meiner Versuche,

die Ergebnisse im Zusammenhang miteinander betrachten und mit den von frühern Forschern dargebrachten Tatsachen vergleichen. Die Lichteinflüsse habe ich wie Ullrich nach ihrer Wirkung unterschieden.

Tatsächlich handelt es sich nur um direkte Einflüsse, denn wir müssen annehmen dasz die Eiweißbildung indirekt vom Lichte abhängig sein wird, weil die Kohlensäureassimilation die C-Ketten liefert.

Es sei bemerkt dasz wenn von Eiweißaufbau die Rede ist, damit gemeint wird dasz beim gleichzeitig verlaufenden Auf- und Abbau die Synthese überwiegt, sodasz eine Zunahme des Eiweiß-N festgestellt wird.

Direkte Lichteinflüsse wurden nur von wenigen Forschern angenommen (Laurent & Marchal, Godlewski, Warburg).

Ich suchte den direkten Einflusz mit den Versuchen zu beweisen, die im Lichte unter Ausschaltung der C-assimilation vorgenommen, und mit den Kontrollportionen im Dunkeln verglichen wurden.

Gäbe es wirklich einen direkten Einflusz, so müszte die Eiweißabnahme im Lichte ohne CO<sub>2</sub> geringer gewesen sein als im Dunkeln, was in meinen Versuchen jedoch niemals der Fall war. Meine Daten zeigten im Lichte ohne CO<sub>2</sub> immer eine Eiweißabnahme die ebenso grosz war wie die im Dunkeln auftretende Verminderung. Daraus liesz sich eindeutig ein Fehlen der direkten Lichtwirkung folgern.

Die Ergebnisse dieser Versuche bieten ebenfalls keine Anhaltspunkte für die von Mothes aufgestellte Sauerstofftheorie. Nach diesem Autor bewirkt das Licht eine erleichterte Diffusion des Sauerstoffes weil die Stomata geöffnet sind. Die höhere O<sub>2</sub>-Konzentration würde die Proteolyse hemmen, was in meinen Versuchen niemals zu bemerken war, obwohl ich das Offensein der Spaltöffnungen deutlich konstatieren konnte.

Die im Dunkeln oder Licht-CO<sub>2</sub> einsetzende Eiweißabnahme war mittels Monosen (Glukose, Laevulose) zu hemmen, trat aber schon ein wenn die in der Pflanze vorhandenen Kohlenhydrate noch nicht ganz verbraucht waren. Nach Erfahrungen verschiedener Forscher (Godlewski, Hansteen, Smirnow, Gouwentaak, Paech, Mothes u.a.) trat im Dunkeln Eiweißaufbau auf, wenn nur genügend Kohlenhydrate vorhanden waren.

Bei meinem Versuchsobjekte war es unmöglich den Eiweißspiegel durch Glukosezufuhr zu heben. Ich entschlosz mich die Theorie Paech's nachzuprüfen. Nach diesem Forscher liesze sich der Zusammenhang zwischen Eiweiß und Glukose durch eine Gleichung vorstellen. In diesem Gleichgewicht Eiweiß  $\rightleftharpoons$  NH<sub>3</sub>

+ Glukose würde jede Veränderung einer Komponente eine gleiche der anderen Komponenten nach sich ziehen. Ich konnte jedoch einen Zusammenhang zwischen Eiweiß und KH im Sinne der Massensteuerung nicht beobachten.

Aus meinen Versuchen geht hervor dasz die Monosen für den Eiweißstoffwechsel wichtig sind in dieser Hinsicht, dasz die im Dunkeln eintretende Eiweißabnahme unterbleibt, wenn Glukose dargereicht wird. Die Anwesenheit der KH hat zur Folge dasz die Eiweißmenge auch im Dunkeln konstant bleibt.

Es taucht die Vermutung auf dasz die Abnahme des Eiweiß-N der Atmung zu verdanken ist, denn nach fortgesetztem Etiolement werden Zuckergehalt und Oxydationspotential der Zellen soweit erniedrigt werden, dasz Eiweißveratmung eintritt. Die Versuche zeigen überdies dasz wenn man Monosen darbietet der Eiweißgehalt keiner weiteren Abnahme unterliegt, sondern auf der erreichten Höhe bleibt. Diese Verhältnisse lassen sich so erklären dasz nach Zuckerzugabe der Zuckergehalt der Zellen steigt und wieder Zucker veratmet werden kann, während die Eiweißveratmung zurücktritt.

Meine Ergebnisse sind nicht als Stützen für die Anschauungen P a e c h's zu deuten, denn es leuchtet ein dasz der Zusammenhang zwischen Eiweiß und Zucker eine Atmungsfrage und dasz die Bildung der Eiweiße unabhängig der Anwesenheit der Kohlenhydrate ist.

Weil sich mit Zuckern keine Eiweißneubildung erzwingen liesz, suchte ich eine Zunahme mit einfacheren Substanzen als mit diesen Zuckern zu erreichen. Zum Eiweißaufbau lieszen Asparagin und  $\text{NH}_4$ -Laktat sich leicht verwenden. Es stellte sich heraus dasz das Licht auf diesen Einbau ins Eiweißmolekül keinen Einfluß hatte, denn die Werte im Dunkeln und im Lichte- $\text{CO}_2$  waren von derselben Größenordnung.

Meine Daten zeigen dasz die Eiweißbildung auf Kosten des Asparagins besonders leicht stattfinden kann und vielleicht hat S c h u l z e Recht wenn er sagt dasz Amide besser als Aminosäuren zur Eiweißbildung verwendet werden können. Wie schon bemerkt wurde hat bei der Verarbeitung des  $\text{NH}_4$ -Laktats zum Eiweißaufbau das Licht keinen Einfluß und dies deutet darauf hin dasz die Bildung der  $\text{NH}_2$ -Gruppen keine photochemische oder photokatalytische Reaktion ist.

Wie ich im Vorgehenden bemerkt habe konnte ich die M o t h esche Theorie nach welcher dem  $\text{O}_2$  die Rolle eines entscheidenden Regulators zukommt nicht ganz bestätigen, obwohl der Zusammenhang zwischen  $\text{O}_2$ -Tension und Eiweiß deutlich erkennbar ist. Dieser

Sauerstoffeinfluss ist hier nicht in einer simplistischen Weise vorzustellen und um diese Frage zu klären werden eingehende Untersuchungen notwendig sein. Dies bedeutet jedoch nicht, dass die Sauerstofftheorie unrichtig sei.

Mit Quarzlampenbestrahlung konnte ich immer einen fördernden Einfluss auf die N-Fraktionen feststellen, unter der Bedingung dass die Lampe abgeschirmt war. Die Strahlen mit sehr kleiner Wellenlänge (ab 2900 Å. E.) haben eine stark lethale Wirkung. Fensterglas lässt Uviollicht von 3900-3400 Å. E. durch und diesen Strahlen kommt ein die Eiweissynthese fördernder Einfluss zu.

Wir sehen also dass von den Strahlungsbezirken nur ein sehr kleiner Teil den Eiweissstoffwechsel günstig beeinflusst. Die Ursache der Wirkung des Uviollichtes grösserer Wellenlänge dürfte einer Stimulierung des Protoplasmas zuzuschreiben sein, sodass andere Lebensprozesse an Intensität zunehmen und infolgedessen den Eiweissstoffwechsel beeinflussen. Dies wurde auch von Björkstén schon vermutet, indem er sagte: Die Eiweissynthese der Pflanzen wird durch kurzwelliges Licht beschleunigt, nicht weil jene Synthese ein lichtchemischer Vorgang wäre.

---

### Schlussfolgerungen.

1. Reserveeiweissabbau bei *Sinapis alba* wird vom Lichte weder gehemmt noch gefördert.
2. Die Eiweissbildung wird vom normalen Strahlungsbezirk nicht anders als indirekt beeinflusst. (Bildung der Primärprodukten.)
3. Die Eiweissabnahme im Dunkeln wird durch Zuckerdarreichung bloss abgestoppt. Zwischen Eiweissgehalt und Zuckerkonzentration besteht bei *Sinapis* kein Zusammenhang in dem Sinne dass das Massensteuerungsgesetz zutrifft.
4. Eiweissbildung war leicht mit Asparagin oder  $\text{NH}_4$ -Laktat zu erzielen. Sie wird vom normalen Licht nicht beeinflusst.
5. Die Theorie von Mothes nach der der Sauerstoff ein entscheidender Regulator ist konnte nicht ganz bestätigt werden. Dennoch war ein  $\text{O}_2$ -Einfluss erkennbar.
6. Uviollicht von grösserer Wellenlänge ergab in kleiner Dosierung, Zunahme der N-Fraktionen.

Die hier beschriebenen Untersuchungen wurden in den Jahren 1932-'33 und 1934-'35 im „Plantenphysiologisch Laboratorium“ der Universität Amsterdam ausgeführt.

Ich möchte nicht unterlassen dem Direktor Herrn Prof. Dr. Th. Weevers für sein stetes Interesse und seine freundlich erteilte Ratschläge meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

## LITERATUR.

1. W. Arnold. The Effect of ultraviolet Light on photosynthesis. Journ. Gen. Physiology 1933. p. 135.
2. E. Barr and W. F. Bovie. Ultraviolet cytolysis of protoplasm. Journ. Morph. 38 1923 p. 295.
3. J. Björksten. Zur Kenntnis der Synthese von Eiweißstoffen und ihrer Bausteine bei höheren Pflanzen. Biochem. Zeitschrift 225.1 (1930).
4. J. Björksten und Into Himberg. Spielt Ammoniak eine direkte Rolle bei der Eiweißsynthese höherer Pflanzen. Biochem. Zeitschrift 1930 225. p. 441.
5. J. Borodin. Ueber die physiologische Rolle und die Verbreitung des Asparagins im Pflanzenreiche. Bot. Zeitung 36, 1878, 801.
6. A. C. Chibnall. Investigations on the Nitrogen metabolism of higher plants II. The Distribution of Nitrogen in the leaves of the Runner Bean. Biochem. Journal 16. 1922. p. 344.
7. V. Diurnal variations in the protein nitrogen of Runner Bean leaves. Biochem. Journal 18, p. 386. 1924.
8. M. E. Delf. The effect of Ultraviolet Light on plants. Bot. Zentralblatt 13. 1928. p. 13.
9. W. Dittrich. Zur Physiologie des Nitratomsatzes in höheren Pflanzen (unter besonderer Berücksichtigung der Nitratspeicherung). Planta bd. 12 1931 p. 69—119.
10. S. H. Eckerson. Protein synthesis by plants. Botanical Gazette 77, 1924 p. 377.
11. Ethel Eltinge. The Effect of Ultraviolet Radiation upon higher Plants. Annals of Missouri Botanical Garden Vol. XV 1928 p. 169.
12. Horst Engel. Beiträge zur Kenntnis des Stickstoffumsatzes grüner Pflanzen. Planta Bd. 7, 1929 p. 133.
13. E. Godlewski. Zur Kenntnis der Eiweißbildung aus Nitraten in der Pflanze. Bull. Int. de l'Acad. d. Sciences de Cracovie S. 104—127, 1897.
14. E. Godlewski. Zur Kenntnis der Eiweißbildung in den Pflanzen. Bull. Int. de l'Acad. des Sciences de Cracovie. 1903 p. 313.
15. C. A. Gouwentak. Untersuchungen über den N-Stoffwechsel bei Helianthus annuus. Recueil d. Travaux. bot. néerl. Vol. XXVI 1929 p. 19.
16. W. Graszmann und H. Dyckerhof. Ueber Proteinase und die Polypeptidase der Hefe. Zeitschrift Physiol. Chemie 179. 41. 1928.
17. W. Graszmann und L. Klenk. Zur Frage der Einheitlichkeit tierischer und pflanzlicher Dipeptidase. Zeitschrift f. Physiol. Chemie 186. 1929 p. 26.

18. W. Graszmann u.a. Ueber die Aktivierung tierischer und pflanzlicher Proteasen durch Glutathion. Zf. Physiol. Chemie 194, 1929, p. 124.
19. B. Hansteen. Beiträge zur Kenntnis der Eiweißbildung und der Bedingungen der Realisierung dieses Processes im phanerogamen Pflanzenkörper. Ber. d.d. Bot. Ges. 14. 1896, p. 362.
20. B. Hansteen. Ueber Eiweißsynthese in grünen Phanerogamen. Jahrb. f. wiss. Bot. 1899, 33 p. 417.
21. Hoagland. Absorption of mineral elements by plants in relation to soil problems. Plant Physiology 6, 1931 p. 373.
22. Hoagland and Davis. Protoplasm 1929.
23. I. Kinoshita. On the assimilation of nitrogen from nitrates and  $\text{NH}_4$ -salts by Phanerogams. Bull. coll. Agric. Univ. Tokyo 2, 200, 1894.
24. G. Klein. Handbuch der Pflanzenanalyse I—III. Wien 1933.
25. A. J. Kluyver. Beobachtungen über die Einwirkung von ultravioletten Strahlen auf höheren Pflanzen. K. Acad. Wiss. Wien Sitzungsber. 120, 1911, p. 1137—1170.
26. F. Knoop. Ueber Reduktionen und Oxydationen und eine gekoppelte Reaktion im intermediären Stoffwechsel des Tierkörpers. Biochem. Zeitschrift 127, 1922, p. 200.
27. F. Knoop. Ueber den physiologischen Abbau der Säuren und die Synthese einer Aminosäure im Tierkörper. Zeitschrift f. physiol. Chemie. 67, 1910, p. 489.
28. Th. Kofman. Action sur la germination, des tubes lumineux en quartz à haute tension. C. R. Séance Soc. Biol. (Lyon) 1933.
29. M. Kultscher. Die Biologische  $\text{NH}_3$  Entgiftung in höheren Pflanzen in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration des Zellsaftes. Planta Bd. 17 1932.
30. E. Laurent, E. Marchal, et E. Carpiaux. Recherches expérimentales sur l'assimilation de l'azote ammoniacal et de l'azote nitrique par les plantes supérieures. Bull. de l'Acad. roy. de Belgique 3e Sér. 32. 1896 p. 815.
31. E. Laurent et E. Marchal. Recherches sur la synthèse des substances albuminoïdes par les végétaux. Extrait du Bull. de l'Acad. roy. de Belgique 1903 (3) — (62).
32. O. Loew. Ueber die Bildung von Eiweiß in den Pflanzen. Angew. Bot. 1933.
33. A. Meyer. Eiweißstoffwechsel und Vergilben der Laubblätter von *Tropaeolum majus*. Flora 111. 1918. p. 508.
34. M. G. Mes. Fisiologiese siektesimptome van Tabak. Acad. Proefschrift 1930 Baarn.
35. P. Metzner. Ueber das optische Verhalten der Pflanzengewebe im langwelligen ultravioletten Licht. Planta X. 1930 p. 28r.
36. W. Mevius. Ueber das Verhalten belichteter Laubblätter in kohlenstoffreicher Luft. Jahrb. f. Wiss. Bot. 1935. 81, p. 327—382.
37. W. Mevius und H. Engel. Die Wirkung der  $\text{NH}_4$ -Salze in ihrer Abhängigkeit von der H-ionen Konzentration. Planta 1929.
38. Matilda Moldenhauer-Brooks. Studies on the permeability of living cells. Protoplasma 1. 305 1926.
39. H. Molisch. Ueber einige Beziehungen zwischen anorganischen Stickstoffsalzen und der Pflanze. Sitz. Ber. d. k. Acad. d. Wiss. Wien 1887. 1e Abt. 95, 221—243.

40. B. Moore. The formation of nitrites from nitrates in aqueous solution by the action of sunlight, and the assimilation of the nitrites by green leaves in sunlight. Proc. Roy. Soc. of London. Ser. B. 90, 1919 p. 158.
41. K. Mothes. Die Bedeutung der Säureamide für den Stickstoffwechsel der höheren Pflanze. *Planta* I, 1926 p. 317.
42. K. Mothes. Ein Beitrag zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen (Unter Ausschluss des Keimlings Stadiums und unter besonderer Berücksichtigung der Säureamide). *Planta* I 1926. p. 472—552.
43. K. Mothes. Die Wirkung des Wassermangels auf den Eiweißumsatz in höheren Pflanzen. *Ber. d. d. Bot. Ges.* p. 59 1928.
44. K. Mothes. Physiologische Untersuchungen über das Asparagin und das Arginin in Coniferen. *Planta* Bd. 7 1929 p. 585—649.
45. K. Mothes. Sauerstoffpotential und Eiweißumsatz im Laubblatt. Festschrift zum siebenzigsten Geburtstage von George Karsten. *Flora*. Jena 1933.
46. W. C. Muenschner. Proteinsynthesis in *Chlorella*. *Bot. Gaz.* 1923 75 p. 249—267.
47. D. Müller. Analyse der verminderten Stoffproduktion bei Stickstoffmangel. *Planta* Bd. 16 1932.
48. D. Müller und Larsen. Analyse der Stoffproduktion bei Stickstoff- und Kalimangel. *Planta* 23, 1935, p. 501.
49. C. Neuberg. Chemische Umwandlungen durch Strahlenarten. *Biochem. Zeitschrift* Bd. 39 1912.
50. v. d. Pauw. The indirect action of external factors in Photosynthesis. *Rec. trav. Bot. néerl.* 29. 1932 p. 497.
51. K. Paech. Zur natürlichen Regulation des Eiweißstoffwechsels in Pflanzen. *Planta* Bd. 22 1934 p. 794.
52. K. Paech. Ueber die Regulation des Eiweißumsatzes und über den Zustand der proteolytischen Fermente in den Pflanzen. *Planta* Bd. 24 1935 Heft I.
53. W. Palladin. Ueber Eiweißzersetzung in den Pflanzen bei Abwesenheit von freiem Sauerstoff. *Ber. d. d. Bot. Ges.* 6. 1888 p. 205.
54. W. Palladin. Influence de la lumière sur la formation des matières protéiques actives et sur l'énergie de la respiration des parties vertes des végétaux. *Rev. Gén. de Bot.* 11, 81—105 1899.
55. W. Palladin. Zur Kenntnis der gegenseitigen Abhängigkeit zwischen Eiweißabbau und Atmung der Pflanzen. *Biochem. Zeitschrift* Bd. 44 p. 318.
56. W. Palladin und G. Kraule. Zur Kenntnis der gegenseitigen Abhängigkeit zwischen Eiweißabbau und Atmung der Pflanzen. *Biochem. Zeitschrift* Bd. 39 1912.
57. G. G. Petrow. Nitratassimilation durch höhere Pflanzen. *Moskau* 1917.
58. W. Pfeffer. Untersuchungen über die Proteinkörper und die Bedeutung des Asparagins beim Keimen der Samen. *Jahrb. wiss. Botanik* 8, 1872. p. 429—574.
59. K. Pirschle. Nitrate und Ammonsalze als Stickstoffquellen für höhere Pflanzen bei konstanter Wasserstoffionenkonzentration. I. *Planta* Bd. 9, 1929, p. 84. II. *Ber. d. d. Bot. Ges.* 47, 1929 p. 86. III. *Planta* Bd. 14, 1931, p. 583.
60. D. Prianischnikoff und J. Schulow. Ueber die synthetische Asparaginbildung in den Pflanzen. *Ber. d. d. Bot. Ges.* 28 1910 p. 253.

65. D. Prianischnikoff. Sur le rôle de l'Asparagine dans les transformations des matières azotées chez les plantes. Rev. Gen. de Bot. 36 1924 p. 108—122, 159—181.
66. D. Prianischnikoff. Asparagin und Harnstoff. Biochemische Zeitschrift Bd. 150. p. 407 1924.
67. H. Rahn. Untersuchungen über den N-Stoffwechsel Pflanzlicher Vegetativer Speicherorgane. Planta Bd. 18 1933 p. 1.
68. P. Rona. Bestimmung des Stickstoffs nach der Methode von Kjeldahl. Abderhaldens Handb. d. biochem. Arb. Meth. I. 1910.
69. W. Saposchnikoff. Eiweiszstoffe und Kohlenhydrate der grünen Blätter als Assimilationsprodukte. Just. Jahr. Ber. 23, 1895 p. 297.
70. A. F. W. Schimper. Ueber Kalkoxalatbildung in den Laubblättern. Bot. Zeitung 1888, 46.
71. A. F. W. Schimper. Zur Frage der Assimilation der Mineralsalze durch die grüne Pflanze. Flora 48. 1890.
72. E. Schulze. Umsatz der Eiweiszstoffe in der lebenden Pflanze. Hoppe-Seylers Zeitschrift für Physiologische Chemie 1900, 30, p. 241.
73. T. Schulze. Untersuchungen über die Bedeutung von Aktivatoren und Paralytoren für den pflanzlichen Eiweiszstoffwechsel. Planta 16, 1932, p. 116.
74. W. Schumacher. Ein Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels parasitierter Pflanzen. Planta 5, 1928 p. 161.
75. W. Schumacher. Ueber die Beziehungen zwischen Eiweiszgehalt und Chloroplastengröße in den Blättern von *Pelargonium zonale*. Jahrb. f. Wiss. Bot. 1929, 70 p. 389.
76. D. van Slyke. Die gasometrische Bestimmung von primären aliphatischen Aminostickstoff und ihre Anwendung auf physik-chemischen Gebiete. Handbuch d. biol. Arbeitsmethoden Abt. I Teil 7, 1923.
77. A. I. Smirnow. Ueber die biochemischen Eigentümlichkeiten des Alterns der Laubblätter. Planta Bd. 6 1928.
78. A. I. Smirnow. Ueber die Synthese der Säureamide bei Ernährung mit Ammoniaksalzen. Biochem. Zeitschrift 1923 137 p. 1.
79. N. J. Stekelenburg. Zur physiologischen Bedeutung der Blausäureglukoside im Pflanzenstoffwechsel. Recueil d. Trav. bot. néerl. Vol. XXVIII 1931 p. 299.
80. Stoklasa. Ueber den Einfluss der ultravioletten Strahle auf die Vegetation. Centralblatt für Bakt. Abt. 31 1911.
81. Neil W. Stuart. Determination of Amino Nitrogen in Plant Extracts. Plant Physiology Vol. 10, 1935 p. 135.
82. U. Suzuki. On the formation of asparagine in plants under different conditions. Bull. of the Imp. Coll. of Agric. and Forestry 1894—97 2.
83. U. Suzuki. On an important function of leaves. Bull. of the Coll. of Agric. Tokyo Imper. Univ. 1897—'98 3.
84. U. Suzuki. On the Formation of Proteids and the Assimilation of Nitrates by Phaenogams in the Absence of Light. Bull. of the Coll. of Agric. Imp. Univ. Tokyo 3. 1897—'98.
85. W. Thomas. Nitrogenous Metabolism of *Pyrus Malus* L. Plant Physiology 2. 1927 p. 67—70.
86. W. E. Tottingham and I. G. Moore. Some phases of plant development under vitaglass. Journal Agric. Res. Washington 1931.

87. W. E. Tottingham, H. L. Stephens and E. J. Lease. Influence of shorter light rays upon absorption of nitrate by the young wheat plant. *Plant Physiology* 1934. 9. 27.
88. H. Ullrich. Die Rolle der Chloroplasten bei der Eiweißbildung in den grünen Pflanzen. *Zeitschrift für Bot.* 16 1924 p. 513.
89. A. Ursprung und G. Blum. Ueber die Schädigkeit ultravioletter Strahlen. *Ber. d. d. Bot. Ges.* 35 1917.
90. O. Warburg und E. Negelein. Ueber die Reduktion der Salpetersäure in grünen Zellen. *Biochem. Zeitschrift* 110 1920. p. 66.
91. E. Waldschmidt-Leitz u.a. Ueber das proteolytische System in tierischen Organen. *Zeitschr. für Physiol. Chemie* 1930 188 p. 69.
92. E. Waldschmidt-Leitz u.a. Ueber Zookinase *Z. f. physiol. Chemie* 1931, 198 p. 260.
93. Th. Weevers. Mededeeling over *Helianthus tuberosus*. Kruidkundig Archief. Verslag 1906.
94. P. v. d. Wielen. *Leerboek der Recepteerkunde.* 8e Druk 1933.
95. W. Zaleski. Zur Kenntniss der Eiweißbildung in den Pflanzen. *Ber. d. d. Bot. Ges.* 1897.
96. W. Zaleski. Zur Keimung der Zwiebel von *Allium Cepa*. *Ber. d. d. Bot. Ges.* 16 1898 p. 146.
97. W. Zaleski. Ueber die Rolle des Lichtes bei der Eiweißbildung in den Pflanzen. *Ber. d. d. Bot. Ges.* 27 1909.
98. W. Zaleski. Beiträge zur Kenntniss der Eiweißbildung in den Pflanzen. *Ber. d. d. Bot. Ges.* 1901. p. 331.