

P 192
N° 8 B.

OCTOBRE

1911.

BULLETIN INTERNATIONAL
DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES

DE CRACOVIE

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES

SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES

ANZEIGER
DER
AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN

IN KRAKAU

MATHEMATISCH-NATURWISSENSCHAFTLICHE KLASSE

REIHE B: BIOLOGISCHE WISSENSCHAFTEN



CRACOVIE

IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ

1911



L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE A ÉTÉ FONDÉE EN 1873 PAR
S. M. L'EMPEREUR FRANÇOIS JOSEPH I.

PROTECTEUR DE L'ACADÉMIE :

S. A. I. L'ARCHIDUC FRANÇOIS FERDINAND D'AUTRICHE-ESTE.

VICE-PROTECTEUR *Vacat.*

PRÉSIDENT : S. E. M. LE COMTE STANISLAS TARNOWSKI

SECRÉTAIRE GÉNÉRAL : M. BOLESLAS ULANOWSKI.

EXTRAIT DES STATUTS DE L'ACADÉMIE :

(§ 2). L'Académie est placée sous l'auguste patronage de Sa Majesté Impériale Royale Apostolique. Le Protecteur et le Vice-Protecteur sont nommés par S. M. l'Empereur.

(§ 4). L'Académie est divisée en trois classes

a) Classe de Philologie,

b) Classe d'Histoire et de Philosophie,

c) Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles.

(§ 12). La langue officielle de l'Académie est la langue polonaise

Depuis 1885, l'Académie publie le «Bulletin International» qui paraît tous les mois, sauf en août et septembre. Le Bulletin publié par les Classes de Philologie, d'Histoire et de Philosophie réunies, est consacré aux travaux de ces Classes. Le Bulletin publié par la Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles paraît en deux séries. La première est consacrée aux travaux sur les Mathématiques, l'Astronomie, la Physique, la Chimie, la Minéralogie, la Géologie etc. La seconde série contient les travaux se rapportant aux Sciences Biologiques.

Publié par l'Académie

sous la direction de M. **Ladislas Kulczyński**,

Membre délégué de la Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles.

25 listopada 1911.

Nakładem Akademii Umiejętności.

Kraków, 1911. — Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego pod zarządem Józefa Filipowskiego.

ihre Zuflüsse werden den anderen mehr kranial gelegenen Venen zugeteilt. Als Beispiel kann man die *V. telencephali lateralis* und die *V. tentorii* anführen welche einer mehr oder minder ansehnlichen Reduktion unterliegen und deren Zuflüsse in den *Sinus cavernosus* respektive in den *Sinus sphenoparietalis* übergeführt werden.

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Innsbruck, Direktor Prof. Dr. F. Hochstetter, und aus dem Anatomischen Institut der Universität Lemberg, Direktor Hofrat Prof. Dr. H. Kadyi.

Erklärung der Abbildungen.

Allgemeine Bemerkung.

Fig. 1—4 stellen die auf Grund der plastischen Rekonstruktionen gezeichneten Schemata zur Entwicklungsgeschichte der *Sinus durae matris* und der Hirnvenen menschlicher Embryonen von 15·5—49 mm Scheitel-Steißlänge. Die Venengeflechte sind mittels gröberer, resp. feinerer Punkte, je nach der Stärke der sie bildenden Venen angedeutet. Die gestrichelten Linien stellen die medial von der Hemisphärenblase, resp. von den oberflächlichen Geflechten gelegenen (und daher von der lateralen Seite nicht sichtbaren) Gefäße dar. Vom Trigeminusganglion (Fig. 1, 2 u. 3) sind nur der Anfangsteil und die aus dem Ganglion hervortretenden Äste abgebildet, so daß die medial von ihm verlaufende *V. capitis medialis* zutage tritt.

Für alle Figuren gültige Bezeichnungen:

tr. g. — Trigeminusganglion.

1, 2, 3 — Erster, zweiter und dritter Trigeminusast.

f. j. — Foramen jugulare.

pl. sag. sup. — Plexus sagittalis superior.

pl. m. pros. — Plexus medianus prosencephali.

pl. m. mes. — Plexus medianus mesencephali.

pl. lat. post. — Plexus lateralis posterior.

pl. lat. ant. — Plexus lateralis anterior.

pl. oc. — Plexus occipitalis.

v. t. — *V. tentorii*.

v. p. — *V. prootica*.

v. gr. — Vordere Grenzvene des Plexus lateralis anterior.

v. c. m. — *V. capitis medialis* (*V. cardinalis anterior*).

v. c. l. — *V. capitis lateralis*.

v. j. i. — *V. jugularis interna*.

v. a. — Ursprüngliche Hauptvene der Augenhöhle.

v. oph. — *V. ophthalmica*.

v. m. pros. — *V. mediana prosencephali*.

- v. t. l.* -- V. telencephali lateralis.
v. t. i. -- V. telencephali inferior.
v. d. i. -- V. diencephali inferior.
v. d. l. -- V. diencephali lateralis.
v. m. l. -- V. mesencephali lateralis.
v. c. i. -- V. cerebri interna.
sin. trans. -- Sinus transversus (horizontaler Abschnitt).
sin. sigm. -- Sinus sigmoideus.
s. r. -- Sinus rectus.
s. p. s. -- Sinus petrosus superior.
s. p. i. -- Sinus petrosus inferior.
x -- Direkte Verbindungen zwischen den beiderseitigen Plexus laterales anteriores.
xx -- Direkte Verbindungen zwischen den beiderseitigen Plexus laterales posteriores.
-

*Uzupełnienia monografii porzeczek. IV. Nowe mieszańce. —
Suppléments à la Monographie des Groseilliers. IV. Hy-
brides nouveaux¹⁾.*

Mémoire

de M. **ED. JANCZEWSKI** m. t.,
présenté dans la séance du 9 octobre 1911.

Sous-genre **Grossularia**.

(23) **R. vitreum** nob.

(*grossularia* × *stenocarpum*).

Arbrisseau touffu, peu élevé. Scions pubescents et lavés de rouge dans la jeunesse, entrenoeuds assez courts, semés de petits aiguillons plus ou moins nombreux. Aiguillons nodaux habituellement triples, longs jusqu'à 1 cm, rouges dans la jeunesse.

Feuilles petites, arrondies, longues de $2\frac{3}{4}$ cm, larges de 3 cm, 3—5-lobées, à base tronquée, semées de soies et légèrement pubescentes. Pétiole long de $1-2\frac{1}{2}$ cm, pubescent, semé de soies et bordé, à la base, de soies plumeuses et allongées.

Grappes courtes, 1—3-flores. Rachis tout-au-plus de 7 mm, subpubescent, lavé de rouge, semé de quelques soies courtes, rouges. Bractées ovoïdes, longues de 5 mm, ciliées. Bractéoles quelquefois apparentes, linéaires, révolutes, bordées de rouge, ordinairement nulles.

Fleurs petites, campanulées, subpubescentes. Réceptacle campanulé, aussi long que large, muni de poils intérieurs, peu nombreux et concentrés dans la moitié supérieure. Sépales réfléchis, ligulés, 4 fois plus longs que larges, lavés de rouge brun. Pétales blancs, obovales, $\frac{2}{5}$ de la longueur des sépales. Étamines dépassant légèrement les pétales. Pollen parfait. Style égalant les étamines, fendu

¹⁾ Voyez: Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie, Juin 1909.

jusqu'à mi-longueur, muni de poils rares vers sa base. Ovaire pyriforme, subpubescent; pédoncule de la même longueur. Floraison assez tardive.

Fruit assez petit, arrondi ou elliptique, glabre, vitreux, ensuite lavé de pourpre, acidulé, mûrissant vers la fin d'août, mais conservant sa fraîcheur jusqu'en octobre.

Origine. Semis de hasard, élevé dans nos cultures. Par le port et le feuillage, le *R. vitreum* rappelle beaucoup le *R. grossularia*

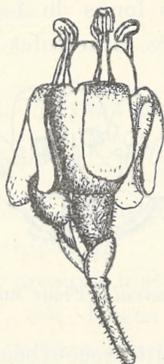


Fig. 1. *R. vitreum*. Fleur. Grossissement 4 diam.

β uva crispa, par la couleur et la persistance des fruits — le *R. stenocarpum*. Son origine hybride est attestée par la réduction de la pubescence interne du réceptacle et par d'autres caractères parfaitement intermédiaires. C'est en 1909 qu'il a fleuri et fructifié pour la première fois.

Sous-genre *Parilla*.

(24) *R. australe* nob.

(*Gayanum* ♀ × *polyanthes* ♂).

Arbrisseau rappelant le *R. Gayanum* par son port et feuillage. Scions pubescents (poils raides), semés de glandes subsessiles au début, ensuite stipitées. Bourgeons petits, accompagnés de deux petites feuilles latérales sur scions plus robustes. Végétation beaucoup plus précoce que dans le *R. Gayanum*, en serre et en plein air.

Feuilles subcoriaces, presque entièrement caduques, longues de 5 cm, larges de 6 cm, habituellement trilobées, à lobes obtus,

les latéraux peu développés, à base subcordée, subglabres, semées en dessous de petites glandes jaunes, plus tard presque invisibles. Pétiole de $2\frac{1}{2}$ cm, pubescent, bordé à la base de soies plumeuses, semé de glandes applaties, sessiles, ensuite stipitées.

Grappes mâles presque pendantes, assez compactes, longues de 4—5 cm, contenant 20—30 fleurs. Rachis subpubescent, semé de petites glandes subsessiles. Bractées ovoïdes-lancéolées, longues de 2—3 mm, ascendantes, ensuite recourbées, subpubescentes, semées de glandes. Pédicelles longs de 1—3 mm, subpubescents, semés de petites glandes jaunes. Bractéoles ovoïdes-lancéolées, longues

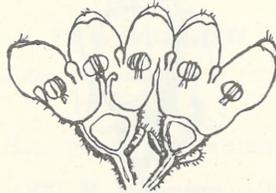


Fig. 2. *R. australe*. Fleur mâle. Gross. 4.

de 1 mm, ascendantes, ensuite recourbées, hérissées de poils, nulles aux fleurs supérieures.

Fleurs mâles petites, subcampanulées, jaunes, pubescentes. Tube floral verdâtre, un peu bombé, $2\frac{1}{2}$ fois plus large que haut, subpubescent, semé de glandes. Sépales (partie libre) ligulés, $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$ fois plus longs que larges, étalés, convexes. Pétales minuscules, sublinéaires ou obovales, insérés sous les fentes du calyce. Étamines insérées plus bas que les pétales, mais les égalant. Filets courts, inclinés; anthères arrondies, sans pores nectariens apparents. Pollen parfait. Style bifide depuis la mi-longueur, atteignant la base des anthères. Ovaire arrondi, subpubescent, glanduleux, contenant des ovules avortés assez nombreux.

Grappes femelles et fruits inconnus.

Origine. Hybride de hasard, issu d'un fruit du *R. Gayanum*, envoyé en 1903 par M. Maurice de Vilmorin et récolté aux Barres, où les pieds mâles de cette espèce manquaient à cette époque, mais où ceux du *R. polyanthes* portaient des fleurs. Malgré que le *R. australe* rappelle entièrement le *R. Gayanum* par la forme des feuilles, celles-ci sont plus minces et caduques dans l'hybride, persistantes dans le *R. Gayanum*. Et tous les autres caractères: époque de la floraison, forme des fleurs et des bractées, du style et des

étamines, glandulosité de l'ovaire, sont parfaitement intermédiaires entre ceux des deux espèces chiliennes: *R. Gayanum* et *R. polyanthes*. Nous avons même trouvé un caractère anatomique confirmant cette origine du *R. australe*; ainsi dans le *R. Gayanum* tous les stomates des feuilles sont égaux, dans le *R. polyanthes* c'est un véritable mélange de grands, de moyens et de petits, ces derniers occupant une surface deux fois moindre que les grands, tandis que dans le *R. australe* le contraste entre les grands et les petits est beaucoup moins prononcé.

(25) *R. chrysanthum* nob.

(*integrifolium* ♀ × *polyanthes* ♂).

Arbuste assez vigoureux. Scions jeunes subglabres, rouges, semés de glandes jaunes, sessiles.

Feuilles subcoriaces, presque toutes caduques, ovoïdes-arrondies, longues de $3\frac{1}{2}$ — $6\frac{1}{2}$ cm, larges de 3—6 cm, trilobées ou subtrilobées, à lobes obtus, à base arrondie ou en angle ouvert, semées, en dessous, de glandes huileuses, jaunes, sessiles. Pétiole rougeâtre, court, de 7—15 mm, subglabre, glanduleux, portant quelquefois des soies plumeuses vers sa base.

Grappes mâles pendantes, longues jusqu'à 11 cm, portant à 50 fleurs. Rachis légèrement pubescent, semé de glandes. Bractées vertes, lancéolées ou sublinéaires, longues de 4—6 mm, larges de $1\frac{1}{2}$ mm, révolutes, ciliées de poils. Pédicelles de 4—6 mm, légèrement pubescents. Bractéoles minuscules, ordinairement nulles.

Fleurs mâles jaunes, campanulées, assez petites, mais beaucoup plus grandes que dans le *R. polyanthes*. Réceptacle verdâtre, un peu bombé, 3 fois plus large que haut. Sépales soudés sur $\frac{1}{5}$ de leur longueur, les parties libres étalées, convexes, une fois et demie plus longues que larges. Pétales jaunes, insérés sous les fentes du calyce, subspatulés, presque de la mi-longueur des sépales. Étamines insérées plus bas, sur le bord du réceptacle, plus courtes que les pétales. Filets très courts; anthères presque arrondies, sans pores nectariens distincts. Pollen très bon, ne contenant que 2—4% de grains avortés. Style égalant les étamines, fendu vers le sommet. Ovaire hémisphérique, semé de glandes sessiles, contenant quelques ovules avortés.

Fleurs femelles et fruits inconnus.

Origine. En 1907, nous avons pollinisé le *R. integrifolium* par le *R. polyanthes*; les fruits ont été très nombreux, les graines parfaites, germant au bout de 50—100 jours. Cotylédons assez grands, ovoïdes-arrondis, ciliés et semés de soies. Premières feuilles arrondies, sublobées, semées de soies glanduleuses aux deux faces; sur la troisième ou quatrième, des glandes sessiles (jaunes, huileuses) se mêlent aux soies de la face supérieure. Sur la cinquième ou sixième, la face supérieure ne porte que des glandes huileuses, tandis que les soies persistent encore à l'inférieure, au pétiole et au



Fig. 3. *R. chrysanthum*. Fleur mâle. Gross. 4.

scion. Dans les feuilles suivantes, la disposition des glandes devient normale. Malgré que la grappe et la fleur rappellent plutôt le père que la mère, le *R. chrysanthum* sous tout autre rapport tient le milieu entre les deux parents. Ses feuilles sont persistantes sur les plantes annuelles, presque entièrement caduques sur les plus âgées. Les stomates sont de dimensions différentes, mais le contraste entre la surface des grands et des petits est beaucoup moins prononcé que dans le *R. chrysanthum* et se rapproche de la relation 3:2.

(26) *R. luteum* nob.

(*integrifolium* ♀ × *valdivianum* ♂).

Arbuste assez vigoureux. Scions subglabres, semés de glandes jaunes, sessiles, huileuses.

Feuilles presque toutes caduques, ellipsoïdes, longues jusqu'à 7 cm, larges à 4½ cm, trilobées, à lobe médian allongé, les latéraux peu développés, à base subcunéiforme ou arrondie, subglabres, semées en dessous de grandes glandes huileuses, jaunes. Pétiole court, de 1½ cm, subglabre, semé de glandes.

Grappes mâles longues de 3—5 cm, pendantes, composées de 15—25 fleurs. Rachis pubescent. Bractées elliptiques-lancéolées

ou obovales-allongées, longues de 4—5 mm, larges de 1½—2 mm, recourbées, pubescentes, ciliées, glanduleuses. Pédicelles de 3—4 mm, pubescents. Bractéoles petites, linéaires, subcaduques, ciliées, pour la plupart nulles.

Fleurs mâles jaunes, petites, tubuleuses-campanulées, subglabres, glanduleuses. Réceptacle verdâtre, bombé, une fois et demie plus large que haut, rempli de nectar. Calyce gamosépale, composé du tube un peu verdâtre, un peu plus étroit que le réceptacle, aussi large que haut, et des dents libres, ovoïdes, recourbées, aussi longues que le tube. Pétales très petits, subcunéiformes, insérés sur le calyce, au-dessous des incisions. Étamines insérées plus bas, sur

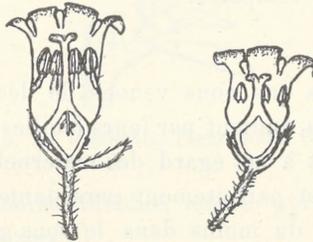


Fig. 4. *R. luteum*. Fleurs: mâle et femelle en coupe axile. Gross. 4.

les bords du réceptacle, n'atteignant pas la base des pétales; filets inclinés, aussi longs que les anthères. Pollen mélangé, contenant 25—30% de grains stériles. Style dépassant les anthères, atteignant presque la base des pétales, fendu au sommet. Ovaire turbiné, subglabre, glanduleux, voûte soulevée en cône; ovules peu nombreux, avortés.

Grappes femelles beaucoup plus petites et maigres, longues de 2—3½ cm, portant 6—11 fleurs.

Fleurs femelles un peu plus petites, surtout plus courtes. Étamines très courtes; anthères stériles, subsessiles. Style plus gros et plus court que dans les mâles. Ovaire arrondi, contenant de bons ovules. Après la fécondation, les fleurs prennent une teinte orange, les ovaires se colorent en rouge pourpre.

Fruit gros comme une groseille, arrondi, noir, semé de glandes, couronné de la fleur. Maturité en juillet.

Origine. La pollinisation du *R. integrifolium* par le *R. valdivianum*, effectuée en 1908, produit de nombreux fruits dont les graines ont parfaitement germé au bout de 55—120 jours. Cotylé-

dons assez grands, elliptiques-arrondis, ciliés de soies. Premières feuilles semées et ciliées de soies. Les glandes huileuses apparaissent entre les soies de la face supérieure de la troisième feuille; elles remplacent entièrement les soies sur les trois feuilles suivantes sur cette face, tandis que l'inférieure et les bords ne portent encore que des soies. Dans les feuilles supérieures, les soies disparaissent peu à peu et les glandes huileuses se concentrent à la face inférieure, tout comme dans le *R. chrysanthum*.

Le *R. luteum* tient presque exactement le milieu entre les deux parents; ses feuilles sont cependant aussi caduques comme dans le *R. valdivianum*. Il a fleuri pour la première fois en 1911, vers la fin de mars, en serre tempérée.

Les trois hybrides que nous venons de décrire: *R. australe*, *R. chrysanthum*, *R. luteum*, imitent par leurs feuilles caduques les espèces paternelles et diffèrent à cet égard des maternelles, caractérisées par des feuilles coriaces et parfaitement persistantes. Il paraît donc que dans les Groseilliers, du moins dans le sous-genre *Parilla*, la caducité des feuilles domine sur la persistance, et il sera intéressant de savoir si ces caractères suivront la loi Mendel dans la deuxième génération que nous espérons élever.

Sous-genre **Berisia**.

27. **R. Wallichii** nob.

(*glaciale* ♀ × *luridum* ♂).

Arbrisseau rustique, ramifié. Scions jeunes glabres, rouges, presque pourpres.

Feuilles arrondies, longues jusqu'à 5 cm, larges à 6 cm, 3—5-lobées, à lobes peu développés et ordinairement subobtus, à base subcordée, semées de soies, plus ou moins épinastiques (convexes) pendant leur développement. Pétiole de 4 cm, lavé de rouge.

Grappes mâles verticales, longues jusqu'à 3 cm, portant jusqu'à 20 fleurs. Rachis plus ou moins couvert de soies glanduleuses, incolores, très courtes. Bractées ovoïdes-lancéolées, longues de 4—9 mm, larges de 2—3 mm, glanduleuses sur les bords. Pédicelles de 1½ mm, semés de soies glanduleuses très courtes. Bractéoles nulles.

Fleurs mâles petites, subturbinées ou subrotacées, brun marron ou brun noir. Réceptacle pelviforme ou subturbiné, semé de soies glanduleuses très courtes. Sépales ovoïdes, $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$ fois plus longs que larges, obliques ou presque étalés, trinerviés. Pétales pourpres, très petits, flabelliformes, mesurant $\frac{1}{5}$ de la longueur des sépales. Étamines érigées, atteignant $\frac{1}{3}$ de la longueur des sépales; anthères pourpres, filets lavés de pourpre. Pollen mixte, mais variable, contenant 20—80% de grains stériles. Style égalant les étamines, bifide et pourpré vers le sommet. Pédoncule (ovaire) long

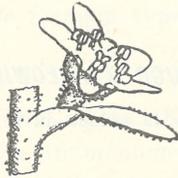


Fig. 5. *R. Wallichii*. Fleur mâle. Gross. 4.

de 1 mm, plus ou moins turbiné, même pyriforme, semé de soies glanduleuses très courtes.

Grappes femelles beaucoup plus petites et pauvres, longues de 12—17 mm, contenant 2—8 fleurs. Pédicelles longs de 1—3 mm.

Fleurs femelles plus petites que les mâles, mais semblables par la forme et la couleur. Étamines très courtes; anthères petites, rougeâtres, stériles; filets minuscules, pourpres. Ovaire oboval ou elliptique, ordinairement plus long que large, semé de soies glanduleuses très courtes.

Origine. Nous avons pollinisé, en 1907, le *R. glaciale*, forme robuste reçue de M. Maurice de Vilmorin, par le *R. luridum* du Népal, provenant du jardin botanique d'Édimbourg. Les graines obtenues commencèrent à lever après 23 jours. La première floraison de l'hybride a eu lieu en 1911. D'après ce qui précède, notre plante rappelle plutôt son père par le feuillage, sa mère par la coloration et la forme de la fleur. Les autres caractères sont presque intermédiaires.

Le *R. Wallichii* est le premier hybride connu du sous-genre *Berisia*.

*Krytyczny przegląd roślinności Galicyi. Część XXII. —
Revue critique de la flore de Galicie. XXII partie.*

Note

de M. **HUGO ZAPĄŁOWICZ** m. c.,

présentée dans la séance du 9 Octobre 1911.

Parmi les espèces des *Papaveraceae* et *Fumariaceae* décrites dans cette partie, se trouve l'espèce nouvelle suivante:

Papaver corona Sti Stephani n. Radix fusiformis multiceps, planta dense caespitosa 7.5—15 cm ad 18 cm alta, scapi numero 3—10 rarius 1—3 uniflori adpresse hispidi; folia viridia in petiolis plus minus duplo longioribus inferne sparse hispidis, sine petiolo 1.2—2.6 cm longa glabra rarius folium quoddam sparse hispidum impari pinnata, pinnae aut ovatae vel subrhombeae 2—3 fidae vel per partes sectae laciniis oblongis vel terminalibus partim obovatis 1.2—2.5 mm latis, aut pinnae integrae oblongae ad 7 mm longae ad 3 mm latae, lacinae sc. pinnae integrae obtusiusculae seta terminatae; flos ante anthesin nutans, sepala viridia partim purpureo suffusa pilis fuscis basi nigricantibus dense hirsuta, petala subrotundo obovata 15—18 mm longa longitudine paulo latiora ad 20 mm lata apice rotundata marginibus se tegentia pulcherrime dilute (citrino) aurea basi viridula immaculata, exsiccata aurantiaca basi nigro viridia; filamenta filiformia apice subulata pistillum distincte superantia, antherae in statu vivo colore petalorum; capsulae oblongo subclavatae vel oblongae 6—8 mm longae costatae adpresse hispidae, stigma 5—6 rarius 4 radiatum, semina nondum sat matura reniformia 0.7 mm lata fusca.

Sub culmine montis Ineu (2280 m) *Alpium Rodnensium* in valle voraginosa versus septemtrionalem occidentem sita, solo mico schistoso 2000—2200 m, copiose. Exempla herbarii a Herbich, Sta-

nislao Federowicz et a me lecta; a Herbich *P. pyrenaico* Willd., a Federowicz *P. aurantiaco* Loisl. subiuncta.

for. hispidulum: folia setis sparsis vel subdensis obiecta. Planta minor, 7—8 cm alta, pauciceps, scapus ut videtur plerumque solitarius.

Ibidem, inter formam typicam, raro (Zapałowicz).

var. angustisectum m. Folia pinnis angustius sectis partim bipinnata, laciniae lineari oblongae vel oblanceolatae 0·7—2 mm latae. Exempla ad 18 cm alta, scapis numerosis (6—10), foliis glabris etc ut in *for. typica*.

Ibidem, hinc inde inter formam typicam (Herbich, Federowicz, Zapałowicz).

Stirps elegans et maxime alpina. Flos in statu vivo coronam Stephani I, Hungariae regis, in mentem revocat.

In monte calcareo Corongisu 1994 m *Alpium Rodnensium* (sec. Schur ap. Simk. Enum. Fl. Transs. p. 67) et imprimis in monte andesitico Cibles 1842 m (sec. Bielz ap. Fuss Fl. Transs. p. 39) — ubi plantam hanc (in ambobus montibus) per omnes partes frustra quaesivi — certe non provenit.

A proximo *P. rhaetico* Lereche (= *P. aurantiaco* Loiseleur sec Hayek in oest. bot. Zeitschrift 1903 p. 406) statura in universum graciliore partim elatiore, caespite maiore, scapis magis numerosis, foliis glabris, pinnis semper seta terminatis ad summam profundius et angustius fissis sc. pinnis integris angustioribus (nunquam ovatis), petalis brevioribus, filamentis longioribus, capsulis minoribus, radiis stigmaticis magis numerosis et statione maxime septentrionali orientali solitaria optime distinguitur. Var. *angustisecto* quodammodo ad *P. Kernerii* Hayek vergit.

In totis Carpatis septentrionali orientalibus planta nostra tantum in Ineu monte crescit et hanc ob rem omnibus, qui eam inquirunt, quantum fieri potest, servanda est.

P. rhaeticum et nostra species affinitate imprimis *P. nudicaule* L. florum arcticae (cuius exempla authentica vidi) attingunt. Utraque species verisimillime temporibus epochae glacialis ex illa planta arctica enata est et altera in Alpibus, altera (*P. corona* Sti Stephani) in Carpatis septentrionali orientalibus, hic nunc solum in Ineu monte, conspicitur.

Planta in montibus Transsilvaniae australis occurrens, quam quidem non vidi, propius ad nostram speciem accedere videtur, quam ad *P. rhaeticum* Alpium; illa in Kiralykö monte crescens, quam Fedde (Engler Pflanzenreich IV 104 ex 1909 p. 376) dubitanter stirpi *P. Kernerii* annumerat, fortasse ad nostram varietatem angustisectum proxime accedit.

O anaerobicznym rozkładzie materji białkowych w roślinach i oddychaniu śródcząsteczkowem, — Über anaerobe Eiweißzersetzung und intramolekulare Atmung in den Pflanzen.

Mémoire

de M. **ÉMILE GODLEWSKI** (père) m. t.,
présenté dans la séance du 9 Octobre 1911.

Bei Gelegenheit meiner Untersuchungen über die intramolekulare Atmung der Lupinensamen¹⁾ habe ich das Versuchsmaterial einigen Analysen unterzogen, um die Frage zu beantworten, inwiefern die Zersetzung der Eiweißstoffe in der Pflanze unter Luftabschluß vor sich gehen kann und ob sie in diesem Falle gleichen Verlauf wie bei Luftzutritt hat. Diese Analysen haben das Resultat ergeben, daß während der neunmonatlichen Versuchsdauer etwa 30% der ursprünglichen Eiweißstoffe der Zersetzung anheimfielen, daß aber die Produkte dieser Zersetzung nicht denjenigen gleich waren, welche bei Vegetation an der Luft aus Eiweißstoffen entstehen. Während nämlich in letzterem Fall, wie längst bekannt, Asparagin unter den Zersetzungsprodukten der Eiweißstoffe vorherrscht, wird es bei der Zersetzung unter Luftabschluß nur in sehr geringer Menge gebildet: die Hauptmenge der Eiweißzerfallsprodukte besteht in diesem Falle aus Aminosäuren. Im ganzen wurde damals nur das Material aus drei Versuchen analysiert. In einem dieser Versuche lagen die Samen in Traubenzuckerlösung, in dem zweiten in Frucht- und in dem dritten in Rohrzuckerlösung. Die Größe der Eiweißzersetzung war in allen diesen drei Versuchen nahezu die gleiche. Sie betrug nämlich in % des Gesamteiweißstickstoffs:

¹⁾ Bulletin International de l'Académie des Sciences de Cracovie, Année 1904.

bei den Samen aus Traubenzuckerlösung	31·35%
" " " " Fruchtzuckerlösung	28·03%
" " " " Rohrzuckerlösung	29·24%

Da auch in bezug auf die intramolekulare Atmung die Unterschiede zwischen den drei Versuchen nicht bedeutend waren, so ließ sich aus denselben nichts Sicheres über die Beziehung zwischen der intramolekularen Atmung und der Eiweißzersetzung folgern.

Auch ist hervorzuheben, daß die Versuche ungefähr 9 Monate dauerten, die Kohlensäureausscheidung aber schon nach 2 Monaten gänzlich aufhörte. Damals blieb es unentschieden, ob der Eiweißzerfall gleichen Schritt mit der intramolekularen Atmung hält und mit ihr gleichzeitig aufhört, oder ob der eine dieser Prozesse auch noch nach dem Aufhören des anderen fort dauert. Unentschieden blieb es auch, ob die Intensität der intramolekularen Atmung irgend welchen Einfluß auf die Größe der Eiweißzersetzung bei Luftabschluß ausübt.

Da mir die Frage nach dem Zusammenhang der beiden genannten Prozesse für die Beleuchtung des pflanzlichen Stoffwechsels von Bedeutung erschien, so habe ich zwecks Beantwortung derselben eine Reihe von Versuchen angestellt, deren Resultate hier mitgeteilt werden sollen.

Methodisches.

Die Methode der Versuche war dieselbe wie in meiner früheren Arbeit. Die abgewogenen sterilisierten Samen mit angestochener Testa wurden in meine in der genannten Arbeit beschriebenen, samt Wasser oder Glukoselösung im Autoklave sterilisierten Apparate gebracht. Die Apparate wurden dann mittels Quecksilberluftpumpe luftleer gemacht und dann deren Ableitungsröhrchen abgeschmolzen. Selbstverständlich war das innere Volumen eines jeden Apparates sorgfältig ausgemessen. Auch die Volumina der Samen und der Flüssigkeit, in welcher sie im Apparate tauchten, wurden ermittelt. Durch Ablesen der Quecksilberhöhe in der Steigröhre des Apparates, der Temperatur und des Barometerstandes wurde von Zeit zu Zeit das Volumen des in dem Apparate eingeschlossenen Gases (Kohlensäure) bestimmt und auf diese Weise der Gang der intramolekularen Atmung der in dem Apparate sich befindenden Samen verfolgt.

Am Schlusse des Versuches wurde in der Regel die Reinheit der in dem Apparate angesammelten Kohlensäure geprüft. Zu diesem Zwecke wurde das Gas aus dem Apparat in ein Eudiometer umgepumpt und mit Kalilauge behandelt. Die bis auf ein winziges Bläschen stattfindende Absorption des Gases durch Kalilauge konnte als Beweis gelten, daß keine anderen Gase als Kohlensäure in dem Apparate enthalten waren.

Nun wurde der Apparat geöffnet und man schritt zur Analyse der Lösung und der Samen.

Die Lösung wurde zunächst in ein Meßkölbchen von 150 ccm übergossen und mit Waschwasser des Apparates und der Samen bis auf die Marke aufgefüllt. Die Samen wurden von dem Waschwasser mit Filtrierpapier abgetrocknet, sofort gewogen, entschält, zerkleinert, im Exsikkator im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet, abermals gewogen, fein gepulvert und zur Analyse aufbewahrt. Falls während des Versuches eine größere Menge Kohlensäure ausgeschieden wurde, unterließ man es nicht, in der Lösung auch den Alkohol zu bestimmen. Der Rückstand der Destillation oder im Fall der Nichtbestimmung des Alkohols die ursprüngliche Lösung wurde auf verschiedene Stickstoffformen analysiert. Um eine Kontrolle der Analysenresultate zu haben, wurde die Lösung immer wenigstens in zwei Portionen geteilt. In der Regel wurde in einer kleineren Portion von etwa 25 ccm der Gesamtstickstoff nach Kjeldahl bestimmt, in der größeren dagegen wurden zunächst die löslichen Eiweißverbindungen mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$ abgeschieden und deren Stickstoff ebenfalls nach Kjeldahl bestimmt. Das Filtrat wurde entweder sofort ein wenig eingeengt, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure gefällt, oder dies geschah erst nach der Abscheidung des Kupfers mit H_2S . Der mit heißem Wasser ausgewaschene Niederschlag von CuS wurde auch besonders nach Kjeldahl verbrannt und auf seinen Stickstoffgehalt untersucht. Es zeigte sich, daß dieser CuS -Niederschlag immer eine gewisse Menge Stickstoff enthielt.

Der mit verdünnter Schwefelsäure ausgewaschene Phosphorwolframsäure-Niederschlag wurde samt dem Filter in einen Kjeldahlkolben gebracht, in Wasser aufgeschwemmt und zwecks Bestimmung des darin enthaltenen Ammoniaks mit frisch gebranntem MgO fast bis zur Trockene abdestilliert. Der Rückstand der Destillation wurde dann nach Kjeldahl verbrannt und der Stickstoffgehalt

ermittelt. Dieser Stickstoff diene als Maßstab für den Gehalt an Peptonen und Hexonbasen.

Das Filtrat vom Phosphorwolframsäure-Niederschlag wurde nun etwa 2 bis 3 Stunden am Rückflußkühler gekocht, mit Natronlauge bis zur schwach sauren Reaktion neutralisiert und mit frisch gebranntem MgO abdestilliert. Die Stickstoffmenge des so abdestillierten Ammoniaks gab, mit 2 multipliziert, die Menge des Asparaginstickstoffs, resp. des Stickstoffs der Aminosäureamide an. Der Rückstand dieser Destillation wurde nach Kjeldahl verbrannt und sein Stickstoff bestimmt. Nach Abzug des dem Asparagin entsprechenden Asparaginsäure-Stickstoffs wurde die betreffende Zahl als Stickstoff der gesamten Aminosäuren und anderer Stickstoffverbindungen von unbekannter Natur betrachtet.

In wenigen Fällen wurde der Rückstand nach dem Abdestillieren des Asparaginstickstoffs in verdünnter Schwefelsäure gelöst und in zwei Portionen geteilt, von denen die eine zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs, die andere zur Ermittlung des Aminosäurestickstoffs nach Böhm er (Behandlung mit HNO_2) diene.

Die Analyse des Samenpulvers wurde in folgender Weise durchgeführt: entweder wurde die ganze Menge oder der größte Teil dieses Pulvers mit 200, respekt. 250 ccm Wasser in einem Kolben übergossen, das Ganze gewogen, etwa 5 Stunden lang unter öfterem Schütteln bei ungefähr 70° – 80° C. digeriert, das verdampfte Wasser auf der Wage ersetzt, der Samenauszug abfiltriert und in ganz ähnlicher Weise, wie oben für die erste Lösung angegeben, analysiert. Der ungelöste Samenrückstand wurde samt dem noch anhaftenden Rest des Auszuges und dem Filter nach Kjeldahl verbrannt und der darin gefundene Stickstoff nach Abzug des auf den Rest des Auszuges entfallenden als Stickstoff des unlöslichen Eiweißstoffes angesehen.

Die Samenschalen wurden besonders verbrannt und deren Stickstoff ermittelt.

Versuche mit den Samen der gelben Lupine.

- a. Intramolekulare Atmung und Eiweißzersetzung in Samen, welche entweder in Zuckerlösung oder in Wasser liegen.

In meiner oben zitierten Arbeit habe ich den Eiweißzerfall unter Luftabschluß nur bei den in den Lösungen verschiedener Zucker-

arten liegenden Lupinensamen untersucht. Da wir aber wissen, daß die intramolekulare Atmung der in Zuckerlösungen liegenden Samen vielfach größer ist als die der in Wasser liegenden, so erschien es angezeigt zu untersuchen, ob auch in bezug auf Eiweißzersetzung Unterschiede zwischen den in Zuckerlösung und den in Wasser liegenden Samen bestehen.

Analyse des Ausgangsmaterials.

30 Lupinensamen von 4.464 g Gewicht wurden im Wasser eingeweicht, entschält, zerrieben, im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet und in Achatmörser pulverisiert.

Das getrocknete Samenpulver wog	2.9785 g
Die getrockneten Samenschalen wogen	0.9568 g
Summa	3.9353 g

Der Gewichtsverlust durch Austrocknung und etwaige Auslaugung betrug also 0.5287 g = 11.84%.

Das Wasser, in welchem die Samen eingeweicht waren, enthielt 0.0021 g Stickstoff.

0.4725 g Samenpulver, nach Kjeldahl verbrannt, gaben 43.54 mg Stickstoff. Daraus berechnet man für die Gesamtmenge des Pulvers, d. h. für 2.9782 g, 274.5 mg Stickstoff.

2.506 g Samenpulver wurden 5 Stunden lang mit 200 ccm Wasser bei etwa 70°–80° C. digeriert. Nach Abfiltrierung des Samenauszugs von dem unlöslichen Rückstande wurde das Filtrat sowie der Rückstand auf oben angegebene Weise analysiert.

Die Resultate der Analyse, auf die ganze Masse von 30 Samen einerseits und auf den Prozentgehalt der Trockensubstanz der ganzen und der entschälten Samen andererseits bezogen, sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

(Sich Tab. I Seite 628).

Kontrolle. 0.4725 g Samenpulver, nach Kjeldahl verbrannt, gaben 43.54 mg Stickstoff. Darnach ergeben sich für die Gesamtmenge des Pulvers, d. h. für 2.9782 g, 274.5 mg. Differenz gegen die Zahl, welche durch Summierung der Einzelbestimmung erhalten wurde, = + 2.0 mg.

Setzt man nun den Gesamtstickstoff der ganzen, respekt. der entschälten Samen = 100, so berechnet sich die Verteilung des

TABELLE I.

	in 30 Samen mg N	N in % der Trocken- substanz der ganzen Samen	N in % der Trocken- substanz entschälter Samen
N der ungelösten Eiweißstoffe . . .	209.29	5.318	7.026
„ der gelösten Eiweißstoffe I ¹⁾ . . .	29.28	0.744	0.983
„ „ „ „ II ²⁾ . . .	8.21	0.209	0.276
„ „ organischen Basen . . .	10.21	0.259	0.343
„ des Ammoniaks	0.89(2)	0.022	0.030
„ der Aminosäureamide	6.66	0.169	0.224
„ „ Aminosäuren und anderer Verbindungen	11.97	0.304	0.402
Summa im Samenpulver	276.51	7.025	9.281
N im Quellungswasser	2.10	0.053	0.071
„ in den Samenschalen	6.16	0.156	9.352
	284.77	7.234	

Stickstoffs auf einzelne Formen der Stickstoffverbindungen, wie folgt³⁾:

TABELLE II.

	in den ganzen Samen	in den entschäl- ten Samen
N der ungelösten Proteinstoffe	73.51	75.12
„ „ gelösten Proteinstoffe I ¹⁾	10.60	10.83
„ „ „ „ II ¹⁾	2.98	3.04
„ „ Peptone u. organischen Basen	3.69	3.78
„ des Ammoniaks ²⁾	0.31	0.33
„ der Aminosäureamide	2.41	2.47
„ „ Aminosäuren und sonstiger Ver- bindungen	4.34	4.43
„ „ Samenschalen	2.16	100.00
	100.00	

¹⁾ Mit I bezeichnen wir die mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$ gefällten Eiweißstoffe, mit II den Stickstoff der Stoffe, welche bei der Fällung des Cu mit H_2S mitgefällt wurden.

²⁾ Die Samen enthalten selbstverständlich kein Ammoniak, man hat aber den Phosphorwolframsäureniederschlag mit MgO abdestilliert, um zu sehen, wie hoch der Fehler bei der Ammoniakbestimmung anzuschlagen ist.

³⁾ Der Stickstoff des Quellungswassers wurde in dieser Zusammenstellung auf die Stickstoffzahlen einzelner Formen der löslichen Stickstoffverbindungen den Mengen derselben proportional verteilt.

Versuch I.

Am 29. Juli 1905 wurden zwei Apparate zusammengestellt: der eine *A* enthielt 30 Samen in 2·89%-iger Glukoselösung, der andere *B* 29 Samen in Wasser. Die Apparate wurden in üblicher Weise mit Quecksilberluftpumpe evakuiert und ungefähr 6 Monate lang stehen gelassen. Von Zeit zu Zeit wurden die Volumina der in den Apparaten angesammelten Kohlensäure abgelesen, um den Gang der intramolekularen Atmung zu verfolgen. Wir werden hier nicht die einzelnen Ablesungen wiedergeben, es möge die Bemerkung genügen, daß in den letzten 4 Monaten keine Gasausscheidung mehr stattfand. Die letzten Gasvolumenablesungen fanden unmittelbar vor der Öffnung der Apparate statt. Die Öffnung des ersteren erfolgte am 1. Februar, die des letzteren am 6. Februar 1906. Die letzten Ablesungen der Gasvolumina ergaben:

für den Apparat mit Glukoselösung		für den Apparat mit Wasser
v'	809·6 ccm	260·3 ccm
b — b' — b''	209·9 mm	85·9 mm
t	20·0° C.	16·9° C.

Daraus berechnen sich die reduzierten Gasvolumina v:

für den Apparat mit Glukoselösung auf	297·7 ccm,
" " " " Wasser	" 27·8 ccm.

Die aus den Apparaten in die Eudiometer umgepumpten Gase erwiesen sich als reine Kohlensäure.

Da in dem Apparate mit Glukoselösung 91·6 ccm, im Apparate mit Wasser 93·6 ccm enthalten waren, so berechnet sich die Menge der in diesen Flüssigkeiten gelösten Kohlensäure:

für den Apparat mit Glukoselösung auf	35·3 ccm,
" " " " Wasser	" 10·1 ccm.

Demnach betrug die Gesamtmenge der durch die intramolekulare Atmung der Samen gebildeten Kohlensäure:

im Apparate mit Glukoselösung	297·7 + 35·6 = 333·6 ccm = 655·5 mg,
" " " Wasser	27·8 + 10·1 = 37·9 ccm = 74·6 mg.

Die intramolekulare Atmung der Lupinensamen war demnach diesmal in Glukoselösung mehr als achtmal intensiver als in Wasser.

Bei der Analyse der Lösungen beider Apparate wurde zunächst

Alkohol durch Abdestillieren bestimmt und der Destillationsrückstand auf den Gehalt verschiedener Stickstoffverbindungen untersucht.

In dem Apparate mit Glukoselösung wurde auch die Menge der übriggebliebenen Glukose bestimmt.

Die Alkoholbestimmungen ergaben:

für den Apparat A mit Glukoselösung	692·4 mg,
" " " B " Wasser	53·9 mg.

Demnach stellt sich das Verhältnis von CO_2 zu $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$:

für die Samen in Glukoselösung auf	100 : 105·6,
" " " " Wasser	" 100 : 72·3.

Die Bestimmung der im Apparate mit Glukoselösung am Ende des Versuches übriggebliebenen Glukose ergab 2·073 g. Da aber am Beginn des Versuches die betreffende Lösung 2·702 g Glukose enthielt, so haben die Samen von der in der ursprünglichen Lösung enthaltenen Glukose 0·629 g vergoren, und da die Summe des während des Versuches gebildeten Alkohols und der Kohlensäure $0·692 + 0·655 = 1·347$ g betrug, so haben die Samen von ihren eigenen Reservestoffen 0·718 g vergoren. Dem gegenüber haben die in Wasser gelegenen Samen nur 0·075 g CO_2 und 0·054 g Alkohol, also im ganzen 0·129 g an Hauptprodukten der intramolekularen Atmung gebildet. Dieses Resultat bestätigt dasjenige, zu dem ich in meinen früheren Untersuchungen gekommen bin; ich habe nämlich dort gefunden, daß die Verabreichung von Trauben-, Frucht- oder Rohrzucker an die Samen eine verstärkte Vergärung ihrer eigenen Reservestoffe zur Folge hat.

Was nun den Gang der Analyse des Versuchsmaterials auf einzelne Stickstoffverbindungen betrifft, so ist folgendes zu bemerken:

In dem Rückstande von der Destillation des Alkohols aus dem Apparate mit Glukoselösung wurden wie üblich die gelösten Eiweißstoffe mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$ abgeschieden, das Filtrat vom $\text{Cu}(\text{OH})_2$ -Niederschlage wurde aber, ohne vom Kupfer durch H_2S befreit zu werden, unmittelbar mit Phosphorwolframsäure behandelt. In ganz ähnlicher Weise wurde auch der Samenauszug analysiert. Der Destillationsrückstand aus dem Apparate mit Wasser wurde in zwei Teile geteilt, in dem einen der Eiweißstickstoff nach Stutzer ermittelt, der andere direkt mit Phosphorwolframsäure behandelt und

im Niederschlage nach dem Abdestillieren des Ammoniaks mit MgO, der Stickstoff nach Kjeldahl ermittelt. Die Differenz zwischen dem hier gefundenen Stickstoff und dem nach Stutzer ermittelten Eiweißstickstoff ergab den Stickstoff der Peptone und der organischen Basen. Das Filtrat vom Phosphorwolframsäure-Niederschlage wurde hier nach Invertierung und Abdestillieren des Amidstickstoffs mit MgO nicht ganz zwecks Bestimmung des restierenden Stickstoffs verbrannt, sondern mit Schwefelsäure leicht angesäuert und auf 100 ccm aufgefüllt. Von der so bereiteten Lösung wurden 25 ccm nach Kjeldahl verbrannt und 50 ccm nach Böhrer mit HNO₂ zwecks Bestimmung des Aminosäurestickstoffs behandelt. Bei diesem Verfahren handelte es sich um Feststellung, ob die mit Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stickstoffverbindungen aus lauter Aminosäuren und Aminosäureamiden oder auch noch aus anderen Verbindungen bestehen.

Die Resultate dieser Analysen sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

(Sich Tab. III Seite 632).

Versuch II.

Am 30. August 1905 wurde ein Apparat von 404·2 ccm Inhalt mit 30 Samen der gelben Lupine von 5·263 g Gewicht = 4·64 g Trockensubstanz und mit 95·2 g destilliertem Wasser beschickt, zusammengestellt und evakuiert. Der Apparat blieb bis zum 22. Januar 1906, also nahezu 5 Monate lang stehen. Die von Zeit zu Zeit vorgenommenen Ablesungen und Berechnungen der durch intramolekulare Atmung gebildeten Kohlensäure mögen hier beispielweise in Tabelle IV mitgeteilt werden.

(Sich Tab. IV Seite 633).

Das ins Eudiometer übergepumpte Gas verschwand nach Zusatz von KHO bis auf ein ganz kleines Bläschen, man darf demnach annehmen, daß außer den am Beginn des Versuches gebliebenen 0·15 ccm Luft kein anderes Gas als Kohlensäure im Apparate vorhanden war.

Nach den Zahlen dieser Tabelle dauerte in diesem Versuche eine merkbare Kohlensäurebildung nur etwa 3 Wochen lang, später war sie schon außerordentlich gering.

TABELLE III.

	a) Apparat mit Glukoselösung			b) Apparat mit Wasser		
	Lösung mg	Samenpulver mg	Zusammen mg	Lösung mg	Samenpulver mg	Zusammen mg
N der ungelösten Eiweißstoffe	—	213·5	213·5	—	174·7	174·7
„ „ gelösten „	8·0	12·2	20·2	5·5	33·5	39·0
„ „ Peptone u. der organischen Basen	14·1	3·0	17·1	16·5	1·3	17·7
„ des Ammoniaks	2·7	0·2	2·9	5·8	—	5·8
„ der Aminosäureamide	16·6	8·5	25·1	11·7	9·5	21·2
„ „ Aminosäuren	71·0	5·9	76·9	40·5	2·3	42·8
„ sonstiger Verbindungen				40·0		
				80·5	4·6	85·1
N der Samenschalen	112·4	243·3	355·7	120·0	223·6	343·6
			11·2			11·9
			366·9			355·5

Kontrolle.

Kontrollbestimmung des Gesamtstickstoffs
in einer besonderen Portion

Differenz zu Gunsten der Summe der
Einzelbestimmungen

mißlungen 238·6 mg

+ 4·7 mg

116·2 mg 226·9 mg

+ 3·8 mg — 3·3 mg

TABELLE IV.

Datum der Ablesung	Gasvolumen, auf 0°C. und 766 mm Druck reduziert, in ccm	Kohlensäure, in Wasser gelöst, in ccm	Gesamtmenge der ausgeschiedenen Kohlensäure in ccm	Kohlensäure, seit der letzten Ablesung pro 1 g Samen und in 24 Stunden ausgeschieden, in ccm
30. August	0.15	0	0	0
1. September	9.57	3.14	12.56 ¹⁾	1.193
4. "	16.34	5.28	21.47	0.565
6. "	30.96	9.84	40.65	1.822
8. "	41.78	13.12	54.75	1.34
10. "	53.62	16.48	69.95	1.44
12. "	66.06	19.97	85.88	1.51
14. "	75.08	22.74	97.67	1.12
16. "	81.11	24.67	105.63	0.76
21. "	86.70	28.02	114.57	0.34
24. "	87.74	28.98	116.57	0.13
30. "	89.86	27.20	116.91	0.01
6. Oktober	89.08	28.60	117.60	0.02
22. Januar 1906	91.60	28.56	120.01	—

Es ist beachtenswert, daß sich in diesem Versuche eine dreimal größere Menge von Kohlensäure bildete als im Apparate mit Wasser des vorhergehenden Versuches, was unerklärt bleiben muß, dagegen war sie doch noch nahezu dreimal kleiner als im Apparate mit Glukoselösung.

Die Alkoholbestimmung in dem Inhalte des Apparates ergab eine Menge von 175 mg.

Da nun $120.01 \text{ ccm CO}_2 = 235.95 \text{ mg}$, so gestaltet sich das Verhältnis von $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_6\text{O} = 100 : 74.2$, also nahezu genau so wie im Apparate mit Wasser des Versuches I.

Das Samenpulver wog nach Austrocknung über Schwefelsäure 2.4688 g, das Gewicht der getrockneten Samenschalen betrug 1.065 g.

¹⁾ Die Zahlen dieser Kolonne wurden durch Summierung der Zahlen beider ersten Kolonnen unter Abzug von 0.15 ccm erhalten.

Das Verfahren bei der Analyse auf Stickstoffverbindungen war eine ähnliche wie im Versuche I. Das Filtrat von dem $\text{Cu}(\text{OH})_2$ -Niederschlag wurde also auch hier ohne Abscheidung des Kupfers mit Phosphorwolframsäure behandelt und im Niederschlage Ammoniak und Stickstoff der organischen Basen nacheinander bestimmt. Im Filtrate vom Phosphorwolframsäure-Niederschlag waren nur Asparaginstickstoff und Stickstoff aller sonstigen Verbindungen nacheinander bestimmt.

Die Resultate dieser Analyse sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

TABELLE V.

	Stickstoff in mg			
	Lösung	Samenpulver	Zusammen	In % der Trockensubstanz der entschälten ursprünglichen Samen
N der ungelösten Eiweißstoffe	—	210.10	210.10	5.877 } 6.455
„ „ gelösten „	7.63	13.04	20.67	
„ „ Peptone u. org. Basen	12.25	2.87	15.12	0.423
„ des Ammoniaks	4.08	—	4.08	0.114
„ der Aminosäureamide	16.34	6.24	22.58	0.632
„ „ Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	74.67	0.66	75.33	2.107
	114.97	232.91	347.88	9.731
In den Samenschalen			11.48	
			359.36	

Um über die Resultate beider eben beschriebenen Versuche eine bessere Übersicht zu gewinnen, haben wir die Zahlen eines jeden Versuches auf % des Gesamtstickstoffs der entschälten Samen umgerechnet und in folgender Tabelle zusammengestellt. Der Stickstoff der ungelösten Substanz samt dem in den Lösungen und im Samenauszuge nach Stutzer ermittelten Eiweißstickstoff ist in der Tabelle gemeinsam als Stickstoff der Eiweißstoffe angegeben.

TABELLE VI.
Der Gesamtstickstoff = 100 gesetzt.

	im Ausgangs- material	am Ende des Versuches		
		Versuch I, 6 Monate dauernd		Versuch II, 5 Mon. dauernd
		Apparat A mit Glukoselösung	Apparat B mit Wasser	Apparat C mit Wasser
N der Eiweißstoffe . . .	85.95	65.69	62.20	66.34
„ des CuS-Niederschlags	3.04	} 6.82	4.80	5.16
„ der organischen Basen	3.78			
„ des Ammoniaks . . .	0.33	0.82	1.70	1.17
„ der Aminosäureamide .	2.47	7.07	6.17	6.49
„ der Aminosäuren . . .	} 4.43	21.62	12.45	} 24.76
„ sonstiger Verbindungen			12.32	
	100.00	100.00	100.00	100.00

Aus den Zahlen dieser Tabelle ersehen wir, daß die Eiweißzersetzung in den Samen aller drei Apparate annähernd die gleiche war. Wenn wir aber beachten, daß die Samen in dem Apparate A (Vers. I, Glukoselösung) 297.7 ccm, im Apparate B (Vers. I, Wasser) 37.95 ccm und im Apparate C (Vers. II, Wasser) 120 ccm Kohlendioxyd durch intramolekulare Atmung gebildet haben, so tritt eine vollständige Unabhängigkeit der Eiweißzersetzung bei Sauerstoffabschluß von der Intensität der intramolekularen Atmung deutlich zutage.

Geringe Unterschiede in der Intensität der Eiweißzersetzung in Samen der drei Apparate sind allerdings vorhanden. In den Samen des Apparates B war diese Zersetzung eine stärkere als in denen der Apparate A und C. Da nun die Versuchsdauer in den Apparaten A und B fast gleich war und die Versuchsbedingungen in beiden Apparaten voneinander nur in dem Punkte abwichen, daß die Samen im Apparate A in Glukoselösung, im Apparate B in Wasser lagen, so macht das Resultat des Versuches I wahrscheinlich, daß die Verabreichung von Glukose an Samen, trotzdem sie deren intramolekulare Atmung um ein Vielfaches steigert, die Eiweißzersetzung in denselben ein wenig verzögert. Die Tatsache, daß die Eiweißzersetzung im Apparate C (Versuch II), in welchem

die Samen auch in Wasser lagen und dreimal so stark als im Apparate *B* geatmet haben, dennoch kleiner war als im Apparate *B*, könnte man dadurch erklären, daß der Versuch hier nicht 6 sondern nur 5 Monate gedauert hat. Bei einer solchen Voraussetzung müßte man aber angesichts dessen, daß die intramolekulare Atmung der Lupinensamen höchstens 2 Monate andauert, auch noch die weitere Annahme machen, daß die Eiweißzersetzung nicht gleichzeitig mit der intramolekularen Atmung der Samen erlischt, sondern noch lange nach dem Erlöschen derselben, also wahrscheinlich auch noch nach dem Tode der Samen weiter fort dauert. Selbstverständlich durfte man einen solchen nicht unwichtigen Schluß keineswegs aus einem einzigen Versuch ziehen; es erschien demnach angezeigt, den Einfluß der Zeitdauer des Versuches auf die Größe der Eiweißzersetzung näher zu untersuchen. Das ist auch in folgenden Versuchen geschehen.

b. Einfluß der Zeitdauer des Versuches auf die Größe der Eiweißzersetzung.

Versuch III.

Zu gleicher Zeit mit den Apparaten *A* und *B* im Versuch I wurde auch ein Apparat *D* von 506·2 ccm Inhalt mit 30 Lupinensamen in 91·7 ccm Wasser zusammengestellt und evakuiert. Die Samen wogen 5·512 g = 4·862 g Trockensubstanz der ganzen und 3·79 g der entschälten Samen. Dieser Apparat blieb bis zum 19. Februar 1907, also nahezu 19 Monate lang stehen. Während der ganzen Versuchszeit konnte man keine Trübung der Flüssigkeit im Apparate wahrnehmen; diese blieb vielmehr bis zum Ende des Versuches vollkommen klar und durchsichtig.

Da die Anfangstemperatur des Versuches eine ziemlich hohe (22° C. bis 24·7° C.) war, so dauerte die Kohlensäureausscheidung durch die Samen nur etwa drei Wochen. Am ersten Tage des Versuches betrug sie 1·13 ccm pro 1 g Samen und 24 Stunden, aber schon am fünften Tage sank sie trotz einer Temperatur von über 24° C. auf 0·59 g und vom 24. August an (also 26 Tage vom Anfang des Versuches) blieb das Volumen der im Apparat angesammelten Kohlensäure bis zum 19. Februar 1907, also während einer Zeit von nahezu 18 Monaten ganz konstant. Es haben sich im ganzen während des anaerobiotischen Lebens der Samen 41·5 ccm

Kohlensäure, die in der Lösung absorbierte mitgerechnet, im Apparate angesammelt, was also nur 7.5 ccm pro 1 g Samen ausmacht.

Die Alkoholbestimmung wurde in diesem Versuche nicht vorgenommen, sondern die Lösung nach dem Öffnen des Apparates in eine Meßkolbe von 150 ccm Inhalt gegossen und mit Waschwasser des Apparates auf die Marke aufgefüllt. Da man sich darüber orientieren wollte, ob bei Sauerstoffabschluß auch die phosphorhaltigen organischen Stoffe eine Spaltung erleiden, so wurden von diesen 150 ccm Lösung zwei Portionen von je 25 ccm zur Bestimmung der Gesamt- und der mineralischen Phosphorsäure und 75 ccm für die Bestimmung der verschiedenen Stickstoffformen verwendet, 25 ccm dienten aber zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs der Lösung zwecks Kontrolle.

Die getrockneten und gepulverten Samen wogen 1.987 g, die getrockneten Samenschalen 1.072 g. Auch dieses Samenpulver wurde in drei Portionen geteilt. Die größte, u. zw. 1.034 g, diente zur Analyse auf verschiedene Stickstoffformen, eine kleinere von 0.467 g zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs behufs Kontrolle der vorigen Analyse und die dritte von 0.486 g zur Bestimmung der in den Samen verbliebenen Phosphorsäure.

Die Resultate dieser Analysen sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

(Sich Tab. VIII Seite 638).

Kontrollbestimmungen.

255 ccm Lösung ergaben nach Verbrennung 30.9 mg Gesamtstickstoff, somit sollte die ganze Lösung 185.2 mg enthalten;

die Summierung aller einzelnen Bestimmungen ergab 172.6 „
Differenz — 12.6 mg

0.467 g Samenpulver, nach Kjeldahl verbrannt, ergaben 43.4 mg Stickstoff.

Somit ergeben sich laut Berechnung für die ganze Pulvermenge, d. h. für 1.9875 g Pulver 184.7 mg Stickstoff;

die Summierung aller einzelnen Bestimmungen ergab 187.5 „
Differenz + 2.8 „

TABELLE VII.

	Stickstoff in verschiedenen Verbindungen			
	in mg			in % d. Trok- kensubstanz der entschäl- ten Samen
	in der Lösung	im Samen- pulver	Zusammen	
N der ungelösten Ei- weißstoffe	—	155·5	155·5	4·101
„ der gelösten Eiweiß- stoffe nach Stutzer	9·9	9·8	19·8	
„ des CuS-Nieder- schlages	? ¹⁾	?	?	?
„ der organischen Ba- sen	20·8	1·8	22·6	0·596
„ des Ammoniaks .	18·2	2·0	20·2	0·533
„ der Aminosäure- amide	20·2	8·9	29·0	0·766
„ der Aminosäuren (nach Böhmer) .	64·0	5·8	69·8	1·842
„ sonstiger Verbin- dungen	39·6	3·6	43·2	1·139
	172·7	187·4	360·1	9·499

Die Gesamtstickstoffbestimmung in einer Portion des Samenpulverauszuges ergab, auf die ganze Menge dieses Auszuges umgerechnet, 29·1 mg Stickstoff.

Aus der Summierung der Einzelbestimmungen in diesem Auszuge resultierten 32·0 „
Differenz + 2·9 mg

Die Kontrollbestimmungen bestätigen demnach das Ergebnis der Analyse des Samenpulvers in genügender Weise, dagegen ergibt bei der Analyse der Lösung die Summierung der Einzelbestimmun-

¹⁾ Man hat das Kupfer aus dem Filtrate mit H₂S abgeschieden, leider aber versäumt den Stickstoff darin zu bestimmen.

²⁾ Im Samenpulver wurde nach Abdestillierung des Amidstickstoffs nur der Gesamtstickstoff zu 9·4 mg bestimmt und nach dem Resultate der Analyse der Lösung nach Böhmer die Menge der Aminosäuren berechnet.

gen im Verhältnisse zur Gesamtstickstoffbestimmung ein Manko von 12·6 mg. Dieses über die üblichen Fehlergrenzen stark hinausgehende Manko erklärt sich aus zweierlei Umständen: 1) der Stickstoff wurde in dem Niederschlage von CuS nicht bestimmt und nicht berücksichtigt, ging also für die Bestimmung durch Summierung der Einzelbestimmungen verloren; 2) ein kleines Manko konnte auch dadurch entstehen, daß das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag in einer von der sonst üblichen etwas abweichenden Weise behandelt wurde. Man entfernte nämlich zunächst aus demselben die Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure mit Barythydrat, den Überschuß an Baryt mit CO₂ und füllte das Filtrat mit Waschwasser auf 500 ccm auf. Von dieser Lösung wurden 250 ccm zwecks Invertierung des Asparagins mit Schwefelsäure gekocht, der Amidstickstoff abdestilliert und der Rückstand nach der Lösung in verdünnter Schwefelsäure mit HNO₂ behandelt. Man erhielt 29·9 ccm auf 0° C. und 760 mm reduzierten Stickstoffgases, woraus sich die Menge des Aminosäurestickstoffs, auf die ganze ursprüngliche Lösung berechnet, zu 74·04 mg und nach Abzug des dem Asparagin entsprechenden Aminosäurestickstoffes zu 64·0 mg ergibt. Von der restierenden Lösung wurden 125 ccm nach Kjeldahl verbrannt, wobei man 15·47 mg erhielt, was auf die ganze ursprüngliche Lösung berechnet, 123·7 mg gibt. Nach Abzug des Asparaginstickstoffs bleiben 123·7 — 20·1 = 103·9 g für Aminosäuren und sonstige Verbindungen und nach Abzug des mit HNO₂ ermittelten 64·0 mg Aminosäurestickstoffs 39·8 mg für andere Stickstoffverbindungen unbekannter Natur. Nun ist es möglich, daß im Niederschlage von Phosphorwolframsäure und Schwefelsäurebaryt eine, wenn auch sehr kleine Menge von Stickstoffverbindungen zurückgeblieben ist, und da auch der Stickstoffgehalt des CuS-Niederschlages unberücksichtigt gelassen wurde, so dürfte hier die Ursache des Mankos von 12·6 mg in der Summe der Einzelbestimmungen gesucht werden.

Berücksichtigen wir das Manko von 12·54 mg, welche bei den Einzelanalysen der Lösung verloren gegangen sind, so erhalten wir im ganzen 372·58 mg Stickstoff für das Samenpulver und die Lösung zusammen, was, in % der Trockensubstanz der entschälten ursprünglichen Samen ausgedrückt, 9·83% ausmacht, ein Betrag, der nur um 0·1% von der entsprechenden Zahl des vorigen Versuches abweicht.

Berechnen wir die Verteilung des Stickstoffs der einzelnen Verbindungen in % des Gesamtstickstoffs der entschälten Samen, so erhalten wir:

TABELLE VIII.

N der ungelösten Eiweißstoffe	41.72	} 47.03
„ „ gelösten Eiweißstoffe	5.31	
„ „ organischen Basen	6.06	
„ des Ammoniaks	5.43	
„ der Aminosäureamide	7.79	
„ „ Aminosäuren	18.73	} 30.32
„ sonstiger Verbindungen	11.59	
„ b. d. Analyse verloren gegangen	3.37	
	100.00	

Vergleichen wir die Zahlen dieser Tabelle mit jenen der Tabelle VI, so sehen wir, daß der Eiweißzerfall hier bedeutend größer war als in allen drei früher beschriebenen Versuchen, so daß es als sicher anzunehmen ist, daß der Eiweißzerfall auch nach dem Tode der Samen noch weiter fortgedauert hat und daß er nach 6 Monaten mit Sicherheit noch nicht abgeschlossen war. Bemerkenswert ist noch, daß in diesem Versuche bedeutend mehr Ammoniak gebildet wurde und daß die wirklichen Aminosäuren, nach Böhmer bestimmt, über die sonstigen Stickstoffverbindungen unbekannter Natur merklich überwiegen, während in dem kürzer dauernden Versuch II die Stickstoffmenge dieser beiden Gruppen nahezu gleich war.

Verhalten der organischen Phosphorverbindungen.

Wie oben erwähnt, wurde in diesem Versuche noch die Form der Phosphorverbindungen in dem Versuchsmaterial bestimmt.

Die Analyse wurde nach der Methode Riegler's ausgeführt, weil dieselbe eine genaue Bestimmung sehr geringer Phosphorsäuremengen gestattet.

In 25 ccm Lösung wurde die Mineralphosphorsäure mit molybdänsaurem Ammoniak gefällt und nach Riegler bestimmt. Man erhielt 0.4103 g phosphormolybdänsaures Baryum = 7.18 mg P_2O_5 , also für 150 ccm 43.08 mg P_2O_5 .

25 ccm wurden mit H_2SO_4 und HNO_3 verbrannt und erst dann

die Gesamtphosphorsäure nach Riegler bestimmt. Man erhielt 0·5457 g Niederschlag = 9·55 mg P_2O_5 ; also für 150 ccm 57·29 mg.

0·4865 g Samenpulver wurden mit HSO_4 und HNO_3 verbrannt und die Phosphorsäure bestimmt. Man erhielt 0·1935 g des Niederschlages = 3·34 mg P_2O_5 , woraus sich für das ganze Samenpulver 13·84 mg P_2O_5 ergeben. Berücksichtigt man nun, daß die im Apparate gequollenen Samen 8·76 g Wasser enthielten, auf welche nach der vorigen Analyse 4·55 mg Mineralphosphorsäure und 6·05 mg Gesamtphosphorsäure entfallen, so bleiben für die ungelöste Gesamtphosphorsäure des Samenpulvers nur 7·78 mg übrig.

Demnach verteilt sich der Phosphorsäuregehalt des Versuchsmaterials am Ende des Versuches, wie folgt:

	in mg	in % der Gesamtphosphorsäure
Gelöste Mineralphosphorsäure	63·4	72·95
„ organische Phosphorsäure (Phytin)	15·7	18·09
Unlösliche Phosphorsäure, an Eiweißstoffe gebunden	7·8	8·96
	86·9	100·00

Die ursprünglichen Samen enthielten aber nach einer besonderen Analyse pro 100 Teile Gesamtphosphorsäure:

Mineralphosphorsäure	6·66%
Phytinphosphorsäure	37·10%
Phosphorsäure der Eiweißstoffe	56·24%

Demnach sehen wir, daß bei 19-monatlichem Verweilen der sterilen Lupinensamen unter Luftabschluß in Wasser 71% der ursprünglichen organischen Phosphorverbindungen einer Zersetzung unter Abspaltung der Mineralphosphorsäure erlagen und daß dieser Zersetzung sowohl das Phytin als auch die phosphorhaltigen Eiweißstoffe anheimfielen. Es ist demnach mit größter Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß die Enzyme, welche Phosphorsäure von den organischen Verbindungen abspalten, in den Samen der gelben Lupine ähnlich wie z. B. in den Gerstensamen¹⁾ fertig gebildet sind.

¹⁾ Vorbrodt Bulletin international de l'Académie des Sciences de Cracovie, 1910, Série A.

Die beschriebenen drei Versuche haben alle mehrere Monate gedauert, da aber die intramolekulare Atmung der in Wasser oder in Zuckerlösung liegenden Samen und auch ihr Leben spätestens nach etwa zwei Monaten vollständig erlischt, so ist anzunehmen, daß von der Dauer der Versuche ein großer Teil auf die Zeit nach dem Tode der Samen entfiel. Wenn nun die Versuche gezeigt haben, daß der Eiweißumsatz um so stärker war, je länger der Versuch dauerte, so folgt daraus, daß ein Teil dieser Umsetzungen sich schon nach dem Tode der Samen vollzog. Es erschien demnach angezeigt, noch Versuche von kürzerer Dauer anzustellen, um zu studieren, ein wie großer Teil dieser Umsetzungen noch während der Lebenszeit der Samen stattfindet.

Schon aus der eben festgestellten Tatsache, daß die Eiweißspaltung auch nach dem Tode der Samen fort dauert, darf geschlossen werden, daß sie als ein enzymatischer Prozeß aufzufassen ist. Daß die proteolytischen Enzyme in den gekeimten und sogar in den ungekeimten Samen einiger Pflanzen enthalten sind, wurde zuerst von Gorup-Besanez im Jahre 1874 angegeben, von Krauch 1881¹⁾ angezweifelt, von Green 1886²⁾ für keimende Samen von *Lupinus hirsutus* sichergestellt, von Neumeister (1894) für Keimlinge von Gerste, Mohn, Weizen, Mais und Raps nachgewiesen³⁾.

Diese Tatsache wurde dann (1899) von Fermi und Buscaloni⁴⁾ auch für die Keimlinge vieler anderer Pflanzen, wenn auch nicht aller untersucht, so wie auch für ungekeimte reife Samen von *Anagallis*, *Sorghum*, *Cannabis* und Lein ausgedehnt. Die erwähnten Autoren haben sich damit begnügt, die Verflüssigung gewisser Eiweißstoffe, respekt. der Gelatine durch die betreffenden Objekte (Samen und Keimlinge) oder durch die aus ihnen dargestellten Enzympräparate zu konstatieren. Nur Green gibt an, daß er bei der Digestion des Fibrins mit dem aus den Keimlingen von *Lupinus hirsutus* gewonnenen Glycerinauszug die Bildung von Leuzin und Tyrosin beobachtet hat.

¹⁾ Krauch, Über peptonbildende Fermente. Landwirtsch. Versuchsst., B. XXVII, S. 382.

²⁾ I. Reynol Green, Die Enzyme. Berlin 1901, S. 207.

³⁾ Das Buch von Green, S. 209.

⁴⁾ Fermi und Buscaloni, Die proteolytischen Enzyme im Pflanzenreiche. Zentralblatt für Bakteriologie, II. Abt. B. V, S. 129 u. 130.

Seit dieser Beobachtung von Green vom Jahre 1886 haben erst im Jahre 1900 Fernbach und Hubert¹⁾, ferner Windisch und Schellhorn²⁾ für Malz nachgewiesen, daß der Extrakt aus demselben nicht nur Gelatine verflüssigt, seine eigenen, durch Erwärmung koagulierbaren Eiweißstoffe teilweise durch Selbstverdauung in Lösung bringt, sondern auch, daß bei dieser Verdauung die Menge der durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stickstoffverbindungen steigt, woraus zu schließen ist, das die proteolytischen Malzenzyme einen über die Peptonisierung hinausgehenden Abbau der Eiweißstoffe hervorzurufen imstande sind.

Einen wichtigen Fortschritt in der Erforschung der enzymatischen Eiweißspaltung in den Keimlingen durch die darin enthaltenen Enzyme bildet die Arbeit von Butkiewitsch³⁾ (1901) aus dem Züricher Agrikulturchemischen Laboratorium von E. Schulze. Butkiewicz hat für die Erforschung der proteolytischen Enzyme der gekeimten Samen und deren Wirkung die von Salkowski in der Tierphysiologie verwendete Methode der Autodigestion benutzt, indem er getrocknete, gepulverte und mit Äther behandelte Keimlinge 3 bis 16 Tage lang im Thermostaten mit Wasser unter Zusatz von antiseptischen Mitteln hielt und die während dieser Zeit eingetretenen Veränderungen ihrer Eiweißstoffe quantitativ untersuchte.

Die mit dem Material aus den Keimlingen von *Lupinus angustifolius*, *Lupinus luteus*, *Vicia Faba* und *Ricinus major* ausgeführten Versuche ergaben das übereinstimmende Resultat, daß ein namhafter Teil der Eiweißstoffe der Samen durch solche Autodigestion zersetzt und teils in gewisse mit Phosphorwolframsäure noch fällbare, zum größten Teil aber in mit diesem Reagens nicht fällbare Verbindungen umgewandelt wird.

Die Menge der zersetzten Eiweißstoffe war je nach der Art der Keimlinge, der Zeitdauer des Versuches, der Natur des verwend-

¹⁾ Fernbach und Hubert, Sur la diastase protéolytique du malt. Comptes rendus, Bd. 130, S. 1783.

²⁾ Windisch und Schellhorn, Über das eiweißspaltende Enzym der gekeimten Gerste. Wochenschrift für Brauerei, 1900, S. 334, zitiert nach Green, Die Enzyme, S. 210.

³⁾ Butkiewitsch, Über das Vorkommen eines proteolytischen Enzyms in gekeimten Samen und über seine Wirkung. Zeitschr. f. physiologische Chemie, B. XXXII.

ten Antiseptieums und endlich nach der Reaktion der Versuchsflüssigkeit verschieden und schwankte in den Versuchen des Verfassers zwischen 8% und 47% der ursprünglichen Eiweißstoffe.

Von Wichtigkeit ist der vom Verfasser erbrachte Beweis, daß bei dieser enzymatischen Eiweißzersetzung nur sehr geringe Mengen von Aminosäureamiden, dagegen bedeutende von Aminosäuren gebildet werden. Von diesen letzteren gelang es dem Verfasser, Leuzin und Tyrosin aus der Zersetzungsflüssigkeit in Kristallform darzustellen, dagegen mißlang in allen Fällen der Versuch, die Bildung von Asparagin mit Sicherheit nachzuweisen. Weiter konstatierte der Verfasser, daß bei einer schwachsauren Reaktion zwar in der Regel mehr Eiweißstoffe zersetzt, aber dennoch weniger Aminosäuren gebildet wurden, als bei neutraler, so daß es den Anschein hatte, als ob eine schwachsaure Reaktion zwar die Eiweißzersetzung beschleunige, sie zugleich aber weniger weitgehend mache. Demzufolge beobachtete der Verfasser bei schwachsaurer Reaktion der Autolyseflüssigkeit unter den Eiweißzersetzungsprodukten mehr von solchen Stickstoffverbindungen, welche mit Phosphorwolframsäure fällbar sind.

Endlich ist noch hervorzuheben, daß der Verfasser aus den Keimlingen von *Lupinus angustifolius* Enzympräparate nach der Wittich'schen Methode dargestellt und die Wirkung derselben auf ein nach Ritthausen's Methode dargestelltes Konglutinpräparat untersucht hat. Auch hier konnte er nicht nur Auflösung und Zersetzung des Konglutins, sondern auch Bildung von Leuzin und Tyrosin, nicht aber von Asparagin unter den Produkten dieser Zersetzung konstatieren.

Butkiewitsch ließ die Natur der bei der Autodigestion der Lupinuskeimlinge sich bildenden, mit Phosphorwolframsäure fällbaren Verbindungen unentschieden. Diese Lücke füllte zum Teil E. Schulze selbst¹⁾ aus (1904), indem er nachwies, daß ein bedeutender Teil dieser Verbindungen aus Hexonbasen, und zwar vorwiegend aus Arginin besteht. Während einer 13 Tage dauernden Autolyse unter Zusatz von 0.3% Zitronensäure oder 0.2% CNH bildete sich in % der Trockensubstanz in den Versuchen mit Keim-

¹⁾ E. Schulze u. Castoro, Beiträge zur Kenntnis der Zusammensetzung und des Stoffwechsels der Keimpflanzen. Zeitschrift für physiologische Chemie, B. XLIII, S. 170.

lingen von *Lupinus albus* 0·3—0·4%, in denen mit *Lup. luteus* 0·5—0·7% Arginin.

Sehr wichtige Beiträge zur Kenntnis der proteolytischen Enzyme der gekeimten und der ungekeimten Samen sowie der Pflanzenenzyme überhaupt hat Vines¹⁾ in einer Reihe von Arbeiten geliefert. Die Untersuchungsmethode von Vines war eine sehr einfache, sie beruht einerseits darauf, daß die betreffenden Enzyme Flöckchen von Blutfibrin nach und nach durch Peptonisation auflösen, anderseits darauf, daß sie beim weiteren Abbau der Peptone unter anderen Produkten Triptophan bilden, welches durch Farbenreaktion mit Chlorwasser leicht nachzuweisen ist. Die Stärke dieser Triptophanreaktion wurde von Vines zur Beurteilung der Intensität der peptolytischen Wirkung der Enzyme benutzt. Nun windet sich wie ein roter Faden in allen Arbeiten von Vines der Gedanke hindurch, daß die in verschiedenen Pflanzengeweben auftretenden und als Trypsin angesehenen Enzyme keineswegs von einheitlicher Natur sind, sondern daß sie aus einem Gemenge von Pepsin und Ereptase bestehen. Die letztere ist in den Pflanzengeweben ganz außerordentlich, vielleicht sogar allgemein verbreitet, das erstere begleitet sie oft, aber nicht immer. Auch in allen untersuchten gekeimten sowie ungekeimten Samen konnte Vines das Vorhandensein von Ereptase nachweisen, er fand nämlich, daß gemahlene, mit Peptonlösung übergossene Samen in derselben nach einiger Zeit eine stärkere oder schwächere Tryptophanreaktion hervorrufen. Dagegen gelang es nur selten, in dem Mehle von ungekeimten Samen eine blutfibrinlösende Wirkung nachzuweisen; dies gelang aber stets mit dem Mehl ausgekeimter Samen. Unter der durch viele Versuche des Verfassers gut begründeten Annahme, daß die fibrinlösende Wirkung der proteolytischen Pflanzenenzyme dem Pepsin, dagegen die die Triptophanreaktion hervorrufende der Ereptase zuzuschreiben sei, folgt aus den obigen Beobachtungen, daß die Ereptase in allen ruhenden Samen schon von Haus aus vorhanden ist, daß dagegen das Pepsin sich meistens erst bei der Keimung der Samen und bei der Weiterentwicklung der Keimlinge bildet. In Übereinstimmung damit fand auch Vines, daß das Mehl der meisten ungekeimten Samen, trotzdem es in Peptonlösung recht

¹⁾ Vines, Proteolytic Enzymes in Plants. Annals of Botany, 1903. The Proteases of Plants. Ann. of Bot., 1904, 1905, 1906, 1908, 1909.

bald eine starke Tryptophanreaktion hervorruft, bei alleiniger Autodigestion diese Reaktion erst nach einer sehr langen Zeit bewirkt. Setzt man aber das Mehl von Keimlingen derselben Pflanzenart der Autolyse aus, so bemerkt man schon binnen kurzem (etwa nach 24 Stunden) eine starke Tryptophanreaktion.

Nach dieser kurzen Übersicht der Literatur über die proteolytischen Enzyme der gekeimten und der ungekeimten Samen wollen wir wieder zu unseren eigenen Versuchen über die anaerobe Eiweißzersetzung in den Pflanzensamen zurückkehren und jetzt die Versuche von kürzerer Dauer näher betrachten.

Von dem Gedanken geleitet, daß man diese anaerobe Eiweißzersetzung auf die Wirkung der in den Samen vorhandenen proteolytischen Enzyme zurückführen muß, benutzten wir bei diesen weiteren Versuchen neben ruhenden auch gekeimte Samen, um zu erfahren, inwieweit das Ankeimen der Samen, welches nach Vines' Ansicht von Neubildung des Pepsins begleitet werden soll, auch die anaerobe Eiweißzersetzung beschleunigt. Auch war es von Interesse, sich zu überzeugen, ob die intramolekulare Atmung der angekeimten Samen eine intensivere ist, als die unter gleiche Bedingungen gesetzter ungekeimter, d. h. ob auch die Menge von Zymase bei der Keimung der Samen in denselben vermehrt wird. Der Beantwortung dieser Fragen waren folgende Versuche gewidmet.

Versuch IV.

Am 18. März wurden zwei Portionen Samen der gelben Lupine *A* und *B* zu je 20 Stück in den Atmungsapparaten mit je 20 ccm sterilisiertem Wasser zur Quellung gebracht. Portion *A* wog 2.934 g = 2.587 g Trockensubstanz der ganzen und 1.949 g der entschälten Samen. Portion *B* wog 2.946 g = 2.597 g Trockensubstanz der ganzen und 1.948 g der entschälten Samen. Auf die Portion *A* wurden am 19. März 75 ccm 3% ige Glukoselösung gegossen, hierauf der Apparat evakuiert und durch Abschmelzen des Ableitungsrohres geschlossen. Die gequollenen Samen der Portion *B* wurden am 19. März auf dem Boden des Apparates ausgebreitet und, um sie zur Keimung zu bringen, 3 Tage lang dem Luftzutritt ausgesetzt. Wie die Untersuchung der Samen am Schluß des Versuches zeigte, waren von 20 Samen 19 ausgekeimt und es hatten:

2	Keimlinge	eine	Wurzellänge	von	6	bis	7	mm
6	"	"	"	"	10	"	11	"
6	"	"	"	"	12	"	13	"
4	"	"	"	"	14	"	15	"
1	"	"	"	"			16	"

Am 22. März goß man auf die Keimlinge im Apparate B 75 ccm 3%₀-ige Glukoselösung, evakuierte hierauf und schloß den Apparat. Der Gang der Kohlensäurebildung durch die intramolekulare Atmung der Samen in beiden Apparaten ist in Tabelle IX zusammengestellt. Die Zahlen geben in ccm einerseits die Gesamtmenge des vom Augenblick der Evakuierung eines jeden Apparates an ausgeschiedenen Kohlendioxyds, anderseits die in 24 Stunden von 1 g Samen ausgeschiedenen Menge dieses Gases.

Aus dieser Tabelle ist zu entnehmen, daß die intramolekulare Atmung der in Glykoselösung in sauerstofffreiem Raum liegenden, gekeimten Samen nahezu mit gleicher Intensität wie die der ungekeimten vor sich ging.

Pro 24 Stunden bildete durchschnittlich 1 Gramm:

der	gekeimten	Samen	2·91	ccm	CO ₂
"	ungekeimten	"	2·99	"	"

Die Alkoholbestimmung ergab:

für	die	Lösung	mit	gekeimten	Samen	0·2815	g
"	"	"	"	ungekeimten	"	0·3522	"

Da nun die Gesamtmenge der gebildeten Kohlensäure:

für	die	gekeimten	Samen	176·04	ccm	=	0·3461	g
"	"	ungekeimten	"	179·25	"	=	0·3523	"

betrug, so berechnet sich das Verhältnis von CO₂:C₂H₆O

für	die	gekeimten	Samen	auf	100	:	81·34,
"	"	ungekeimten	"	"	100	:	100·03,

es gestaltet sich also das Verhältnis von CO₂:C₂H₆O für die gekeimten Samen etwas enger als für die ungekeimten. Ob dies nun ein Zufall oder durch wirkliche Differenz in dem Verlaufe der intramolekularen Atmung der gekeimten und der ungekeimten Lupinensamen bedingt ist, mag dahingestellt bleiben; von Wichtigkeit ist aber der jedenfalls sichere Schluß, daß die Intensität der intramolekularen Atmung in Glykoselösung durch Ankeimung der Samen

TABELLE IX.

	T	Apparat A		Apparat B	
		Ungekeimte Samen in Glukoselösung		Gekeimte Samen in Glukoselösung	
		Gesamt- menge von CO ₂ vom Beginn des Versuches an in ccm	CO ₂ , pro 1 g Samen in 24 Stunden ausgeschie- den, in ccm	Gesamt- menge von CO ₂ vom Beginn des Versuches an in ccm	CO ₂ , pro 1 g Samen in 24 Stunden ausgeschie- den, in ccm
20. März	—	0	0	—	—
21. "	17·1	8·53	2·91	—	—
22. "	17·9	16·87	2·84	—	—
23. "	15·9	23·81	2·36	10·50	4·50
24. "	18·5	32·40	2·93	19·75	3·14
25. "	18·1	40·63	2·80	28·19	2·86
26. "	17·3	49·39	2·99	37·19	3·05
27. "	18·3	58·19	2·99	46·21	3·06
28. "	18·2	67·66	3·23	55·51	3·16
29. "	18·2	78·01	3·53	65·19	3·25
30. "	18·3	88·52	3·58	74·34	3·16
31. "	17·7	98·62	3·44	84·49	3·44
1. April	17·3	108·08	3·28	93·57	3·08
2. "	18·1	119·64	3·22	104·74	3·25
3. "	17·6	126·97	3·00	112·50	3·16
4. "	17·0	135·16	2·79	120·84	2·83
5. "	17·4	143·09	2·70	128·56	2·62
6. "	17·6	150·67	2·58	136·20	2·59
7. "	18·3	159·18	2·90	145·87	3·27
8. "	18·4	166·27	2·42	153·50	2·59
9. "	17·7	172·78	2·21	161·50	2·71
10. "	17·7	179·25	2·20	169·66	2·77
11. "	—	—	—	176·04	2·47

nicht gesteigert wird, daß also während der Keimung keine Neubildung von Zymase in den Samen stattfindet.

Die Analyse der Lösungen und der getrockneten und gepulverten Samen aus beiden Apparaten in bezug auf verschiedene Stickstoffformen ergab folgende Resultate:

TABELLE X.
Stickstoff in mg.

Bezeichnung der Stickstoffform	Apparat mit ungekeimten Samen			Apparat mit gekeimten Samen		
	Lösung	Samenpulver	Das ganze Versuchsmaterial	Lösung	Samenpulver	Das ganze Versuchsmaterial
N der ungelösten Eiweißstoffe . . .	—	126.23	126.23	—	113.22	113.22
„ „ gelösten „ . . .	0.84	30.57	31.41	0.84	37.05	37.89
„ im Niederschlage mit CuS . . .	0.21	6.77	6.98	0.11	6.07	6.18
„ der organischen Basen . . .	0.61	2.80	3.41	0.21	3.50	3.71
„ des Ammoniaks	0.10	0.93	1.03	0.32	1.17	1.49
„ der Aminosäureamide . . .	2.10	2.32	4.42	2.72	2.80	5.52
„ „ Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	5.88	13.31	19.19	7.67	16.33	24.00
	9.74	182.93	192.67	11.87	180.14	192.01
Stickstoff in Samenschalen . . .			3.00			3.78
			195.67			195.79

Kontrolle.

Apparat A mit ungekeimten Samen:

Gesamtstickstoff in der Lösung:

nach der Bestimmung in 25 ccm 8.82 mg
 „ „ Summierung der Einzelbestimmungen 9.74 „
 Differenz + 0.92 mg

Gesamtstickstoff in dem Auszuge des Samenpulvers:

nach der Bestimmung in 50 ccm 58.00 mg
 „ „ Summierung der Einzelbestimmungen 56.76 „
 Differenz — 1.24 mg

Apparat *B* mit gekeimten Samen:

Gesamtstickstoff in der Lösung nach einer Bestimmung	
in 25 ccm	10·92 mg
Gesamtstickstoff in der Lösung nach der Summierung	
einzelner Bestimmungen	11·87 „
	Differenz + 0·95 mg

Gesamtstickstoff des Auszuges aus Samenpulver:

nach der Bestimmung in 50 ccm	66·5 mg
„ „ Summierung der Einzelbestimmungen	66·92 „
	Differenz + 0·42 mg

Die folgende Tabelle enthält eine Zusammenstellung derjenigen Zahlen der Tabelle X, welche sich auf das ganze Versuchsmaterial beziehen, einerseits auf % der Trockensubstanz der ursprünglichen entschälten Samen, anderseits auf % des Gesamtstickstoffs dieses Materials umgerechnet.

TABELLE XI.

	N in % der Trockensubstanz der entschälten Samen		N in % des Gesamtstickstoffs	
	Apparat <i>A</i> , ungekeimte Samen	Apparat <i>B</i> , gekeimte Samen	Apparat <i>A</i> , ungekeimte Samen	Apparat <i>B</i> , gekeimte Samen
N der ungelösten Eiweißstoffe	6·476	5·811	65·52	58·96
„ der gelösten Eiweißstoffe	1·611	1·945	16·30	19·73
„ des CuS-Niederschlags	0·358	0·317	3·62	3·22
„ der organischen Basen	0·175	0·190	1·77	1·93
„ des Ammoniaks	0·053	0·077	0·54	0·78
„ der Aminosäureamide	0·227	0·284	2·29	2·88
„ der Aminosäure und sonstiger Verbindungen	0·985	1·232	9·96	12·50
	9·885	9·856	100·00	100·00

Aus den Zahlen dieser Tabelle, mit denen der Tabelle VI (Ausgangsmaterial) verglichen, ist zunächst zu entnehmen, daß die anaerobe Eiweißzersetzung in den gekeimten Samen größer als in den ungekeimten war. In den ungekeimten verminderte sich der Eiweißstickstoff während des Versuches von 85·95 auf 81·82% des Gesamtstickstoffs der Samen, also um 4·13%, in den gekeimten von 85·95 auf 78·69, also um 7·24%.

Es wäre daraus zu folgern, daß die Menge der proteolytischen Enzyme bei der gelben Lupine während des Ankeimens der Samen etwas zunimmt. Möglicherweise bezieht sich diese Zunahme (wie bei den autolytischen Versuchen von Vienes) nur auf das peptonisierende Enzym.

Vergleichen wir nun die Zahlen des vorliegenden, etwa 3 Wochen dauernden Versuches, welcher noch zur Zeit einer starken intramolekularen Atmung, also während die Samen noch lebten, unterbrochen wurde, mit denjenigen, welche bei den 6 bis 15 Monate dauernden Versuchen erhalten wurden, so sehen wir, daß die Menge der zersetzten Eiweißstoffe nach dreiwöchentlichem Verweilen der Samen in der Lösung ohne Sauerstoffzutritt kaum $\frac{1}{4}$ oder sogar nur $\frac{1}{5}$ derjenigen Menge erreicht, welche bei einem etwa 6 Monate dauernden Versuche zersetzt wurde. Da nun, — nach der Dauer der intramolekularen Atmung zu schließen, — das Leben der in der Lösung ohne Sauerstoffzutritt tauchenden Samen wohl nach etwa 6 bis 8 Wochen vollständig erlischt, so folgt daraus, daß die anaerobe Eiweißzersetzung in den mehrere Monate in sauerstofffreier Zuckerlösung gehaltenen Samen zur Zeit der Erstickung derselben kaum halb so stark ist, wie die am Schluß des Versuches beobachtete. Daraus folgt weiter, daß die nach dem Tode der Samen fortdauernde Wirkung ihrer proteolytischen Enzyme wenigstens noch einmal so viel Eiweiß zersetzte wie während des Lebens der Samen.

Versuch V.

Am 21. November 1907 wurden 25 Samen von 4·020 g = 3·544 g Trockensubstanz der ganzen und 2·560 g¹⁾ der entschälten Samen

¹⁾ Das Trockengewicht der entschälten Samen in diesen und im nächstfolgenden Versuche wurde aus dem gefundenen Gesamtstickstoff derselben berechnet unter der Annahme, daß der Stickstoffgehalt der entschälten Samen 9·87%

in dem Atmungsapparate mit 20 ccm Wasser steril zur Quellung gebracht, am Boden des Apparates ausgebreitet und, um sie zum Auskeimen zu bringen, drei Tage lang an der Luft gehalten. Am 25. November goß man in den Apparat noch etwa 40 ccm sterilisiertes Wasser, wonach der Apparat sofort evakuiert und in üblicher Weise durch Abschmelzen des Ableitungsröhrchens geschlossen wurde. Die Ablesungen des Gasvolumens im Apparate wurden in der Regel täglich vorgenommen. Da wir es hier zum erstenmal mit der intramolekularen Atmung der ausgekeimten, in destilliertem Wasser

TABELLE XII.

	Temperatur	Kohlensäuremengen, vom Beginn des Ver- suches von den Keim- lingen ausgeschieden	Kohlensäure, in 24 Stunden durch Keim- linge von 1 g Samen ausgeschieden
26. November	17·0	10·15	2·525
27. „	17·7	18·73	2·134
28. „	17·9	26·27	1·913
29. „	18·0	32·12	1·455
30. „	17·0	38·36	1·552
1. Dezember	17·0	42·77	1·156
2. „	17·0	46·24	0·863
3. „	16·3	49·52	0·816
4. „	17·3	52·90	0·853
5. „	16·0	55·94	0·542
6. „	15·9	56·81	0·440
7. „	16·7	57·96	0·286
8. „	16·3	59·55	0·420
9. „	16·7	61·63	0·570
10. „	16·9	62·00	0·092
12. „	16·7	63·46	0·141
14. „	17·3	63·47	0·000
16. „	15·8	64·53	0·081

(Mittelzahl aus beiden Analysen des vorigen Versuches) beträgt. Das geschah deswegen, weil man leider in diesen beiden Versuchen versäumt hatte, das Trockengewicht der Samenschalen nach dem Versuche zu ermitteln.

getauchten Lupinensamen zu tun haben, so möge der Gang dieser intramolekularen Atmung wiedergegeben werden. Die Zahlen geben die ganze, durch die intramolekulare Atmung der Samen ausgeschiedene Kohlensäure an, also die Summe der gasförmigen und der im Wasser des Apparates gelösten.

Die Alkoholbestimmung in dem Inhalte des Apparates ergab eine Menge von 116.0 mg. Da nun $64.53 \text{ ccm CO}_2 = 126.8 \text{ mg}$, so gestaltet sich das Verhältnis von $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_6\text{O} = 126.8 : 116.0 = 100 : 91.5$.

Die Analyse der Lösung und der getrockneten und gepulverten Samen ergab folgende Resultate.

TABELLE XIII.

	Stickstoff in mg			Stickstoff in % der Trockensub- stanz der ent- schälten Samen
	in der Lösung	im Samen- pulver	Zusammen	
N der ungelösten Eiweißstoffe . . .	—	129.45	129.45	5.057 } 6.797
„ „ gelösten Eiweißstoffe . . .	5.38	39.15	44.53	
„ des CuS-Niederschlags . . .	1.17	10.02	11.19	0.437
„ der organischen Basen . . .	8.90	2.91	11.81	0.461
„ des Ammoniaks	2.86	1.37	4.23	0.165
„ der Aminosäureamide	4.87	2.74	7.61	0.298
„ „ Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	35.03	8.79	43.82	1.712
Summa	58.21	194.43	252.64	9.870
Stickstoff der Samenschalen . . .			7.21	
			259.85	

Kontrolle.

Gesamtstickstoff der Lösung:

nach der unmittelbaren Bestimmung in 25 ccm 56.70 mg

nach der Summierung der Einzelbestimmungen 58.21 „

Differenz + 1.50 mg

Gesamtstickstoff des Samenpulvers:

nach der unmittelbaren Bestimmung in 0.2865 g	191.45 mg
nach der Summierung der Einzelbestimmungen	194.43 „
	<u> </u>
	+ 2.98 mg

Gesamtstickstoff in dem Auszuge des Samenpulvers:

nach der unmittelbaren Bestimmung in 50 cem	59.75 mg
nach der Summierung der Einzelbestimmungen	64.98 „
	<u> </u>
	+ 5.23 mg

Nach diesen Kontrollanalysen ist die Analyse der Lösung befriedigend ausgefallen, weniger befriedigend sind die Resultate der Analyse des Auszuges aus dem Samenpulver. Eine Differenz von 3, respekt. 5 mg ist schon entschieden zu groß und weist darauf hin, daß irgend eine von den Einzelbestimmungen zu hoch ausgefallen ist. Am wahrscheinlichsten wäre die Annahme, daß der Stickstoff des CuS-Niederschlages in dem Samenauszug fehlerhaft bestimmt wurde, da eine so hohe Stickstoffmenge in diesem Niederschlage in keinem anderen Versuche beobachtet wurde. Der unliebsame Analysenfehler dieses Versuches ist jedenfalls durchaus nicht so groß, als daß er die allgemeinen, weiter zu besprechenden Resultate des Versuches irgendwie beeinträchtigen sollte.

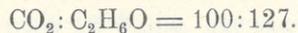
Versuch VI.

Dieser Versuch war dem vorigen ganz ähnlich, dauerte aber bedeutend länger. Am 23. November 1907 wurden 25 Lupinensamen von 3.868 g = 3.409 g Trockensubstanz der ganzen und 2.431 der entschälten Samen mit 20 cem Wasser im Atmungsapparate zur Quellung gebracht, dann auf dem Boden des Apparates ausgebreitet und drei Tage bei Luftzutritt zwecks Auskeimens stehen gelassen. Am 27. November wurde der Apparat nach Eingießen von weiteren 40 cem sterilisierten Wassers evakuiert und abgeschmolzen. Der Gang der intramolekularen Atmung war dem des vorigen Versuches ähnlich und die Zahlen sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

TABELLE XIV.

	Temp.	Kohlensäure, vom Beginn des Versu- ches an ausgeschie- den, ccm	CO ₂ , in 24 Stunden durch Keimlinge aus 1 g Samen ausge- scheiden, ccm
28. November	17·9 ⁰	7·49	1·870
29. „	18·0	12·09	1·447
30. „	17·0	22·55	2·704
1. Dezember	17·0	28·35	1·499
2. „	17·0	32·19	0·993
3. „	16·3	36·19	1·238
4. „	17·3	41·52	1·173
5. „	16·0	44·78	0·843
6. „	15·9	47·56	0·719
7. „	16·7	50·23	0·690
8. „	16·3	52·80	0·664
9. „	16·7	54·86	0·532
10. „	16·9	56·71	0·478
11. „	16·3	58·16	0·370
12. „	16·7	59·50	0·346
14. „	17·3	61·14	0·215
16. „	15·8	62·96	0·235
26. „	15·4	64·82	0·048
1. Januar	13·6	65·13	0·014
14. Februar	18·0	65·11	0·000

Die Alkoholbestimmung ergab in der Lösung 163 mg.
65·11 ccm CO₂ = 128 mg.



Die Resultate der Analyse der Lösung und der getrockneten und gepulverten Samen in bezug auf Stickstoffverteilung sind in folgender Tabelle angegeben.

TABELLE XV.

	Stickstoff in mg			Stickstoff in % der Trok- kensubstanz der entschäl- ten Samen
	in der Lösung	im Samen- pulver	Zusammen	
N der ungelösten Eiweißstoffe .	—	118·05	118·05	4·856 } 6·415
„ „ gelösten Eiweißstoffe . .	5·63	32·27	37·90	
„ des CuS-Niederschlags . .	1·37	3·11	4·48	0·184
„ der organischen Basen . .	7·34	0·19	7·53	0·310
„ des Ammoniaks	3·41	—	3·41	0·140
„ der Aminosäureamide	6·82	3·50	10·32	0·425
„ der Aminosäuren und sonsti- ger Verbindungen	52·37	5·86	58·23	2·396
	76·94	162·98	239·92	9·870

Kontrolle.

Gesamtstickstoff der Lösung:

nach unmittelbarer Bestimmung in 25 ccm . . 76·44 mg
nach der Summierung der Einzelbestimmungen 76·94 „
Differenz + 0·50 „

Gesamtstickstoff des Auszuges des Samenpulvers:

nach unmittelbarer Bestimmung in 50 ccm . . 44·10 mg
nach der Summierung der Einzelbestimmungen 44·93 „
Differenz + 0·83 „

Mithin eine vollkommen befriedigende Übereinstimmung.

Wenn wir nun den aus den Tabellen XII und XIV ersichtlichen Gang der intramolekularen Atmung der in Wasser tauchenden gekeimten Lupinensamen mit demjenigen, welcher unter gleichen Bedingungen mehrmals für die ungekeimten beobachtet wurde, vergleichen, so sehen wir, daß in der ersten Woche des Versuches die intramolekulare Atmung bei den gekeimten Samen entschieden eine größere ist als bei den ungekeimten. Wählen wir z. B. für den Vergleich den Versuch II, Tabelle IV, in welchem für die intramolekulare Atmung der ungekeimten Samen die höchsten Zahlen

gewonnen wurden, so sehen wir, daß in der ersten Woche dieses Versuches pro 1 g Samen und 24 Stunden durchschnittlich 1.193 cem CO₂ gebildet wurden, während die gekeimten Samen in der ersten Woche durchschnittlich im Versuche V 1.657 cem, im Versuche VI 1.560 cem Kohlensäure pro 1 g Samen in 24 Stunden ausgeschieden haben. Diese in den ersten Versuchstagen entschieden stärkere intramolekulare Atmung der gekeimten Samen im Vergleiche mit den ungekeimten, wenn beide in reinem Wasser unter Luftabschluß liegen, ist nicht auf einen größeren Gehalt der gekeimten Samen an Zymase zurückzuführen, denn, wäre dies der Fall, so müßte diese Bevorzugung der gekeimten Samen gegen die ungekeimten in bezug auf die intramolekulare Atmung beim Liegen in Glukoselösung anstatt in Wasser noch deutlicher hervortreten. Dem gegenüber zeigte aber der Versuch IV, daß in Glukoselösung die gekeimten und die ungekeimten Samen bei Sauerstoffabschluß gleich stark intramolekular atmen. Demnach muß die stärkere intramolekulare Atmung der gekeimten Samen in Wasser nicht auf ihren größeren Zymasegehalt, sondern auf eine größere Menge von geeignetem Atmungsmaterial in denselben zurückgeführt werden. Es ist ja leicht begreiflich, daß beim Ankeimen der Lupinensamen ein Teil der in ihnen enthaltenen Polysacchariden (Lupeose, Paragalaktan) invertiert und in vergärbare Glykosen verwandelt wird.

Ein Vergleich des Ganges der intramolekularen Atmung im Versuche V, Tab. XII, und Vers. VI, Tab. XIV, mit demjenigen des Versuches IV, Tab. IX, läßt erkennen, daß die gekeimten Samen in Glukoselösung nicht nur von Anfang an bedeutend stärker als in Wasser intramolekular atmen, sondern daß auch diese ihre intramolekulare Atmung bedeutend länger als in Wasser andauert, mit anderen Worten, daß die Keimlinge bei Luftabschluß in Glukoselösung bedeutend länger am Leben bleiben als in Wasser.

So war die intramolekulare Atmung bei den in Glukoselösung liegenden Keimlingen nach 20 Tagen nur um ein wenig kleiner als am Beginn des Versuches, während sie bei den in Wasser liegenden Keimlingen schon nach 18 Tagen gänzlich erlosch. Man darf demnach mit größter Wahrscheinlichkeit annehmen, daß der Sauerstoffabschluß die in Wasser liegenden Keimlinge schon binnen 18 Tagen tötete, während er denjenigen, welche in Glukoselösung lagen, auch noch binnen 20 Tagen nur wenig schadete.

Um uns nun über die Eiweißzersetzung der in Wasser unter Luftabschluß liegenden gekeimten Samen Rechenschaft zu geben, wollen wir jetzt die in den Tabellen XIII und XV zusammengestellten analytischen Resultate der Versuche V und VI auf % des Gesamtstickstoffes der ursprünglichen entschälten Samen umrechnen und in Tabelle XVI zusammenstellen.

TABELLE XVI.

	Der Stickstoff einzelner Verbindungen in % des Gesamtstickstoffes	
	Versuch V. Versuchsdauer 23 Tage	Versuch VI. Versuchsdauer 83 Tage
N der ungelösten Eiweißstoffe	51.24	49.20
„ „ gelösten Eiweißstoffe	17.63	15.80
„ des CuS-Niederschlags	4.43	1.87
„ der organischen Basen	4.67	3.14
„ des Ammoniaks	1.67	1.42
„ der Aminosäureamide	3.01	4.30
„ der Aminosäuren mit sonstiger Verbindungen	17.35	24.27
	100.00	100.00

Zu diesem Analysenresultate muß zunächst bemerkt werden, daß der Versuch V gerade zu der Zeit unterbrochen wurde, als die Keimlinge intramolekular zu atmen aufgehört hatten; das Versuchsmaterial wurde also kurz nach dem Tode derselben untersucht. Bei dem Versuche VI haben die Keimlinge etwa bis zum 20. Dezember geatmet, der Versuch war aber erst am 14. Februar beendet, die Keimlinge blieben also nach ihrem Tode noch nahezu zwei Monate lang im Apparate. Ein Vergleich der Analysenresultate des Materials beider Versuche zeigt, daß auch bei den gekeimten Samen die Eiweißzersetzung bestimmt nicht mit dem Tode derselben erlischt, sondern noch weiter fort dauert. Besonders deutlich ist das an der Menge des Aminosäurestickstoffes zu sehen, welcher nach dem Tode der Keimlinge noch um 7% des Gesamtstickstoffes zugenommen hat.

Vergleichen wir nun die Analysenzahlen der Versuche V und IV (Apparat B), welche beide fast gleich lang gedauert haben (Versuch V 21 Tage, Versuch IV 20 Tage bei Luftabschluß), so sehen wir, daß bei den in Wasser liegenden Keimlingen (Versuch V) die Eiweißzersetzung deutlich weiter fortgeschritten war, als bei den in Glukoselösung liegenden (Versuch IV). So blieben von Eiweißstickstoff

im Material aus Glukoselösung	78·69%
im Material aus Wasser	68·87 „

unzersetzt. Für den Stickstoff der mit Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stickstoffverbindungen wurden in % des Gesamtstickstoffs gefunden:

im Material aus Glukoselösung	15·38%
im Material aus Wasser	20·36 „

Bemerkenswert ist noch, daß der Stickstoff dieser letzten, in Wasser leicht löslichen Verbindungen im Material aus Glukoselösung vorwiegend in dem Samenpulver, im Materiale aus Wasser dagegen vorwiegend in der Lösung gefunden wurde. So fand man an Stickstoff der mit Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Verbindungen:

im Apparate mit Glukoselösung:

in der Lösung	10·39 mg,
im Samenpulver	19·13 „

im Apparat mit Wasser:

in der Lösung	39·90 mg,
im Samenpulver	11·53 „

Dieser Unterschied bestätigt den Schluß, welchen wir schon aus dem Verlaufe der intramolekularen Atmung gezogen haben, daß nämlich die gekeimten Samen in Wasser früher als in Glukoselösung absterben. da, wie wir wissen, die wasserlöslichen Stoffe aus toten Zellen sehr leicht, aus lebendigen nur recht schwer von Wasser ausgezogen werden.

Eine die Eiweißzersetzung hemmende Wirkung der Glukoselösung wird übrigens auch durch den 6 Monate dauernden Versuch I bestätigt; es wurde dort (vergl. Tabelle VII, S. 638) in % des Gesamtstickstoffs gefunden:

an Eiweißstickstoff im Material aus Glukoselösung . . .	65·69%
„ „ „ „ „ Wasser	62·20%
an Amid- und Aminosäurestickstoff aus Glukoselösung .	28·69%
„ „ „ „ „ Wasser	30·93%

Da die Unabhängigkeit der anaeroben Eiweißzersetzung von der intramolekularen Atmung so wie ihr Fortdauern nach dem Tode der Samen, respekt. der Keimlinge, darauf hinweist, daß sie als ein durch proteolytische Enzyme bewirkter Prozeß aufzufassen ist, so war es von Interesse zu untersuchen, inwieweit die Reaktion der die betreffenden Objekte umgebenden Flüssigkeit den Verlauf der anaeroben Eiweißzersetzung in denselben beeinflusst. Zu diesem Zwecke wurde folgender Versuch ausgeführt.

Versuch VII.

Am 5., respekt. 6. Mai 1909 wurden zwei Apparate zusammengestellt: *A*, von 404·6 ccm Inhalt mit 25 Samen in 70·5 ccm Wasser und *B*, von 491·7 ccm Inhalt mit 28 Samen in 94·5 ccm 0·25%-iger Zitronensäurelösung. Die Samen in *A* wogen 4·326 g = 3·81 g Trockensubstanz der ganzen und 2·9615 g der entschälten Samen. Die 28 Samen in *B* wogen 4·916 g = 4·344 g Trockensubstanz der ganzen und 3·328 g der entschälten Samen.

Der Gang der Kohlensäurebildung in beiden Apparaten ist in folgender Tabelle zusammengestellt. Die Zahlen geben die ganze, durch die intramolekulare Atmung der Samen ausgeschiedene Kohlensäure an, also die Summe der gasförmigen und der im Wasser der Apparate gelösten.

(Sieh Tab. XVII Seite 661).

Aus dieser Tabelle ist zu entnehmen, daß die Zitronensäure in 0·25%-iger Lösung nicht nur keine Verwendung für die intramolekulare Atmung der Lupinensamen fand, sondern dieselbe sogar bedeutend deprimierte und schon binnen einer Woche gänzlich zum Stillstand brachte, offenbar, weil sie den Tod der Samen beschleunigt hatte. Der Versuch wurde am 22. Februar abgeschlossen, dauerte also 261 Tage. Die Alkoholbestimmung wurde diesmal nicht vorgenommen, sondern man schritt sofort nach dem Öffnen der Apparate zur Analyse der Lösungen und der Samen auf Stickstoffverbindungen.

Die Lösung eines jeden Apparates wurde mit Waschwasser auf

TABELLE XVII.

	Temp.	Apparat A mit Wasser		Apparat B mit 0.25%iger Zitronensäurelösung	
		CO ₂ , seit Anfang des Versuches ausgeschieden, ccm	CO ₂ , pro 1 g Samen u. 24 Stunden gebildet, ccm	CO ₂ , seit Anfang des Versuches ausgeschieden, ccm	CO ₂ , pro 1 g Samen u. 24 Stunden gebildet, ccm
8. Juni	22.1	8.35	0.966	7.46	0.750
13. "	21.3	23.12	0.683	11.28	0.155
24. "	21.3	41.40	0.386	13.34	0.038
1. Juli	21.8	43.34	0.069	12.60	0.000
15. "	21.0	44.97	0.025	13.04	0.000
14. Februar 1910	18.2	44.27	0.000	13.95	0.000
16. "	19.5	44.46	0.000	13.84	0.000
22. "	18.5	45.01	0.000	—	—

150 ccm gebracht und in je zwei Portionen geteilt. Die eine Portion von 150 ccm wurde in üblicher Weise analysiert, mit dem einzigen Unterschiede, daß man nach der Fällung der Eiweißstoffe mit Cu(OH)₂ und Entfernung des Kupfers mit H₂S das Filtrat noch nach Einengung mit einigen Tropfen Tanninlösung und dann mit Bleiessig versetzte. Tannin rief in keinem Falle irgend eine Trübung hervor. Im Niederschlage von Bleiessig, ebenso wie im Niederschlage von CuS, wurde Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Das Filtrat vom Bleiessigniederschlag wurde mit Schwefelsäure versetzt, von PbSO₄ abfiltriert und mit Phosphorwolframsäure behandelt. Der durch dieses Reagens bewirkte Niederschlag sowie das Filtrat von demselben dienten für die üblichen Stickstoffbestimmungen. Die zweite Portion der Lösung von 50 ccm diente zur Kontrollanalyse. Dieselbe wurde nach Ansäuerung mit Schwefelsäure direkt mit Phosphorwolframsäure behandelt. Im Niederschlage bestimmte man einerseits Ammoniak, andererseits die Summe des Eiweißstickstoffs und des Stickstoffs der Peptone und der organischen Basen; im Filtrate wiederholte man die Bestimmung des abspaltbaren Amidstickstoffs und des Stickstoffs sonstiger mit Phosphorwolframsäure nicht fällbarer Verbindungen. Die Resultate der Hauptanalysen des Inhalts beider Apparate sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

TABELLE XVIII.

	Apparat mit Wasser		Zusammen	Stickstoff in % der Trockensub- stanz der entschälten Samen
	Stickstoff in mg			
	in der Lösung	im Samen- pulver		
N in ungelösten Eiweiß- stoffen	—	134·00	134·00	4·525 } 5·524
„ in gelösten Eiweißstof- fen	7·56	22·04	29·60	
„ im CuS-Niederschlage	0·84	0·73	1·57	0·053
„ „ Niederschlage von Tannin u. Bleiessig	3·99	0·64	4·63	0·156
„ der organischen Basen	20·58 ? (9·87)	— ¹⁾	20·58 ? (9·87)	0·695
„ des Ammoniaks	8·08	—	8·08	0·273
„ „ Asparagins	8·40	4·14	12·54	0·423
„ der Aminosäuren und sonstiger Verbindun- gen	79·41	6·82	86·23	2·912
Samenschalen	128·86	168·37	297·23 (286·52) 11·48	10·036 (9·685)
			308·63	
Apparat mit 0·25%-iger Zitronensäurelösung.				
N in ungelösten Eiweiß- stoffen	—	158·90	158·90	4·780 } 5·469
„ in gelösten Eiweißstof- fen	13·86	9·06	22·92	
„ im CuS-Niederschlage	1·68	0·76	2·44	0·073
„ „ Niederschlage von Tannin u. Bleiessig	8·19	0·76	8·95	0·269
„ in organischen Basen	19·11	0·07	19·18	0·577
„ im Ammoniak	7·35	—	7·35	0·221
„ in Aminosäureamiden	14·28	4·03	18·31	0·551
„ „ Aminosäuren und sonstigen Verbindun- gen	78·06	4·15	82·21	2·473
Samenschalen	142·53	177·73	320·26 27·23	9·633
			347·49	

¹⁾ Phosphorwolframsäure im Filtrate von Tannin und Bleiessig gab nur eine Trübung, auch nach 24 Stunden war die Menge des Niederschlages eine minimale und gab nach der Verbrennung keine bestimmbare Ammoniakmenge.

Kontrollanalysen:

Die Kontrollanalyse der Lösungen, in Portionen von je 50 ccm ausgeführt, ergab folgende Resultate:

im Apparate mit Wasser:

	mg	nach der Haupt- analyse: mg	mg Differenz
Ammoniakstickstoff	5.88	8.08	— 2.20
N der übrigen mit Phosphorwolfram- säure fällbaren Verbindungen . .	22.26	32.97 ¹⁾	— 10.71
„ der Aminosäureamide	10.92	8.40	+ 2.52
„ „ Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	79.38	79.41	— 0.03
im Apparate mit Zitronensäurelösung:			
N des Ammoniaks	7.98	7.35	+ 0.63
„ „ der übrigen mit Phosphorwol- framsäure fällbaren Verbindungen	39.06	42.84 ¹⁾	— 3.07
„ der Aminosäureamide	15.96	14.28	+ 1.68
„ „ Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	81.27	78.06	+ 3.21
	144.27	142.53	+ 1.74

Kontrollanalyse des Samenpulvers und des Samenpulverauszuges.

Apparat mit Wasser:

Gesamtstickstoffbestimmung in 0.1977 g Pulver . . . 19.26 mg
 demnach in 1.7068 g, d. h. im ganzen Samenpulver . 166.27 „
 nach den Einzelanalysen in Summa 168.37 „
 Differenz — 2.10 mg

Samenauszug; Gesamtstickstoff in 50 ccm. 7.42 mg
 demnach in 200 cm Samenauszug 29.68 „
 nach den Einzelbestimmungen in Summa 34.37 „
 Differenz — 4.65 mg

¹⁾ Summe des Stickstoffs der Verbindungen, welche mit $\text{Cu}(\text{HO})_2$, mit CuS , mit Tannin und Bleiessig und mit Phosphorwolframsäure gefällt wurden.

Apparat mit Zitronensäurelösung:

Gesamtstickstoff in 0.3231 g Samenpulver	29.26 mg
demnach in 1.9631 g, d. h. im ganzen Pulver	177.76 "
nach den Einzelanalysen in Summa	177.73 "
Differenz	- 0.03 mg
<hr/>	
Samenauszug; in 50 ccm Gesamtstickstoff	3.92 mg
demnach in dem ganzen Samenauszug (200 ccm)	15.68 "
nach den Einzelbestimmungen in Summa	18.48 "
Differenz	+ 2.80 mg

Diese Kontrollanalyse ergab für die Lösung des Apparates *B* (mit Zitronensäure) eine hinreichende Übereinstimmung, leider aber nicht für die Lösung aus dem Apparate *A* (mit Wasser). Hier differierte der Stickstoff des Niederschlages mit Phosphorwolframsäure um -10.71 mg von der Summe der aufeinanderfolgenden Stickstoffbestimmungen in den Niederschlägen mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$, CuS , Bleiessig und Phosphorwolframsäure und auch um nahezu dieselbe Menge war die Gesamtsumme der Stickstoffbestimmungen der Kontrollanalyse kleiner als die der Hauptanalyse. Da nun aber der Stickstoff der Aminosäuren und sonstiger mit Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Verbindungen in beiden Analysen recht gut übereinstimmte, so ist anzunehmen, daß bei der Bestimmung des mit Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffs irgend ein nicht unbedeutender Fehler, entweder bei der Haupt- oder bei der Kontrollanalyse begangen wurde.

Höchst wahrscheinlich war hier die Bestimmung der Hauptanalyse fehlerhaft, denn die Gesamtmenge des Stickstoffs in der Lösung und im Samenpulver beträgt unter Zugrundelegung dieser Analyse 297.2 mg, was auf Trockensubstanz der ursprünglichen entschälten Samen berechnet, 10.03% ausmacht, während diese Menge bei allen anderen Analysen sämtlicher Versuche nur zwischen 9.63% und 9.75% schwankte. Legen wir aber die Berechnung dieser Zahl die Kontrollanalyse der Lösung zugrunde, so erhalten wir für den Gesamtstickstoff in % der ursprünglichen Trockensubstanz der entschälten Samen 9.685%, was in Übereinstimmung mit den Resultaten der Analysen des Materials aus anderen Versuchen steht.

Wegen dieser mangelhaften Übereinstimmung der Haupt- und

der Kontrollanalyse habe ich in der Tabelle XVIII in der Rubrik: Stickstoff der organischen Basen neben der Zahl 20·58 mg nach der Hauptanalyse auch die Zahl (9·87 mg) nach der Kontrollanalyse ($22·26 - (7·56 + 0·84 + 3·99) = 9·87$), welche wahrscheinlich die richtigere ist, aufgenommen.

Die Kontrolle der Analyse des Samenpulvers in dem Material aus beiden Apparaten hat hinreichend übereinstimmende Resultate ergeben.

Um bessere Vergleichszahlen zu erhalten, wurden auch hier sämtliche Zahlen auf % des Gesamtstickstoffs umgerechnet und in der Tabelle XIX zusammengestellt. Die Zahlen für den Apparat A sind wegen der mangelhaften Übereinstimmung der Haupt- und der Kontrollanalyse nach beiden Analysen angegeben.

TABELLE XIX.

	Apparat A mit Wasser		Apparat B mit 0·25 Zitronensäure- lösung
	nach der Hauptana- lyse	nach der Kontrollana- lyse	
in % des Gesamtstickstoffs			
N der Eiweißstoffe	55·04	57·04	56·78
„ des CuS-Niederschlags	0·52	0·55	0·76
„ „ Bleiessigniederschlags . . .	1·56	1·62	2·79
„ der organischen Basen	6·92	3·44	5·99
„ des Ammoniaks	2·72	2·05	2·29
„ der Aminosäureamide	4·22	5·25	5·72
„ „ Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	29·02	30·05	25·67
	100·00	100·00	100·00

Die Zahlen dieser Tabelle zeigen, daß die Ansäuerung der Lösung mit 0·25%-iger Zitronensäure keinen deutlichen Einfluß auf die Größe der Eiweißzersetzung ausgeübt, aber entschieden die Menge der bei dieser Zersetzung sich bildenden Aminosäuren und anderer durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stickstoffverbindungen

herabgesetzt hat. Dürften wir die Kontrollanalyse als die richtige betrachten, so wäre auch zu schließen, daß durch Ansäuerung der Lösung mit Zitronensäure die Menge der durch die Phosphorwolframsäure fällbaren Verbindungen unter den Eiweißzersetzungprodukten eine Vergrößerung erfahren hat.

Versuche mit den Samen der blauen Lupine.

Analyse des Ausgangsmaterials.

50 Samen von 8.953 g Gewicht mit 8.206 g Trockensubstanz wurden in Wasser nur ganz wenig eingeweicht, entschält und pulverisiert. Die getrockneten Samenschalen wogen 1.952 g, wonach auf die Trockensubstanz der entschälten Samen 6.254 g entfallen. Das nur teilweise getrocknete Samenpulver, welches zur Analyse gedient hat, wog 6.6804 g, enthielt also noch 6.39% Wasser.

0.9705 g dieses Samenpulvers, nach Kjeldahl verbrannt, gaben 69.24 mg Stickstoff, woraus sich für das ganze Samenpulver 476.6 mg, also 7.62% der Trockensubstanz der entschälten Samen ergeben.

1.952 g Samenschalen gaben, nach Kjeldahl verbrannt, 9.52 mg Stickstoff.

Das ganze Quantum, also von 50 Samen, enthielt nach dieser Analyse $476.6 + 9.5 = 486.1$ g Stickstoff, d. i. 5.321% des Frisch- und 5.923% des Trockengewichtes der Samen.

5.709 g Samenpulver wurden mit 250 ccm Wasser in einer Temp. von etwa 70° C. einige Stunden lang digeriert und wie üblich analysiert. Von der abfiltrierten Lösung dienten 50 ccm zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs; 150 ccm wurden zunächst mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$ und dann, ohne das Kupfer mit H_2S abzuscheiden, mit Phosphorwolframsäure behandelt. Das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag diente wie üblich zur Bestimmung der Amide und der Aminosäuren mit allen sonstigen Verbindungen.

Die Resultate dieser Analyse auf das ganze Samenpulver, auf den Prozentgehalt der Trockensubstanz der entschälten Samen und endlich auf den des Gesamtstickstoffs derselben umgerechnet, sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

TABELLE XX.

	Stickstoff in der ganzen Menge der entschälten Samen in mg	Stickstoff in % der Trockensub- stanz der entschälten Samen	Stickstoff einzelner Ver- bindungen in % des Ge- samtstick- stoffs der entschälten Samen
N der unlöslichen Eiweißstoffe . .	367.44	5.875	76.46
„ „ gelösten und mit Cu(OH) ₂ ge- fällten Eiweißstoffe	56.21	0.899	11.70
„ der Peptone u. organischen Basen	42.43	0.678	8.82
„ des Ammoniaks	0.98	0.015	0.19
„ der Aminosäureamide	3.93	0.063	0.82
„ „ Aminosäuren u. sonst. Verb.	9.64	0.154	2.01
	480.63	7.684	100.00
Samenschalen	9.52		
	490.15		

Kontrolle.

Stickstoffgehalt des ganzen Samenpulvers:

nach der Bestimmung des Gesamtstickstoffs . 476.6 mg
 nach der Summierung der Einzelbestimmung . 480.63 „
 Differenz + 4.03 mg

Stickstoffgehalt des Samenausuges:

nach der Bestimmung des Gesamtstickstoffs in 50 cem 113.80 mg
 nach der Bestimmung der Einzelbestimmungen . . . 113.19 „
 Differenz — 0.61 mg

Versuch VIII.

Am 5. Januar 1905 wurden 29 Samen der blauen Lupine von 5.370 g Gewicht = 4.923 g Trockensubstanz der ganzen und 3.777 g der entschälten Samen in einen Atmungsapparat von 506 cem Inhalt mit 91.9 g destilliertem Wasser gebracht. Der Apparat wurde an demselben Tage evakuiert, durch Abschmelzen des Ableitungsröhrchens geschlossen und bis zum 17. Januar stehen gelassen. Die Ablesungen der Gasvolumina während des Versuches ergaben folgendes.

TABELLE XXI.

	Temp.	Gesamtmenge der ausgeschiedenen CO ₂ seit dem Beginn des Versuches	CO ₂ , pro 1 g Samen und 24 Stunden ausgeschieden
7. Januar	15·0	8·20	0·722
9. „	16·4	18·37	0·932
11. „	19·0	27·36	0·804
15. „	17·1	42·06	0·664
17. „	16·4	46·36	0·387

Die Analyse des Versuchsmaterials in bezug auf Stickstoffverbindungen ergab folgende Resultate:

TABELLE XXII.

	Stickstoff in mg			in % der Trockensub- stanz der entschälten Samen	in % des Gesamtstick- stoffs der ent- schälten Samen
	in der Lösung	im Samen- pulver	zusammen		
N der unlöslichen Ei- weißstoffe . . .	—	225·99	225·99	5·983	78·31
„ der löslichen Ei- weißstoffe . . .	—	28·06	28·06		
„ der organischen Basen	1·59	15·00 ¹⁾	16·59	0·439	5·75
„ des Ammoniaks .	—	0·42	0·42	0·011	0·14
„ der Aminosäure- amide	3·83	2·60	3·33	0·088	1·16
„ Aminosäuren und sonstiger Verbin- dungen		11·10	14·20	0·376	4·92
	5·42	283·17	288·59	7·640	100·00

¹⁾ In dem Filtrate vom Cu(OH)₂-Niederschlag wurde das Kupfer mit H₂S abgeschieden, leider aber wurde versäumt, den Stickstoffgehalt des CuS-Niederschlages zu bestimmen. Das war wahrscheinlich die Ursache, daß die Summierung der Einzelbestimmungen im Samenauszuge um 1·43 mg weniger Stickstoff als die unmittelbare Gesamtstickstoffbestimmung ergab.

Kontrolle.

Gesamtstickstoff in der Lösung:

nach unmittelbarer Bestimmung in 25 ccm . . 5·60 mg
 „ der Summierung einzelner Bestimmungen . 5·42 „
 Differenz -- 0·22 mg

Gesamtstickstoff in dem Auszuge des Samenpulvers:

nach unmittelbarer Bestimmung in 50 ccm . . 12·53 mg
 „ der Summierung einzelner Bestimmungen . 11·10 „
 Differenz — 1·43 mg

Versuch IX.

Dieser Versuch wurde gleichzeitig mit dem vorigen, also am 5. Januar 1905 zusammengestellt, dauerte aber bis zum 25. Februar, also 51 Tage. Der Apparat von 491·2 ccm Inhalt wurde hier mit 84 g Wasser und 30 Lupinensamen von 5·556 Gewicht = 5·092 g Trockensubstanz der ganzen und 3·801 g der entschälten Samen beschickt. Der Gang der Kohlensäureausscheidung war folgender:

TABELLE XXIII.

	Temp.	CO ₂ , vom Beginn des Versuches an ausgeschieden, in ccm	CO ₂ , pro 1 g Samen in 24 Stunden ausgeschieden, in ccm
7. Januar	15·0	8·20	0·738
9. „	16·4	17·04	0·796
11. „	19·0	29·74	1·142
15. „	17·0	43·14	0·603
20. „	16·6	51·84	0·349
24. „	16·4	56·97	0·234
28. „	18·4	64·00	0·317
1. Februar	20·0	68·99	0·225
5. „	13·4	73·23	0·195
9. „	20·3	78·32	0·228
11. „	18·6	79·92	0·144
16. „	18·4	85·13	0·187
21. „	19·7	87·72	0·093
25. „	18·7	88·65	0·042

Wie aus der obigen Tabelle zu ersehen ist, wurde der Versuch eben zu der Zeit abgebrochen, als die Samen fast aufgehört hatten, Kohlensäure auszuschcheiden, der Versuch dauerte also fast bis zur Zeit, wo die Samen abgestorben waren.

Die Analyse des Versuchsmaterials ergab folgendes: Die ganze zweimal destillierte Lösung gab 54·115 g des Destillates von 0·99954% s. G., was 0·2876% Alkohol entspricht. Daraus ergeben sich für 54·115 g des Destillates 0·1556 g Alkohol und unter Berücksichtigung der in den Samen übrig gebliebenen Lösung im ganzen 0·1744 g Alkohol.

$$88\cdot56 \text{ ccm CO}_2 = 0\cdot1743 \text{ g CO}_2.$$

Demnach gestaltet sich das Verhältnis:

$$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_6\text{O} = 0\cdot1743 : 0\cdot1744 = 100 : 100.$$

Die in üblicher Weise ausgeführte Analyse der Lösung und der getrockneten und gepulverten, entschälten Samen ergab folgende Resultate.

TABELLE XXIV.

	Stickstoff in mg			in % der Trockensub- stanz der entschälten Samen	in % des Gesamt- stickstoffs der entschälten Samen
	in der Lösung	im Samen- pulver	zusammen		
N der ungelösten Ei- weißstoffe . . .	—	204·57	204·57	5·382	68·68
„ der gelösten Ei- weißstoffe . . .	4·20	23·83	28·03		
„ der Peptone und der organischen Basen	12·69	5·56	18·25	0·480	6·13
„ des Ammoniaks .	1·62	0·50	2·12	0·056	0·71
„ der Aminosäure- amide	5·52	2·28	7·80	0·205	2·62
„ der Aminosäuren und sonstiger Ver- bindungen	32·05	5·05	37·10	0·976	12·45
	56·08	241·79	297·87	7·836	100·00

Kontrolle:

Gesamtstickstoff der Lösung:

nach unmittelbarer Bestimmung in 25 cem . .	54.88 mg
nach der Summierung der Einzelbestimmungen	<u>56.08 "</u>
Differenz	+ 1.20 mg

Gesamtstickstoff in dem Auszuge des Samenpulvers:

nach unmittelbarer Bestimmung in 55 cem . .	39.42 mg
nach der Summierung der Einzelbestimmungen .	<u>37.22 "</u>
Differenz	— 2.20 mg

Gesamtstickstoff in dem ganzen Samenpulver:

nach unmittelbarer Bestimmung in 0.619 g .	237.20 mg
nach der Summierung aller Einzelbestimmungen	<u>241.79 "</u>
Differenz	+ 4.59 mg

Versuch X.

Am 10. Januar 1905 wurde ein Atmungsapparat mit 75 cem einer 2.89%-igen Glukoselösung und 30 Samen von *L. angustifolius* zusammengestellt, evakuiert und bis zum 7. Februar stehen gelassen. Die Samen wogen 5.349 g = 4.911 g Trockensubstanz der ganzen und 3.704 g der entschälten Samen. Der Gang der intramolekularen Atmung war folgender.

(Sieh Tab. XXV Seite 672).

Die Lösung wurde auf 150 cem gebracht, hievon wurden 50 cem auf 100 cem verdünnt und für Glukosebestimmung in zwei Portionen verwendet. Die eine Bestimmung ergab 0.3016 g, die andere 0.315 g, also im Mittel 0.30155 g für 50 cem der ursprünglichen Lösung, demnach für 150 cem 0.9046 g und nach Berücksichtigung der in den gequollenen Samen verbliebenen Lösung beträgt die ganze Menge der im Apparate gebliebenen Glykose 1.030 g.

Ursprünglich enthielt die Lösung	2.1675 g
davon ab	<u>1.0300 "</u>
demnach sind vergoren	1.1375 g

100 cem Lösung gaben nach der Destillation 47.865 g Destillat

TABELLE XXV.

	Temp.	Gesamtkohlendioxyd, vom Beginn des Versuches ausge- schieden, in ccm	CO ₂ pro 1 g Samen in 24 Stun- den ausgeschieden, in ccm
11. Januar	19·0	8·35	1·56
13. „	18·5	51·95	4·075
15. „	17·1	94·92	4·016
17. „	18·1	128·09	3·185
20. „	16·6	179·09	3·191
22. „	15·6	197·9	1·744
24. „	16·4	212·01	1·417
26. „	18·1	230·90	1·765
28. „	18·4	248·43	1·638
30. „	18·3	262·47	1·312
1. Februar	20·0	294·40	2·984
3. „	20·2	317·30	2·141
5. „	13·4	323·60	0·597
7. „	16·5	334·95	1·061

von 0·998427 s. G., was einem Gehalte von 0·8265%, also einer Menge von 0·3955 g Alkohol entspricht. Daraus berechnet sich die Alkoholmenge in der abgegossenen Lösung auf 0·5827 g und auf die ganze Lösung (samt der in den Samen verbliebenen) auf 0·6636 g.

Die ausgeschiedene CO₂ 334·95 ccm = 0·6585 g,

demnach CO₂: C₂H₆O = 0·6585:0·6636 = 100:100·7.

Die Summe der Atmungsprodukte berechnet sich auf:

$$0·6585 + 0·6636 = 1·3221 \text{ g}$$

$$\begin{array}{r} \text{Die vergorene Glykose beträgt} \quad 1·1375 \text{ „} \\ \hline 0·0973 \text{ g.} \end{array}$$

Also diesmal entfallen nur 0·0973 g der gebildeten Atmungsprodukte auf die verbrauchten Reservestoffe der Samen.

Der Rückstand von der Alkoholbestimmung und die Samen selbst wurden auf verschiedene Stickstoffformen analysiert, woraus sich für das gesamte Versuchsmaterial folgende Resultate ergaben:

TABELLE XXVI.

	In der Lösung, mg	Im Samenpulver, mg	Zusammen, mg	in % der Trockensubstanz der entschälten Samen	in % des Gesamtstickstoffs der entschälten Samen
N der ungelösten Eiweißstoffe . . .	—	210.09	210.09	5.671 } 6.546	72.75 } 83.97
„ der gelösten Eiweißstoffe . . .	1.26	31.15	32.41		
„ der Peptone u. organischen Basen .	3.57	15.93	19.50	0.527	6.75
„ des Ammoniaks .	0.21	0.87	1.08	0.029	0.37
„ der Aminosäureamide	2.52	4.08	6.60	0.178	2.29
„ der Aminosäuren u. sonstiger Verbindungen . . .	9.24 ¹⁾	9.87	19.11	0.516	6.62
	16.80	271.99	288.79	7.796	100.00

Kontrolle:

Für die Lösung mißlungen.

Für den Samenauszug:

Gesamtstickstoff des ganzen Auszuges des Samenpulvers (250 ccm):

nach unmittelbarer Bestimmung 58.8 mg

nach der Summierung sämtlicher Einzelbestimmungen 61.1 „

Differenz + 2.3 mg

Der Samenauszug wurde auf einzelne Stickstoffformen in zwei besonderen Portionen von 100 ccm und 75 ccm untersucht und die angegebenen Zahlen sind Mittelwerte aus beiden Bestimmungen. Die Resultate dieser Bestimmungen waren:

¹⁾ Die unmittelbare Bestimmung der Aminosäuren u. s. w. mißlang. Die angegebene Zahl ist durch Abziehen der Summe sämtlicher anderen Bestimmungen von dem in einer besonderen Probe ermittelten Gesamtstickstoff erhalten worden.

TABELLE XXVII.

	nach der Analyse in 100 ccm	nach der Analyse in 75 ccm
N der Eiweißstoffe	31.15	46.67 ¹⁾
„ der Peptone u. org. Basen . . .	16.35	
„ des Ammoniaks	1.05	0.70
„ der Aminosäureamide	3.97	4.20
„ der Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	9.02	10.73

Versuch XI.

Am 7. Januar 1905 wurde ein Atmungsapparat mit 27 Lupinensamen von 5.002 Gewicht = 4.587 g Trockensubstanz der ganzen und 3.451 g der entschälten Samen in 100 ccm 2.89%-iger Glukoselösung steril beschickt und, ohne daß die Luft aus dem Apparate ausgepumpt wurde, bis zum 17. Januar, also 10 Tage lang stehen gelassen. Trotz erschwertem Luftzutritt, da ja die Samen gänzlich in Glukoselösung tauchten, haben von 27 Samen 25 gekeimt und Wurzeln von 2 bis 3 cm Länge getrieben. Die Lösung blieb bis zum Schluß des Versuches vollständig klar, so daß man annehmen dürfte, daß sie in bezug auf Bakterien steril blieb. Dagegen entwickelte sich an einer Stelle ein kleines Mycelium, welches nach oberflächlicher Abtrocknung ein Frischgewicht von 4.9 mg hatte. Da ein so winziges Mycelium keinen meßbaren Einfluß auf den Stoffumsatz haben konnte, so glaubte man diesen Einfluß vernachlässigen und den beobachteten Stoffumsatz ausschließlich auf Rechnung der Samen setzen zu können.

Die Analyse des Versuchsmaterials am Ende des Versuches ergab folgendes:

Der ganze Kolbeninhalt wog	105.06 g
die gequollenen Samen	14.46 „
„ trockenen Samen	4.56 „
„ Quellflüssigkeit	9.90 g
„ abgegossene Flüssigkeit	90.6 „

¹⁾ Diese Portion war nicht mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$ behandelt, sondern direkt durch Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag enthielt demnach den Stickstoff der Eiweißstoffe, der organ. Basen und des Ammoniaks.

Diese Flüssigkeit wurde auf 150 ccm aufgefüllt; 20 ccm dieser Lösung, zur Glukosebestimmung auf 50 ccm aufgefüllt, ergaben als Durchschnitt aus zwei Bestimmungen 0.28465 g Glukose, also in der ganzen Menge von 150 ccm = 90.6 g

der ursprünglich abgegossenen Lösung	2.135 g
Auf 9.90 g der Quellungslösung entfallen	0.233 "
Es beträgt also die ganze wiedergefundene Glukose	2.368 g
die ursprünglich eingeführte	2.890 "
Demnach wurden von den Samen veratmet "	0.522 g.

100 ccm Lösung gaben nach doppelter Destillation 41.486 g Destillat von 0.99916 s. G., was einem Gehalte von 0.4216%, also einer Menge von 0.1712 g Alkohol entspricht. Daraus berechnet sich die Menge des Alkohols in der ganzen abgegossenen Flüssigkeit auf 0.2568 g und in dem ganzen Inhalt des Apparates auf 0.2803 g. Der gefundene Alkohol entspricht also einer Menge von 0.5482 g vergorener Glukose. Da nun die Glukosebestimmung einen Verbrauch derselben von 0.522 g ergeben hat, so entfallen auf die Reservestoffe der Samen nur 0.0262 g. Der Verbrauch dieser Reservestoffe war aber entschieden ein größerer, da ja die Samen nicht bei Luftabschluß, sondern nur unter erschwertem Luftzutritt in der Glukoselösung verweilten; es ist demnach nicht zu bezweifeln, daß neben der intramolekularen Atmung auch zum Teil die normale stattgefunden hat. Wie groß diese normale Atmung war, läßt sich nicht feststellen, da leider die Bestimmung der Sauerstoffaufnahme und der Kohlensäurebildung bei diesem Versuche nicht vorgenommen wurde. Aber schon die Tatsache, daß bei diesem Versuche fast alle Samen ziemlich lange Wurzeln getrieben haben, läßt auf Sauerstoffaufnahme seitens derselben schließen.

25 ccm Lösung wurden nach Kjeldahl verbrannt. Die Stickstoffbestimmung ergab in ihnen nur 0.21 mg, was, auf die ganze Lösung ungerechnet, 1.26 mg ergibt.

Angesichts dieser sehr kleinen Stickstoffmenge in der Lösung war an die Bestimmung einzelner Formen der Stickstoffverbindungen in dieser Lösung nicht zu denken. Der Rückstand von der Alkoholbestimmung wurde also einfach im ganzen verbrannt und ergab 0.92 mg Stickstoff, was, auf die ganze Lösung ungerechnet, 1.38 mg ergab. Beide Bestimmungen stimmten demnach ganz gut untereinander. Das Samenpulver wurde wie gewöhnlich 6 Stunden

lang mit 250 ccm Wasser bei etwa 80° C. digeriert und in üblicher Weise analysiert. Die Resultate dieser Analyse sind in Tabelle XXVIII zusammengestellt.

TABELLE XXVIII.

	Stickstoff in mg	in % der Trocken- substanz der entschälten Samen	in % des Gesamtstick- stoffs
N der ungelösten Eiweißstoffe	187·39	5·430	70·76
„ „ gelösten „	45·97	1·332	17·37
„ „ Peptone u. der organi- schen Basen	12·83	0·372	4·84
„ des Ammoniaks	0·70	0·020	0·26
„ der Aminosäureamide . . .	5·60	0·162	2·11
„ „ Aminosäuren u. sonsti- ger Verbindungen	12·35 ¹⁾	0·358	4·66
	264·84	7·674	100·00
„ der Samenschalen	4·20		
	269·04		

Kontrolle:

Gesamtstickstoff des Samenauszeuges:

nach unmittelbarer Bestimmung in 50 ccm 83·60 mg
nach der Summierung der Einzelbestimmungen 76·07 „
Differenz — 7·53 mg

Die Kontrolle ist diesmal wenig befriedigend ausgefallen, deswegen dürfen die Resultate dieses Versuches nur mit Vorbehalt für Schlußfolgerungen verwendet werden.

Versuch XII.

Am 30. März 1905 wurden zwei Apparate *A* und *B* mit kreisförmigen Scheiben aus Fließpapier am Boden und je 10 ccm Wasser

¹⁾ Im Samenauszuge fand man 10·97 mg Stickstoff, dazu addierte man aber den ganzen in der Lösung gefundenen Stickstoff, welcher 1·38 mg betrug, in der Annahme, daß derselbe jedenfalls vorwiegend den ausgelaugten Aminosäuren angehörte.

im Autoklave sterilisiert und mit je 30 Samen beschickt. Die Samen des Apparates *A* wogen 5·669 g = 5·195 g Trockensubstanz der ganzen und 3·926 g der entschälten Samen. Die Samen des Apparates *B* wogen 5·555 g = 5·091 g Trockensubstanz der ganzen und 3·918 g der entschälten Samen. Die Apparate wurden zunächst in geneigter Lage stehen gelassen, um die Samen in Wasser getaucht zu halten; erst nachdem sie 24 Stunden lang gequollen hatten, wurden sie auf den Fließpapierscheiben ausgebreitet und, um sie zur Keimung zu bringen, drei Tage lang an der Luft gehalten. Nachdem binnen drei Tagen die meisten Samen 1 bis 2 cm lange Wurzeln getrieben hatten, wurden die Keimlinge aus dem Apparate *A* herausgenommen und sofort analysiert, die im Apparate *B* mit etwa 70 ccm sterilisiertem Wasser übergossen. Dieser Apparat wurde dann evakuiert und nach dem Abschmelzen des Ableitungsröhres bis zum 17. April, also noch weitere 14 Tage, stehen gelassen. Während dieser Zeit wurde der Gang der intramolekularen Atmung der Keimlinge beobachtet. Am 17. April wurde der Apparat *B* geöffnet und sein Inhalt analysiert.

Der Gang der Kohlensäurebildung im Apparate *B* ist aus folgender Tabelle ersichtlich.

TABELLE XXIX.

	T.	Gesamtmenge von CO ₂ , seit der Evakuierung des Apparates von den Keimlingen ausge- schieden	CO ₂ , pro 1 g Samen in 24 Stunden von den Keimlingen ausgeschieden
4. April	16·6	16·70	3·008
5. "	16·8	28·80	2·178
6. "	16·2	42·73	2·507
8. "	16·6	54·56	2·130
10. "	17·3	64·96	2·003
12. "	17·9	70·81	0·535
14. "	15·7	76·91	0·550
16. "	17·7	81·50	0·413
17. "	16·3	82·55	0·302

Analyse des Inhaltes des Apparates B.

Gewicht der Lösung samt den gequollenen Samen . . .	97.58 g
gequollene Samen	17.16 „
abgegosene Lösung	80.42 g
getrocknete Samen	4.17 „
Lösung in den Samen	12.99 g

Die abgegosene Lösung wurde samt dem Fließpapier in eine Meßkolbe von 150 ccm Inhalt gebracht, bis auf die Marke aufgefüllt, durchgemischt und von den Papierföckchen abfiltriert. Da das Volumen des Fließpapiers sich aus dem Gewichte auf 1.3 ccm berechnete, so enthielt die Meßkolbe eigentlich nur 148.7 ccm Lösung.

Zur Analyse wurden von der abfiltrierten Lösung 128.55 g verwendet und die Resultate auf 148.7 g umgerechnet. Für die Alkoholbestimmung wurden aus dieser Lösung nach doppelter Destillation 49.207 g Destillat von 0.999603 s. G. = 0.2095% Alkohol erhalten. Daraus berechnet sich die Alkoholmenge auf 0.1031 g für 128.55 g und auf 0.1192 g für 148.7 g Lösung. Nach Berücksichtigung der Quellflüssigkeit ergeben sich für den ganzen Kolbeninhalt 0.1388 g Alkohol.

$$88.25 \text{ ccm CO}_2 = 0.1623 \text{ g.}$$

$$\text{Demnach CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_6\text{O} = 0.1623 : 0.1388 = 100 : 85.3.$$

Die Analyse der Lösung und der Samen in bezug auf verschiedene Formen der Stickstoffverbindungen ergab folgende, in Tabelle XXX zusammengestellte Resultate:

(Sieh Tab. XXX Seite 679).

Kontrolle, nur in bezug auf Stickstoffgehalt im Extrakte des Samenpulvers ausgeführt, ergab:

Gesamtstickstoff im Extrakte:

nach unmittelbarer Bestimmung in 50 ccm	57.75 mg
„ der Summierung der Einzelbestimmungen	60.63 „
	Differenz + 2.08 mg

Analyse des Inhaltes des Apparates A, d. h. der durch drei Tage an der Luft gehaltenen, gequollenen Samen ergab für ein Frischgewicht der Keimlinge vom 16.786 g:

(Sieh Tab. XXXI Seite 679).

TABELLE XXX.

	in der Lösung mg	im Samenpulver mg	zusammen mg	in % der Trockensubstanz der entschälten Samen	in % des Gesamtstickstoffs
N der ungelösten Eiweißstoffe	—	194·04	194·04	4·952	64·02
„ der gelösten Eiweißstoffe	3·48	32·13	35·61	0·909	11·74
„ der Peptone u. der organischen Basen	9·14	14·00	23·14	0·590	7·63
„ des Ammoniaks	1·62	0·70	2·32	0·059	0·76
„ der Aminosäureamide	6·16	4·80	10·96	0·280	3·62
„ Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	28·09	9·00	37·09	0·946	12·23
	48·49	254·67	303·16	7·736	100·00

TABELLE XXXI.

	Stickstoff		
	in mg	in % der Trockensubstanz der entschälten Samen	in % des Gesamtstickstoffs
N der ungelösten Eiweißstoffe	216·60	5·527	70·42
„ „ gelösten „	42·77	1·091	13·91
„ „ Peptone und der organischen Basen	25·62	0·654	8·33
„ des Ammoniaks	0·81	0·021	0·26
„ der Aminosäureamide	7·42	0·189	2·41
„ „ Aminosäuren u. sonstiger Verbindungen	14·37	0·366	4·67
	307·59	7·848	100·00

Gesamtergebnisse.

Obwohl wir bei der Besprechung einzelner Versuche mit den Samen von *Lupinus luteus* die wichtigsten Resultate derselben be-

reits hervorgehoben haben, so wollen wir noch jetzt nach der Beschreibung der Versuche mit *L. angustifolius* die Gesamtergebnisse aller Versuche im Zusammenhang näher besprechen und hierbei zunächst die Ergebnisse in bezug auf die intramolekulare Atmung und dann diejenigen, welche sich auf anaerobe Eiweißzersetzung beziehen, darstellen.

1. Intramolekulare Atmung.

Schon in meiner früheren Arbeit habe ich nachgewiesen, daß die intramolekulare Atmung der in Wasser unter Luftabschluß liegenden Samen der gelben Lupine viel schwächer als die der Erbsen und Bohnensamen ist und daß die Ursache dieser Erscheinung nicht in dem Mangel an Zymase, sondern im Mangel an geeignetem Atmungsmaterial in den Samen der Lupine zu suchen ist. In der Tat zeigte es sich, daß, wenn wir diese Samen anstatt in Wasser in einer Lösung von Trauben-, Frucht- oder Rohrzucker tauchen ließen, die intramolekulare Atmung um ein Vielfaches stärker wurde. Ganz dasselbe konnte ich auch in vorliegender Arbeit beobachten, und zwar sowohl für die Samen der gelben (Versuch I, II, III in Wasser, Versuch IV in Traubenzuckerlösung) wie auch für die der blauen Lupine (Versuch VIII und IX, Tabelle XXI u. XXIII in Wasser, Versuch X, Tab. XXV in Traubenzuckerlösung). Es zeigte sich nämlich, daß die in Traubenzuckerlösung liegenden Lupinensamen bei Luftabschluß für ein gleiches Gewicht fast ebensoviel Kohlensäure bildeten wie die Erbsensamen.

Neu in der vorliegenden Arbeit ist das Resultat, daß das Ankeimen der Samen auf ihre Befähigung zur intramolekularen Atmung während der ersten Tage ihres Liegens in Wasser stark fördernd wirkt. Auch dieses Resultat bezieht sich sowohl auf die Samen der gelben (Vers. V Tab. XII, Vers. VI Tab. XIV) wie der blauen (Vers. XII Tab. XXIX) Lupine. So bildeten während der vier ersten Tage die gekeimten Samen in Wasser fast ebensoviel Kohlensäure wie die ungekeimten in Glukoselösung. Diese Verstärkung der intramolekularen Atmung der in Wasser liegenden angekeimten Samen ist, wie wir es bereits bei Besprechung des Versuches VI angedeutet haben, nicht eine Folge etwaiger Neubildung von Zymase bei der Keimung, sondern sie ist einfach durch Vermehrung des geeigneten Atmungsmaterials durch Hydrolyse der

Reservestoffe der Samen bei der Keimung bedingt. Daß die Menge der Gärungsenzyme (Zymase) bei der Keimung nicht zunimmt, folgt daraus, daß in Glukoselösung die gekeimten und die ungekeimten Samen gleich stark intramolekular atmen (Versuch IV, Tab. IX). Dieses Resultat wurde zwar nur für die Samen der gelben Lupine konstatiert, es ist aber kaum zu zweifeln, daß dasselbe auch für die Samen der blauen Lupine, mit denen man keine solchen vergleichenden Versuche in Glukoselösung anstellte, zutrifft.

Daß die Beschleunigung der intramolekularen Atmung durch Ankeimen der Samen nur eine Folge der Aktivierung ihrer Reservestoffe durch deren Hydrolyse ist, folgt auch daraus, daß sie nur eine kurzdauernde ist. Schon am 7. Tage sank z. B. die intramolekulare Atmung der Keimlinge der gelben Lupine in Wasser auf $\frac{1}{3}$ der ursprünglichen (pro 24 St. und 1 g 2·52 ccm CO₂ am ersten Tage und 0·86 ccm am siebenten Tage) (Vers. IV, Tab. XII), während sie in Glukoselösung noch nach drei Wochen nur wenig schwächer war als am Anfange des Versuches (Vers. IV, Tab. IX). Ebenso sank am 9. Tage des Versuches die intramolekulare Atmung der in Wasser liegenden Keimlinge von *Lupinus angustifolius* mehr als auf $\frac{1}{3}$ der ursprünglichen Größe. Pro 24 Stunden und 1 g Samen betrug die Kohlensäurebildung der Keimlinge in drei ersten Tagen durchschnittlich 2·56 ccm, am 8. und 9. Tage durchschnittlich nur 0·53 ccm (Vers. XII, Tab. XXIX). In Glukoselösung schieden die ungekeimten Samen der blauen Lupine noch nach drei Wochen Kohlensäuremengen aus, welche etwa 2 ccm pro 24 St. und 1 g Samen betrug. Es ist klar, daß die Ursache dieser kurzen Dauer der durch Ankeimen der Samen bewirkten Verstärkung der intramolekularen Atmung der Keimlinge in Wasser in der baldigen Erschöpfung des bei dem Keimungsprozesse durch Hydrolyse aktivierten Atmungsmaterials liegt.

Aus dem Gesagten ist ersichtlich, daß die Befähigung der Samen — wir dürfen sogar sagen: der Pflanzenorgane — zur intramolekularen Atmung, respekt. zur alkoholischen Gärung, einerseits von dem Gehalte der betreffenden Organe an entsprechenden Atmungsenzymen (gegebenen Falls Zymase), andererseits von dem disponiblen geeigneten Atmungsmaterial abhängen muß. Zur Veranschaulichung dieser doppelten Abhängigkeit durch Zahlenmaterial möge folgende Zusammenstellung von Zahlen dienen, die ich teils der vorliegenden, teils meinen früheren Arbeiten entnehme.

In den ersten 10 Tagen des Liegens der entsprechenden Samen in Wasser, respekt. in Glukoselösung wurden von 1 g Samen folgende Kohlensäuremengen ausgeschieden:

TABELLE XXXII.

	Temp.	in Wasser ccm CO ₂	in Glukose- lösung ccm CO ₂
<i>Pisum sativum</i>	17—19	33·6	41·8
" "	23—25	44·2	54·8
<i>Vicia Faba</i>	22—26	27·7	—
<i>Lupinus luteus</i> (Versuch II) . .	16—19	11·8	—
" " (Versuch IV) . .	21—22	6·5	42·2
" " gekeimt	16—18	13·4	31·8
<i>Lupinus angustifolius</i>	16—19	7·8	33·4
" " gekeimt	16—18	13·3	—
<i>Hordeum vulgare</i>	19—20	8·0	—
<i>Ricinus communis</i>	17—20	1·0	2·9

Wir sehen aus der Tabelle, daß die intramolekulare Atmung in Wasser sich am stärksten bei der Erbse äußerte. Als Gärmaterial dient hier natürlich die Stärke, welche in derselben reichlich enthalten ist. Die intensive intramolekulare Atmung läßt auf einen reichen Gehalt an Zymase schließen. *Vicia Faba* enthält ebenso reichlich Stärke wie die Erbse, atmet aber schon etwas schwächer, ist also wahrscheinlich schon etwas ärmer an Zymase als die Erbse. Die Gerste ist an Stärke noch reicher als die Erbse und doch gärt sie viermal schwächer als diese, demnach muß sie an Zymase bedeutend ärmer sein als die Erbse. Die Samen der Lupine, sowohl die der gelben auch die der blauen gären in Glukoselösung fast ebenso stark wie die Erbsensamen, in Wasser aber ganz schwach. Daraus ist zu schließen, daß sie an Zymase fast ebenso reich sind wie die Erbsensamen, gären aber in Wasser nur schwach aus Mangel an entsprechendem Atmungsmaterial, da ja, wie bekannt, die Lupinensamen an Kohlehydraten ganz arm sind. Werden diese Kohlehydrate beim Ankeimen der Samen hydrolysiert, so wird auch die intramolekulare Atmung bedeutend verstärkt, jedoch nicht in so

hohem Grade und nicht für so lange wie durch unmittelbare Zuführung von Glykose, da ja wegen der Armut der Lupinensamen an Kohlehydraten auch ihre Hydrolyse kein ausgiebiges, für längere Zeit ausreichendes Atmungsmaterial liefern kann.

Die Ricinussamen bilden beim Sauerstoffabschluß sowohl in Wasser als auch in Glukoselösung nur sehr geringe Mengen von CO_2 , woraus folgt, daß es ihnen nicht nur an Gärmaterial, sondern auch an Gärungsenzymen fehlt.

Was nun das Verhältnis von $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ anbetrifft, so wurde dasselbe auch in den vorliegenden Untersuchungen meistens, wenn auch nicht immer, genau der Gleichung der alkoholischen Gärung entsprechend gefunden.

Es mögen die betreffenden Zahlen hier nochmal wiedergegeben werden:

TABELLE XXXIII.

	CO_2 ausge- scheiden, mg	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ gebildet, mg	$\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_6\text{O}$
Gelbe Lupine:			
Versuch I, ungekeimte Samen in Wasser . .	74·6	53·9	100 : 72·6
" I, " " " Glukoselösung	655·5	692·4	100 : 105·6
" II, " " " Wasser . .	235·9	175·0	100 : 74·2
" IV, " " " Glukoselösung	352·3	352·2	100 : 100·0
" IV, gekeimte " " "	346·1	281·5	100 : 81·3
" V, " " " Wasser . .	126·8	116·0	100 : 91·5
" VI, " " " " "	128·0	163·0	100 : 127·0
Blaue Lupine:			
Versuch XI, ungekeimt, in Wasser	174·3	174·4	100 : 100
" X, " " " Glukoselösung . .	658·5	663·6	100 : 100·7
" XII, gekeimt " " " " "	162·3	138·8	100 : 85·3

Aus dieser Zusammenstellung sehen wir, daß mit einer einzigen Ausnahme (Versuch IV, gekeimte Samen) sämtliche Versuche, bei denen die Samen in Glukoselösung lagen, ein Verhältnis von $\text{CO}_2 : \text{C}_2\text{H}_6\text{O}$

ergaben, welches fast genau der Gleichung der alkoholischen Gärung entspricht; dagegen war dieses Verhältnis bei den in Wasser liegenden Samen ziemlich schwankend und meistens war die Alkoholmenge etwas kleiner als nach der Gleichung der alkoholischen Lösung erwartet werden sollte.

Es gibt bekanntlich in der Literatur bereits mehrere Angaben, nach welchen man bei der intramolekularen Atmung bedeutend weniger Alkohol gefunden hat, als man nach der Menge der ausgeschiedenen CO_2 erwarten konnte. So fand z. B. Nabokich¹⁾ ein Verhältnis $\text{CO}_2:\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ bei der intramolekularen Atmung der Ricinussamen in verschiedenen Lösungen, welches zwischen 100:86·9 und 100:51·0 schwankte, und im Mittel aus 10 Versuchen war dieses Verhältnis = 100:71·6.

Palladin fand dieses Verhältnis für die intramolekulare Atmung etiolierter Blätter der Pferdebohne bei fünfständiger Versuchsdauer = 100:54·1 und bei 30-stündiger = 100:26·5. Für die letzten 25 Stunden dieses letzten Versuches* berechnet sich dieses Verhältnis darnach zu 100:4·3. Man muß unbedingt zugeben, daß diese weitgehenden Abweichungen des Verhältnisses von $\text{CO}_2:\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ bei der intramolekularen Atmung einiger Pflanzenorgane von der Gleichung der alkoholischen Gärung mit Sicherheit darauf schließen läßt, daß die intramolekulare Atmung nicht einzig und allein auf die alkoholische Gärung zurückzuführen ist, ja der letztgenannte Versuch von Palladin mit etiolierten Blättern der Pferdebohne beweist sogar, daß es Fälle gibt, wo die intramolekulare Atmung überhaupt ohne Alkoholbildung sich abspielt.

Ein ganz prägnantes Beispiel einer intramolekularen Atmung ohne Alkoholbildung hat Kostytschew²⁾ bei *Agaricus campestris* gefunden. 700 g dieses Pilzes schieden während 24 Stunden im Wasserstoffstrome 1·563 g CO_2 , ohne auch eine Spur Alkohol zu bilden. Von Wichtigkeit ist auch der von Kostytschew³⁾ erbrachte Nachweis, daß die intramolekulare Atmung der Schimmelpilze durchaus nicht an die Anwesenheit von Zucker als Gär-

1) Nabokich, Über intramolekulare Atmung der höheren Pflanzen, Ber. der deutsch. Bot. Ges., B. XXI, 1903.

2) Kostytschew, Über anaerobe Atmung ohne Alkoholbildung, Berichte der deut. bot. Ges., B. XXV, 1907, XXVI, 1908.

3) Kostytschew, Über die normale und anaerobe Atmung bei Abwesenheit von Zucker, Jahrb. f. wissensch. Botanik, B. XL, S. 563—592.

material gebunden ist, sondern daß sie auch auf Kosten anderer, nicht gärunsfähiger Substanzen, wie Pepton, Chinasäure, Weinsäure, vor sich gehen kann.

Aus diesen, wie auch aus anderen von Kostytschew und von Palladin ausgeführten Versuchen, namentlich aus den Versuchen mit erfrorenem Material, schließen die genannten Autoren, daß es nicht angeht, intramolekulare Gärung mit Alkoholgärung zu identifizieren. Dieser Schluß ist in seiner allgemeinen Fassung unbedingt richtig, wenn auch insofern nicht neu, als ja längst bekannt ist, daß es außer der alkoholischen Gärung eine ganze Reihe anderer, auch mit Kohlensäurebildung verbundener Gärungen gibt. Diese Gärungen werden bekanntlich von verschiedenen anaeroben Mikroorganismen hervorgerufen und haben für ihr Leben dieselbe physiologische Bedeutung wie die alkoholische Gärung für die Hefe. Diese Gärungen müssen demnach selbstverständlich als anaerobe, respekt. intramolekulare Atmung der betreffenden Mikroorganismen angesehen werden. Also schon die Existenz verschiedener, keine alkoholische Gärung erregender, anaerober Mikroorganismen bezeugt, daß nicht jede intramolekulare Atmung eine alkoholische Gärung ist. Ein großes Verdienst von Kostytschew und Palladin ist der Nachweis, daß auch die intramolekulare Atmung der aeroben Organismen, sogar mancher höherer Pflanzen, wenn sie dem Sauerstoffzutritt entzogen werden, nicht immer durch alkoholische Gärung bedingt wird.

Wenn aber die Autoren zwischen der alkoholischen Gärung und der eigentlichen, wie sie sagen, typischen intramolekularen Atmung einen Unterschied annehmen, so kann ich ihnen hierin nicht beistimmen. Als typische intramolekulare Atmung bezeichnen die genannten Autoren diejenige, welche bei Luftabschluß ohne Alkoholbildung vor sich geht, also z. B. die intramolekulare Atmung der Schimmelpilze bei Abwesenheit von Zucker oder die der etiolierten Blätter der Pferdebohne. Es ist mir durchaus nicht klar, warum eben speziell diese intramolekulare Atmung ohne Alkoholbildung als typisch gelten sollte. Eine solche Bezeichnung erscheint mir um so weniger berechtigt, als wir ja über den Chemismus dieser als typisch bezeichneten intramolekularen Atmung so gut wie gar nichts wissen und da es nicht nur nicht bewiesen, sondern vielmehr sogar nicht wahrscheinlich ist, daß sie immer in gleicher Weise verläuft; im Gegenteil es ist wohl kaum daran zu zweifeln,

daß je nach dem anaerob veratmeten Material, je nach der Natur der atmenden Zelle, die sich neben der Kohlensäure bei dieser anaeroben Atmung bildenden Produkte verschieden sein können und also auch diese als typisch bezeichnete intramolekulare Atmung nicht immer in gleicher Weise verläuft.

Meiner Meinung nach liegt kein guter Grund dafür vor, um zwischen einer typischen und einer weniger typischen intramolekularen Atmung zu unterscheiden.

Jeder Stoffwechselprozeß, welcher sich ohne Beteiligung des Sauerstoffs unter Abspaltung von Kohlensäure und Freiwerden einer gewissen Menge Energie abspielt, muß als intramolekulare Atmung bezeichnet werden. Ob bei diesem Prozesse Glukose, Pepton, China- oder Weinsäure oder irgend eine andere organische Substanz der Zersetzung anheimfällt, ob sich dabei neben Kohlensäure auch Alkohol, Butter, respekt. eine andere Fettsäure oder irgend eine andere an Sauerstoff ärmere als die sich zersetzende Verbindung bildet, ist für den Begriff der intramolekularen Atmung belanglos. Die alkoholische Gärung ist die meist verbreitete Form der intramolekularen Atmung, aber andere Formen derselben sind ja bei den anaeroben Organismen (auch bei Tieren) schon längst bekannt, und nur in bezug auf aerobe Pflanzen konnte man bis auf die Arbeiten von Kostytschew und Palladin vermuten, daß intramolekulare Atmung immer auf alkoholischer Gärung beruht; dank diesen wichtigen Arbeiten wissen wir jetzt, daß dies nicht der Fall ist, und dürfen jetzt annehmen, daß auch bei diesen Pflanzen die intramolekulare Atmung in verschiedener Weise verlaufen kann.

Unter Voraussetzung des genetischen Zusammenhanges der intramolekularen mit der normalen Atmung habe ich schon in meinen früheren Arbeiten auf Grund dessen, daß das Verhältnis I/N (intramolekulare Atmung zu der normalen) bei verschiedenen Pflanzenobjekten ein verschiedenes ist, den Schluß gezogen, daß der Verlauf des Atmungsprozesses unmöglich überall ein gleicher sein kann. Es war mir damals unbekannt, daß auch das erste Atmungsstadium, d. h. die intramolekulare Atmung sogar bei höheren Pflanzen nicht immer mit der alkoholischen Gärung identisch ist. Jetzt, wo auch in bezug auf intramolekulare Atmung Verschiedenheiten sogar bei höheren Pflanzen nachgewiesen worden sind, müssen umsomehr die Kompliziertheit und die weitgehenden Differenzen in

dem Verlaufe des Atmungsprozesses verschiedener Pflanzenzellen betont werden.

2. Anaerobe Eiweißzersetzung.

Bevor wir die Resultate unserer Versuche in bezug auf Eiweißzersetzung näher besprechen, wollen wir noch das gesamte Zahlenmaterial aus den Versuchen mit der gelben und der blauen Lupine übersichtlich in einer Tabelle zusammenstellen. In dieser Zusammenstellung sind die Analysen, welche bei der Kontrolle weniger befriedigende Übereinstimmung ergaben, mit einem ? bezeichnet.

(Vgl. Tab. XXXIV S. 688).

Durch den Vergleich der in dieser Tabelle zusammengestellten Zahlen für das Versuchsmaterial mit den entsprechenden Zahlen des Ausgangsmaterials können wir die Abnahme der der Zersetzung anheimfallenden und die Zunahme der bei dieser Zersetzung sich bildenden Stickstoffverbindungen berechnen. Die berechneten Zahlen für die Ab-, respekt. Zunahme einzelner Stickstoffverbindungen sind in folgender Tabelle zusammengestellt, wobei die Abnahmen mit dem Zeichen —, die Zunahmen mit dem Zeichen + versehen sind

(Vgl. Tab. XXXV S. 689).

Überblicken wir nun die Zahlen dieser Tabelle, so sehen wir zunächst, daß in allen Versuchen ohne Ausnahme beim aseptischen Liegen der Samen der gelben oder der blauen Lupine in Wasser oder Glykoselösung die durch $\text{Cu}(\text{OH})_2$ fällbaren Eiweißstoffe eine Abnahme in denselben erfahren haben, also der Zersetzung erlagen. Diese Zersetzung war umso ausgiebiger, je länger der Versuch dauerte. Auch bei 261-tägiger Dauer des Versuches war dieser Zersetzungsprozeß noch nicht abgeschlossen, da bei 570-tägiger Versuchsdauer die Eiweißzersetzung noch um 10% (des Gesamtstickstoffs) größer gefunden wurde als bei 261-tägiger. Aus dieser außerordentlich langen Dauer der anaeroben Eiweißzersetzung und aus ihrer vollständigen Unabhängigkeit von der intramolekularen Atmung und sogar von dem Leben der Samen haben wir schon bei der Besprechung der einzelnen Versuche mit den Samen der gelben Lupine den Schluß gezogen, daß diese anaerobe Eiweißzersetzung in den in Wasser oder in Glukoselösung liegenden Samen einen rein enzymatischen Charakter trägt.

TABELLE XXXIV.

Stickstoff einzelner Verbindungen in % des Gesamtstickstoffs. — Versuche mit *Lupinus luteus*.

	Ausgangsmaterial	Versuche mit ungekeimten Samen							mit gekeimten Samen		
		in Glukoselös.		in Wasser			in Zitronensäure- lösung	in Glukose- lösung	in Wasser		
		Versuch IV A 23 Tage	Versuch IA 185 Tage	Versuch II 144 Tage	Versuch IB 190 Tage	Vers. VII A? 261 Tage	Versuch III 570 Tage	Versuch VII B 261 Tage	Versuch IV B 3 T. Luft, 20 Tage ohne O ₂	Versuch V 3 T. Luft, 20 Tage ohne O ₂	Versuch VI 3 T. Luft, 80 Tage ohne O ₂
N der mit Cu(OH ₂) fällbaren Eiweißstoffe	85·95	81·82	65·69	66·34	62·21	57·04	47·03	56·78	78·69	68·37	65·0
„ des CuS-Niederschlag	3·04	3·62							3·22	4·43?	1·87
„ des Phosphorwolframsäureniederschlag mit Ausschluß von Ammoniak	6·82	5·39	4·80	4·35	5·16	5·61	6·06	9·54	5·15		5·06
„ des Ammoniaks	3·78	1·77							1·93	4·67	3·14
„ der Aminosäureamide	0·33	0·54	0·82	1·17	1·70	2·05	5·43	2·29	0·78	1·67	1·42
„ der Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	2·47	2·29	7·07	6·49	6·17	4·22	7·79	5·72	2·88	3·01	4·30
„ der Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	4·43	9·96	21·62	21·65	24·76	30·05	30·32	25·67	12·50	17·35	24·27

Versuche mit *Lupinus angustifolius*.

	Ausgangsmaterial	Ungekeimte Samen				Gekeimte Samen	
		in Glukoselösung		in Wasser		Versuch XII.	
		Versuch XI? 10 Tage Apparat nicht evakuiert	Versuch X 28 Tage	Versuch VIII 12 Tage	Versuch IX 51 Tage	A 3 Tage an der Luft	B. 3 T. and Luft, 14 T. ohne O ₂
N der Eiweißstoffe	88·15	88·13	83·97	88·03	78·09	84·34	75·76
„ der Peptone u. d. org. Basen	8·82	4·84	6·75	5·75	6·13	8·33	7·63
„ des Ammoniaks	0·19	0·26	0·37	0·14	0·71	0·26	0·76
„ der Aminosäureamide	0·82	2·11	2·24	1·16	2·62	2·41	3·62
„ der Aminosäuren u. sonstiger Verbindungen	2·01	4·66	6·62	4·92	12·45	4·67	12·23

E. Godlewski (sen.):

688

TABELLE XXXV.

Ab- und Zunahme einzelner Stickstoffformen im Versuchsmaterial in % des Gesamtstickstoffs. — Versuche mit *Lupinus luteus*.

	Ungekeimte Samen						Gekeimte Samen				
	in Glukoselösung		in Wasser				in Zitron- säurelösung	in Gluko- selösung		in Wasser	
	Versuch IV A 23 Tage	Versuch I A 165 Tage	Versuch II 144 Tage	Versuch I B 190 Tage	Versuch VII? 261 Tage	Versuch III 570 Tage	Versuch VII B 261 Tage	Versuch IV B 3 T. Luft, 20 T. ohne O ₂	Versuch V 3 T. Luft, 20 T. ohne O ₂	Versuch VI 3 T. Luft, 80 T. ohne O ₂	
N der mit Cu(OH) ₂ fällbaren Eiweißstoffe	- 4.13	- 20.26	- 19.61	- 23.75	- 28.91	- 38.92	- 29.17	- 7.26	- 13.48	- 20.95	
„ der mit CuS und Phosphorwolframsäure fällbaren Verbindungen	- 1.43	- 2.07	- 2.47	- 1.66	- 1.21	+ 2.23	+ 2.72	- 1.67	?	- 1.81	
„ des Ammoniaks	+ 0.21	+ 0.49	+ 0.84	+ 1.37	+ 1.72	+ 5.10	+ 1.96	+ 0.45	+ 1.34	+ 1.09	
„ der Aminosäureamide	- 0.22	+ 4.60	+ 4.02	+ 3.70	+ 1.75	+ 5.32	+ 3.25	+ 0.41	+ 0.54	+ 1.83	
„ der Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	+ 5.83	+ 17.19	+ 17.22	+ 20.33	+ 25.62	+ 25.89	+ 21.24	+ 8.07	+ 12.92	+ 19.84	

Versuche mit *Lupinus angustifolius*.

	Ungekeimte Samen				Gekeimte Samen		
	in Glukoselösung		in Wasser		in Wasser		
	Versuch XI 10 Tage, Apparat nicht evakuiert	Versuch X 28 Tage	Versuch VIII 12 Tage	Versuch IX 51 Tage	Versuch XII A 3 Tage an der Luft	Vers. XII B 3 T. an d. Luft, 14 T. ohne O ₂ m. Ausgangs- material vergl. mit XII A verglichen	
N der mit Cu(OH) ₂ fällbaren Eiweißstoffe	- 0.02	- 4.18	- 0.12	- 10.06	- 3.81	- 12.39	- 9.58
„ der Peptone u. d. org. Basen	- 3.98	- 2.07	- 3.07	- 2.69	- 0.49	- 1.19	- 0.70
„ des Ammoniaks	+ 0.07	+ 0.18	- 0.05	+ 0.52	+ 0.07	+ 0.57	+ 0.50
„ der Aminosäureamide	+ 1.09	+ 1.47	+ 0.34	+ 1.80	+ 1.59	+ 2.82	+ 1.21
„ der Aminosäuren u. sonstiger Verbindungen	+ 2.65	+ 4.61	+ 2.91	+ 10.44	+ 2.66	+ 10.22	+ 7.56

Außer den wirklichen Eiweißstoffen wurde auch überall mit Ausnahme der Versuche III und VII B eine Abnahme der mit Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen mit Ausschluß des Ammoniaks konstatiert. Es ist anzunehmen, daß diese Verbindungen aus Peptonen und organischen Basen bestehen. Bei der Hydrolyse der Eiweißstoffe entstehen bekanntlich neben Aminosäuren auch die Hexonbasen, man dürfte demnach eine Zunahme derselben, folglich auch der mit Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen bei der Eiweißzersetzung erwarten. Eine solche Zunahme wurde aber nur in zwei Versuchen beobachtet: in dem Versuche III, welcher sehr lange, nämlich 570 Tage dauerte, und bei dem Versuche VII B, wo die Eiweißzersetzung bei Anwesenheit von Zitronensäure vor sich ging; in allen übrigen Versuchen fand eine Abnahme der mit Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen statt. Es ist mit größter Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß diese Abnahme auf die Zersetzung der in den Samen vorhandenen, mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$ nicht fällbaren Albumosen und Peptone zurückzuführen ist.

Bei Versuchen, welche nur 10 bis 12 Tage dauerten (Vers. VIII, XI), war die Abnahme der eigentlichen mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$ fällbaren Eiweißstoffe eine nur minimale (0·02%, 0·12%); eine deutliche Abnahme von 3% bis 4% erfuhren hier dagegen die mit Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen. Erst bei einer längeren Versuchsdauer trat die Zersetzung der eigentlichen Eiweißstoffe ein. Demnach ist anzunehmen, daß bei der Anaerobiose zunächst nur Albumosen und Peptone und erst viel später die eigentlichen Eiweißstoffe der Hydrolyse erliegen. Anders verhält es sich bei Sauerstoffzutritt. Im Versuche XII A, wo die gequollenen Samen der blauen Lupine 3 Tage lang an der Luft lagen und gekeimt haben, nahmen die eigentlichen Eiweißstoffe um 3·81%, die vermutlichen Peptone nur um 0·49% ab.

Diese Resultate stimmen ganz gut zu den oben besprochenen Ansichten von Vines über die proteolytischen Enzyme der Samen. Nach Vines enthalten die meisten ruhenden Samen reichlich nur Ereptase, das peptonisierende Enzym (Pepsin) nur in Spuren. Dieses letztere bildet sich aber rasch während des Keimungsprozesses. Liegen die ruhenden Samen in Wasser bei Luftabschluß, so wirkt zunächst energischer nur die Ereptase und bewirkt die Hydrolyse der in den Samen fertig gebildeten Albumosen und

Peptone, die komplizierteren Eiweißstoffe erliegen erst später der Zersetzung, nachdem sie nach und nach durch das in den Samen spärlich vorhandene Pepsin zu Albumosen umgewandelt wurden. Sind aber die Samen der Luft ausgesetzt, so bildet sich schon am Beginn der Keimung das Pepsin in größerer Menge und hydrolysiert die komplizierteren Eiweißstoffe zu Albumosen und Peptonen, wodurch die Abnahme der letzteren weniger bemerkbar wird (Versuch XII A). Auch die Tatsache, daß bei anaerobem Liegen in Wasser oder in Glukoselösung die Eiweißzersetzung in den gekeimten Samen bedeutend schneller verläuft als in den ungekeimten (Vers. XII B verglichen mit VIII, IX und X), läßt sich im Sinne Vines' auf ihren größeren Gehalt an Pepsin, welches sich während der Keimung gebildet hat, zurückführen.

Zeitlicher Verlauf der Eiweißzersetzung.

Wenn wir nun zur näheren Betrachtung der Abhängigkeit der anaeroben Eiweißzersetzung in den ungekeimten und gekeimten Samen von der Zeitdauer des Versuches übergehen, so wollen wir damit beginnen, in einer gemeinsamen Tabelle XXXVI eine Zusammenstellung aller unserer Versuche, auch der im J. 1904 publizierten zu geben. In dieser Zusammenstellung sind einerseits die Zeitdauer der betreffenden Versuche in Tagen, anderseits die Mengen der zersetzten Eiweißstoffe in % der ursprünglich vorhandenen angegeben.

Als Maßstab für die Menge der zersetzten Eiweißstoffe wurde nicht die Abnahme des mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$ fällbaren Eiweißstickstoffs, sondern die Zunahme des Stickstoffs der mit Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Verbindungen und des Ammoniaks angenommen. Dieses Maß schien mir richtiger zu sein als die Abnahme des Eiweißstickstoffs, weil es auch die Zersetzung der Albumosen und Peptone, welche mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$ nicht gefällt werden, mit umfaßt, und wir sahen, daß diese Verbindungen zuerst und bei kurzdauernden Versuchen fast allein zersetzt werden. Es muß bemerkt werden, daß die angegebenen Zahlen nicht den gesamten Stickstoff der zersetzten Eiweißstoffe ausdrücken, da ja die Hexonbasen, welche sich bei der Eiweißzersetzung auch bilden, mit Phosphorwolframsäure gefällt werden und also die betreffenden Zahlen um den Stickstoff dieser neugebildeten Hexonbasen kleiner als der Gesamtstickstoff der zersetzten Eiweißstoffe sind; da nun aber, wie unsere Ta-

belle XXXIV zeigt, die Menge der mit Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen mit Ausschluß des Ammoniaks in dem Versuchsmaterial meist sehr gering, und zwar kleiner als im Ausgangsmaterial war, so kann der von der Nichtberücksichtigung des Stickstoffs der gebildeten organischen Basen stammende Fehler nicht groß sein. Nur bei den Versuchen III und VII B, in welchen eine deutliche Zunahme an mit Phosphorwolframsäure fällbarem Stickstoff beobachtet wurde, mußte sie berücksichtigt werden, was auf diese Weise geschah, daß man zu den betreffenden Zahlen noch die Zunahme an mit Phosphorwolframsäuren fällbarem Stickstoff addierte und erst diese Summe als Maßstab für die Eiweißzersetzung in die Tabelle XXXVI aufnahm. Die Zahlen, welche sich auf Zunahme an mit Phosphorwolframsäure nicht fällbarem Stickstoff + Ammoniak beziehen, sind für diese zwei Versuche daneben in () angegeben. In der dritten Kolonne der Tabelle sind die Quotienten x/t und in der vierten x/\sqrt{t} angegeben, wo x die in der zweiten Kolonne zusammengestellten Zahlen für Eiweißzersetzung, t die Dauer der Versuche in Tagen bedeutet.

(Vgl. Tab. XXXVI Seite 694).

Zwecks leichterer Orientierung wurden auf Grund der in Tabelle XXXVI zusammengestellten Zahlen drei Kurven gezeichnet, bei welchen als Abszissen die Versuchsdauer in Tagen, als Ordinaten die Prozente der zersetzten Eiweißstoffe eingetragen sind. Die mittlere Kurve II bezieht sich auf ungekeimte Samen in Wasser, die unterste I auf ungekeimte in Lösungen verschiedener Zuckerarten und die oberste auf gekeimte Samen in Wasser. Schon die Lage dieser Kurven übereinander ohne irgend welche Kreuzung zeigt, was wir schon oben hervorgehoben haben, daß die Verabreichung irgend einer Zuckerart, sei es an ungekeimte oder an gekeimte Samen, die Eiweißzersetzung in denselben herabsetzt und daß durch Ankeimen der Samen die anaerobe Eiweißzersetzung in denselben bedeutend gefördert wird.

Die Abhängigkeit der Eiweißspaltung von der Zeitdauer des Versuches wird am deutlichsten und am vollständigsten durch die Kurve II (Samen in Wasser) ausgedrückt. Wir sehen, daß die Kurve anfangs recht steil ansteigt und daß hier ihre mit gestrichener Linie angedeutete Verlängerung die Abszissenachse an der Stelle der Zeit O , d. h. am Beginn des Versuches schneidet. Ein

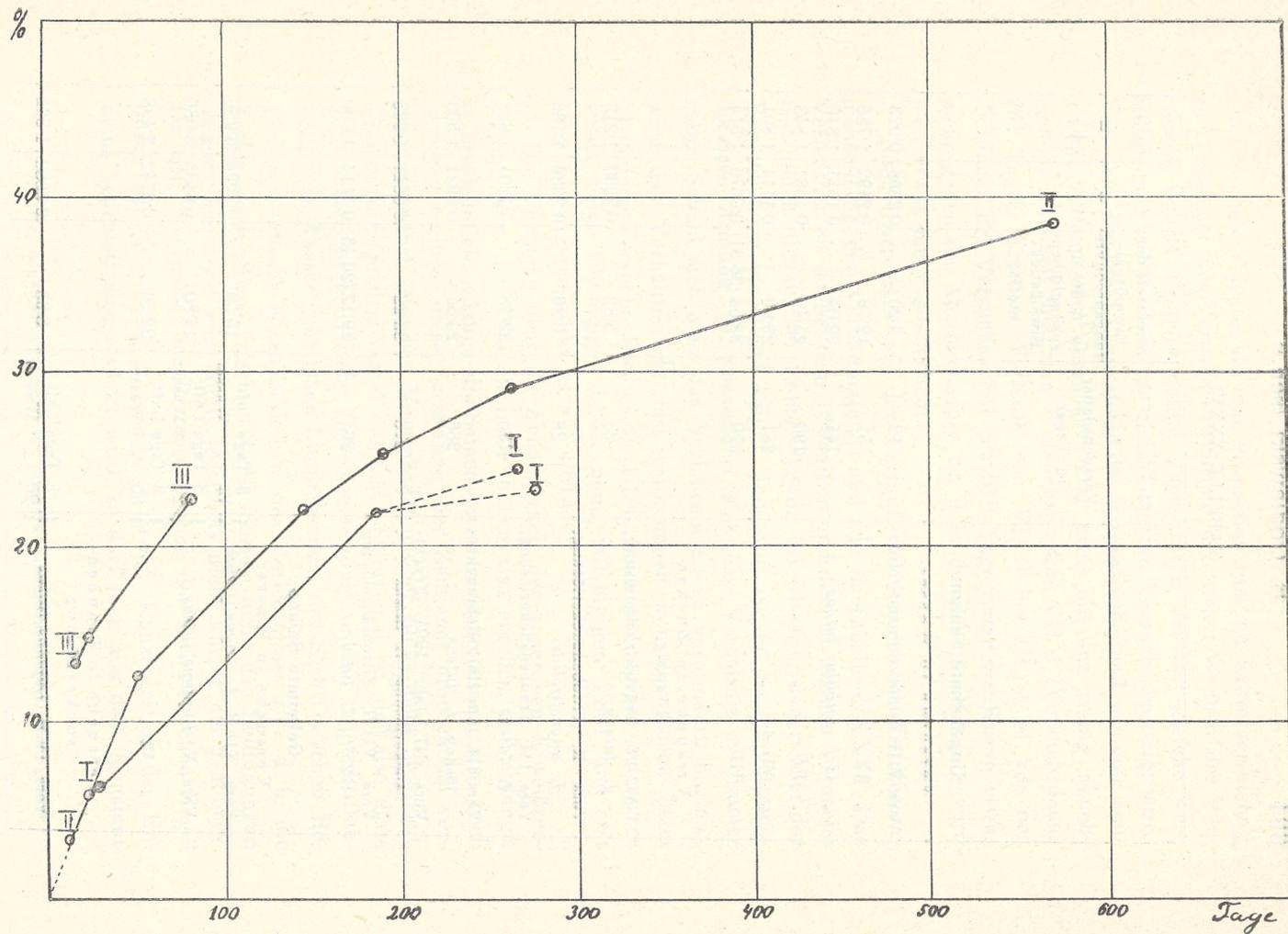


TABELLE XXXVI.

	t Versuchsdauer in Tagen	x Stickstoff der Eiweißspal- tungsprodukte in % des ur- sprünglichen Eiweißstick- stoffs	$\frac{x}{t}$	$\frac{x}{\sqrt{t}}$
Ungekeimte Samen				
Versuche in Wasser				
Vers. VIII. <i>Lupinus angustifolius</i>	12	3·20	0·2666	0·923
„ IX. „ „	51	12·76	0·2492	1·786
„ II. <i>Lupinus luteus</i> . . .	144	22·04	0·1531	1·840
„ I B. „ „ . . .	190	25·40	0·1337	1·843
„ VII A. „ „ . . .	261	29·09	0·1111	1·801
„ III. „ „ . . .	570	38·54 (36·31)	0·0676	1·614
Versuche in Zucker- lösung				
Vers. IV. Traubenzuckerlösung, <i>L. luteus</i>	23	5·82	0·2530	1·213
Vers. X. Traubenzuckerlösung, <i>L. angustifolius</i>	28	6·26	0·2236	1·182
Vers. I A. Traubenzuckerlösung, <i>L. luteus</i>	185	22·28	0·1204	1·638
Vers. III. Jahr 1904. Rohrzucker- lösung, <i>L. luteus</i>	266	24·51	0·0921	1·503
Vers. III. Jahr 1904. Frucht- zuckerlösung, <i>L. luteus</i> . . .	276	23·22	0·0841	1·398
Vers. VII B. Zitronensäurelösung 0·25%, <i>L. luteus</i>	261	29·17 (26·45)	0·1114	1·806
Gekeimte Samen				
Versuche in Wasser				
Vers. XII B. <i>L. angustifolius</i> . . .	3 Tage Luft 14 „ Wasser	13·59	0·7994	3·296
Vers. V. <i>Lupinus luteus</i>				
„ VI. „ „	3 Tage Luft 20 „ Wasser 3 Tage Luft 80 „ Wasser	14·80	0·6435	3·086
		22·76	0·2742	2·498
Versuche in Trauben- zuckerlösung				
Vers. IV B. <i>Lupinus luteus</i> . . .	3 Tage Luft 20 „ Wasser	8·93	0·3883	1·862

solcher Verlauf deutet auf eine Proportionalität der Eiweißzersetzung zur Zeitdauer des Versuches während der ersten Wochen des Versuches, welche Proportionalität auch durch das fast gleiche Verhältnis von x/t in dem 12- und 51-tägigen Versuche bestätigt wird. Von dem Punkte IX an steigt die Kurve bedeutend weniger steil als am Anfange des Versuches, und zwar mit nur wenig abnehmender Steilheit bis zum Versuchspunkte VII A (Versuchsdauer 261 Tage). Erst im Verlaufe von VII B bis III, d. h. von der Zeitdauer des Versuches 261 bis 570 Tage neigt die Kurve etwas mehr gegen die Abszissenachse zu, d. h. die Eiweißzersetzung wird jetzt etwas mehr geschwächt.

Noch lehrreicher als der Verlauf der Kurven ist die Zusammenstellung der Verhältnisse x/t und x/\sqrt{t} in Tabelle XXXVI. Das Verhältnis x/t ist bei dem 12-tägigen und dem 51-tägigen Versuche fast gleich (0.2666 bei 12-täg., 0.2492 bei 51-täg.); dauert aber der Versuch noch bedeutend länger, und zwar länger als die intramolekulare Atmung, so vermindert sich das Verhältnis x/t immer mehr. Sobald sich aber das Verhältnis x/t zu vermindern beginnt, wird das Verhältnis x/\sqrt{t} fast vollkommen konstant. Schon beim 51-tägigen Versuche wird es zu 1.786, beim 144-tägigen beträgt es 1.840, beim 190-tägigen 1.843, beim 261-tägigen 1.801 und erst beim 570-tägigen sinkt es auf 1.614.

Die Versuche über die Abhängigkeit der anaeroben Eiweißzersetzung von der Versuchsdauer haben also ergeben, daß anfangs, wahrscheinlich, solange die Samen intramolekular atmen, also noch lebendig bleiben, diese Zersetzung der Zeitdauer proportional verläuft, bei einer längeren Versuchsdauer aber nicht mehr der Zeit, sondern der Quadratwurzel der Zeit proportional ist, daß also diese postmortale, proteolytische Eiweißzersetzung in den unter Luftabschluß in Wasser gehaltenen Lupinensamen der Schütz'schen Regel folgt. Dieses Konstantbleiben des Verhältnisses x/\sqrt{t} , d. h. die Befolgung der Schütz'schen Regel dauerte unter den Bedingungen unserer Versuche sehr lange, jedenfalls nicht kürzer als 9 Monate. Da nun die Größe der Proteolyse nach der Schütz'schen Regel durch die Gleichung $x = k\sqrt{Et}$ (wo E Konzentration des Enzyms bedeutet) ausgedrückt wird, so darf man aus dem Konstant-

1) Euler, Allgemeine Chemie der pflanzlichen Enzyme. Wiesbaden 1911.

bleiben des Verhältnisses x/\sqrt{t} schließen, daß auch die Enzymkonzentration während einer so langen Zeit unverändert, ohne merkliche Schwächung, blieb.

Die Versuche mit gekeimten Samen lassen auf eine bedeutende Steigerung der Enzymkonzentration, also auf eine namhafte Neubildung der proteolytischen Enzyme schließen. Nach den Versuchen von Vines wie auch nach den oben besprochenen Resultaten unserer Versuche VIII und XI im Vergleiche zu XII A ist es nicht zu bezweifeln, daß sich diese Neubildung auf Pepsin bezieht.

Produkte der Eiweißzersetzung.

Um eine bessere Übersicht über die quantitativen Verhältnisse einzelner Gruppen der Eiweißzersetzungsprodukte zu gewinnen, wollen wir noch folgende Tabelle zusammenstellen, welche den Stickstoff einzelner Gruppen der Zersetzungsprodukte in % des Gesamtstickstoffs derselben angibt. Bei den Versuchen III und VII B sind auch die Zunahmen an mit Phosphorwolframsäure fällbarem Stickstoff (als Stickstoff der organischen Basen) zu dem Stickstoff der Zersetzungsprodukte eingerechnet worden.

(Vgl. Tab. XXXVII Seite 697).

Wie aus dieser Zusammenstellung zu ersehen ist, ergeben alle Versuche ohne Ausnahme das Resultat, daß bei der anaeroben Eiweißzersetzung nur wenig an Aminosäureamiden und Ammoniak gebildet wird und daß mehr als $\frac{3}{4}$ der Zersetzungsprodukte oder ein noch größerer Teil aus Aminosäuren und anderen mit Phosphorwolframsäure nicht fällbaren und beim Kochen mit verdünnten Säuren kein Ammoniak abspaltenden Verbindungen bestehen.

Dieses Resultat stimmt mit den Resultaten meiner früheren, 1904 publizierten Untersuchungen, sowie mit den noch älteren Angaben von Palladin vollkommen überein.

Es drängt sich nun die Frage auf, welchen Anteil an dieser Gruppe der Verbindungen die wirklichen Aminosäuren bilden. Um dieser Frage näher zu treten, wurde in den Versuchen II B und III ein Teil der von Phosphorwolframsäure abfiltrierten und mit verdünnter Schwefelsäure gekochten Lösung in bekannter Weise mit HNO_2 in CO_2 -Atmosphäre nach Böhrer behandelt und der dabei entweichende Stickstoff über alkalischem übermangansaurem Kali gesammelt und gemessen.

TABELLE XXXVII.

Stickstoff einzelner Gruppen der Eiweißzersetzungsprodukte in % des Gesamtstickstoffs derselben.

Versuche mit *Lupinus luteus*.

	Ungekeimte Samen							Gekeimte Samen		
	in Wasser				in Glukoselösung		in Zitronensäurelös.	in Wasser		in Glukoselösung
	II 144 T.	I B. 190 T.	VII A. 261 T.	Vers. III 570 T.	V. IV A. 23 T.	Vers. 1 A. 185 T.	261 T.	23 T.	VI 83 T.	IV B 23 T.
N der organischen Basen	—	—	—	5·8	—	—	9·3	—	—	—
„ des Ammoniaks	3·8	5·8	5·9	13·2	3·6	2·2	6·7	9·0	4·8	5·0
„ der Aminosäureamide	18·2	15·6	6·1	13·8	—	20·6	11·1	3·6	8·0	4·6
„ „ Aminosäuren und sonst. Verbindungen	77·9	85·6	88·6	67·2	96·4	77·2	72·7	87·4	87·2	90·4

Versuche mit *Lupinus angustifolius*.

	Ungekeimte Samen			Gekeimte Samen
	in Wasser		in Glukoselösung	in Wasser
	Ver. VIII, 12 Tage	Ver. IX, 51 Tage	Ver. X, 28 Tage	Ver. XII, 23 Tage
N des Ammoniaks	—	4·1	2·9	4·2
„ der Aminosäureamide	10·4	14·1	23·5	20·8
„ der Aminosäuren u. sonstiger Verbindungen	89·6	81·8	73·5	75·0

Die betreffenden analytischen Daten sind bei der Beschreibung der genannten Versuche angegeben und die für den Stickstoff der wirklichen Aminosäuren auf diese Weise gefundenen Zahlen in die Tabellen VI und VIII aufgenommen. Es mögen diese Zahlen hier nochmals wiedergegeben werden.

TABELLE XXXVIII.

Pro 100 des Gesamtstickstoffs der entschälten Samen entfielen am Ende des Versuches:	im Versuche II B	im Versuche III
auf Stickstoff der Aminosäuren und sonstiger mit Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Verbindungen	24·76 ⁰ / ₁₀	30·32 ⁰ / ₁₀
davon entfallen		
auf wirkliche Aminosäuren	12·45 „	18·73 „
auf sonstige Verbindungen	12·32 „	11·59 „

Nach diesen Zahlen entfiel von dem Stickstoff der Gruppe: Aminosäuren und sonstige Verbindungen im Versuche II B (144 Tage Versuchsdauer) die Hälfte, im Versuche III (570 Tage Versuchsdauer) nahezu $\frac{2}{3}$ auf wirkliche Aminosäuren; der Rest bestand aus anderen, nicht näher bestimmten Stickstoffverbindungen. Fragen wir nun nach der Natur dieser anderen, bei Eiweißzersetzung sich bildenden, aber zu Aminosäuren nicht gehörenden Stickstoffverbindungen, so ist mit der größten Wahrscheinlichkeit zu vermuten, daß sie zu den Polypeptiden gehören. Es ist ja bekannt, daß unter den Produkten der künstlichen Eiweißzersetzung Polypeptide gefunden werden, und da andererseits die anaerobe Eiweißzersetzung in den Lupinensamen als Proteolyse derselben angesehen werden muß, so ist die Bildung der Polypeptide als der Übergangsprodukte zu Aminosäuren durchaus wahrscheinlich. Zu Gunsten dieser Vermutung spricht auch der Umstand, daß bei einer längeren Versuchsdauer (Vers. III) weniger von diesen in Frage stehenden Verbindungen und mehr von wirklichen, mit HNO_2 Stickstoff abspaltenden Aminosäuren gefunden wurde.

Wenn wir nun die erhaltenen Resultate zusammenfassen und die Art und Weise der anaeroben Eiweißzersetzung in den Lupinensamen mit der aeroben, bei der Entwicklung der Keimlinge aus diesen Samen stattfindenden vergleichen, so sehen wir, daß

nicht nur die Eiweißzersetzung bei Luftabschluß viel langsamer als bei Luftzutritt verläuft, sondern daß sie auch andere Endprodukte liefert.

Das Hauptprodukt, in welchem der Stickstoff der bei der Entwicklung der Lupinenkeimlinge zersetzten Eiweißstoffe wiedergefunden wird, ist bekanntlich das Asparagin; die Aminosäuren treten in viel geringerer Menge, auf. Neben dem Asparagin und den Aminosäuren werden bei den sich entwickelnden Keimlingen auch Hexonbasen in nicht unbedeutender Menge gefunden. Ganz besonders ist es Arginin, welches oft in ziemlich bedeutender Menge gebildet wird. Schulze fand¹⁾, daß bei der Entwicklung der Keimlinge von *Lupinus luteus* die Bildung von Arginin Hand in Hand mit der Eiweißzersetzung fortschreitet, so daß auf je 100 g der zersetzten Eiweißstoffe 6.44 g Arginin aus den Keimlingen isoliert werden konnte. Aus den Produkten der Hydrolyse der Eiweißstoffe der gelben Lupine durch Kochen mit Salzsäure konnte Schulze auf je 100 g der zersetzten Eiweißstoffe 7.84 g Arginin isolieren, also nur wenig mehr als bei physiologischer Eiweißzersetzung bei der Entwicklung der Keimlinge.

Berechnet man den Stickstoff dieser Argininmenge in % des Gesamtstickstoffs der zersetzten Eiweißstoffe, so sehen wir, daß bei physiologischer Eiweißzersetzung 16.9%, bei der Hydrolyse durch Kochen mit Salzsäure 20.58% auf Arginin entfallen.

Wenn auch der Vergleich der Resultate unserer Versuche über die Eiweißzersetzung bei Luftabschluß mit denen von Schulze und anderer über den Eiweißzerfall bei der Entwicklung der Keimlinge die Differenzen zwischen dem anaeroben und dem aeroben Eiweißumsatz in den Pflanzen deutlich zu Tage bringt, so hielt ich es doch für nützlich, diesen aeroben Eiweißumsatz mit derselben Methode, deren ich mich bei den Untersuchungen über den Eiweißzerfall unter Luftabschluß bediente, zu prüfen. Diese Prüfung wurde im folgenden Versuch ausgeführt.

Versuch XIII.

30 ausgekeimte Samen der gelben Lupine wurden zwei weitere Tage im Netze über Wasser bei 28° C. kultiviert. Die geernteten

¹⁾ Schulze, Beiträge zur Kenntnis der Zusammensetzung und des Stoffwechsels der Keimpflanzen. Zeitschrift für physiolog. Chemie. B. 38, S. 192.

Pflänzchen hatten durchschnittlich 21·4 mm lange Wurzeln und 9·4 mm lange Hypokotylen, wogen frisch 15·9 g und getrocknet 3·09 g. Nach dem Trocknen wurden die Pflänzchen gepulvert, 5 Stunden bei etwa 70° C. mit 250 ccm Wasser digeriert und der Auszug abfiltriert. Von dem Extrakte wurden zwei Portionen à 100 ccm abgemessen und jede für sich auf verschiedene Stickstoffformen analysiert, und zwar auf diese Weise, daß in einer Portion die Eiweißstoffe mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$, in der anderen mit Tannin und Bleiessig gefällt wurden. In der mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$ behandelten Portion wurde Kupfer aus dem Filtrate mit H_2S entfernt und in CuS auch der Stickstoff bestimmt. Aus der Portion, welche mit Tannin und Bleiessig enteiweißt wurde, entfernte man den Überschuß an Blei mit Schwefelsäure. Beide Portionen wurden nach der Entfernung der Eiweißstoffe mit Schwefelsäure angesäuert, mit Phosphorwolframsäure behandelt und in üblicher Weise auf verschiedene Stickstoffformen analysiert.

Die Resultate der Analysen sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

TABELLE XXXIX.

	Nach der Analyse der mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$ behandelten Portion mg	Nach der Analyse der mit Tannin und Bleiessig behandelten Portion mg
N der ungelösten Eiweißstoffe	133·71	133·71
„ „ gelösten „	53·90	56·35
„ des CuS -Niederschlages	10·85	—
„ „ Phosphorwolframsäureniederschlages ohne Ammoniak	28·70	40·60
„ des Ammoniaks	6·25	3·50
„ „ Asparagins	38·50	41·25
„ der Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	35·70	32·20
	308·01	307·61

Die Summen der Einzelbestimmungen beider Portionen stimmen recht gut miteinander; weniger gut die Einzelbestimmun-

gen selbst. Die Hauptursache der Differenzen scheint darin zu liegen, daß der CuS-Niederschlag einen Teil der in entweißter Lösung enthaltenen, mit Phosphorwolframsäure fällbaren Stoffe durch Adsorption mitgefällt hat, wodurch dann der Stickstoff des Phosphorwolframsäureniederschlages etwas vermindert wurde. Ob dies hauptsächlich Albumosen und Peptone oder auch organische Basen waren, welche an CuS-Niederschlag hafteten, muß unentschieden bleiben.

Der zweite Unterschied war, daß in der mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$ und dann mit H_2S behandelten Portion etwas mehr Ammoniak und etwas weniger Aminosäureamide als in der mit Bleiessig behandelten gefunden wurde; möglicher Weise war in dieser Portion ein kleiner Teil der Aminosäureamide invertiert.

Berechnen wir nun die Ergebnisse beider Analysen in % des Gesamtstickstoffs der Keimlinge, so erhalten wir folgendes:

(Sieh Tab. XL Seite 702).

Diese Analysenresultate zeigen in Übereinstimmung mit den zahlreichen in der Literatur zerstreuten Analysen, daß bei der normalen, sich bei Luftzutritt abspielenden Eiweißzersetzung das Asparagin alle Zersetzungsprodukte stark überwiegt und daß auch die mit Phosphorwolframsäure fällbaren Verbindungen (vermutlich organische Basen) in nicht unbedeutender Menge unter diesen Zersetzungsprodukten auftreten. Im vorliegenden Falle entfällt auf den Stickstoff dieser Verbindungen ungefähr $\frac{1}{4}$ des Gesamtstickstoffs der in den Keimlingen zersetzten Eiweißstoffe.

Um diese physiologische Eiweißzersetzung mit der Zersetzung durch Kochen mit Säuren zu vergleichen, kochte ich 10 g Lupinenmehl 12 Stunden lang mit 50 ccm 25%-iger Schwefelsäure am Rückflußkühler, setzte der hydrolysierten Lösung eine der Hälfte der verwendeten Schwefelsäure entsprechende Menge Barythydrat zu, filtrierte den Niederschlag von Schwefelsäure-Baryt ab, wusch ihn durch mehrmals wiederholtes Auskochen mit Wasser, dampfte die Waschwässer ein, vereinigte sie mit dem Hauptfiltrate und füllte dann das Ganze auf 250 ccm auf. Hievon wurden 50 ccm = 2 g des Samenpulvers mit Phosphorwolframsäure gefällt, der Niederschlag abfiltriert und mit 5%-iger Schwefelsäure gewaschen. In diesem Niederschlage wurde zunächst Ammoniak durch Abdestillieren mit MgO und dann der restierende Stickstoff der Hexon-

TABELLE XL.

	nach der Analyse der mit $\text{Cu}(\text{OH})_2$ behandelten Portion	nach der Analyse der mit Tannin und Bleiessig behandelten Portion
N der ungelösten Eiweißstoffe	43·47	43·47
„ „ gelösten „	17·50	18·32
„ des CuS -Niederschlages	3·52	—
„ „ Phosphorwolframsäureniederschlages	9·32	13·20
„ „ Ammoniaks	2·16	1·14
„ „ Asparagins	12·50	13·40
„ der Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	11·59	10·47
<p>Vergleichen wir die Zahlen mit der Zusammensetzung der entschälten Samen, so finden wir folgende Differenzen:</p>		
N der Eiweißstoffe	— 25·04	— 24·16
„ des CuS -Niederschlages	+ 0·48	} + 6·38
„ „ Phosphorwolframsäureniederschlages	+ 5·74	
„ „ Ammoniaks	+ 1·83	+ 0·81
„ „ Asparagins	+ 10·03	+ 10·93
„ der Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	+ 7·16	+ 6·04
<p>Aus diesen Zahlen ist zu berechnen, daß von 100 Teilen Stickstoff der zersetzten Eiweißstoffe übergegangen sind in:</p>		
N der mit CuS fällbaren Verbindungen	1·92	} 24·05
„ „ „ Phosphorwolframsäure fällbaren Verbindungen (organische Basen)	22·13	
„ des Ammoniaks	7·31	3·35
„ „ Asparagins	40·05	45·24
„ der Aminosäuren und sonstiger Verbindungen	32·20	25·00

basen durch Verbrennung nach Kjeldahl bestimmt. Die Resultate dieser Bestimmung in 50 ccm Lösung (entsprechend 2 g Lupinenmehl) sind:

		in % des Gesamtstickstoffs
Stickstoff des Ammoniaks . .	12.88 g	11.64
„ der Hexonbasen . .	29.26 „	26.46
„ der Monoaminosäuren	68.46 „	61.90
	110.60 g	100.00

In bezug auf die mit Phosphorwolframsäure fällbaren organischen Verbindungen (organische Basen) stimmen diese Zahlen mit denjenigen, die sich auf physiologische aerobe Eiweißzersetzung beziehen, so gut wie vollständig überein. Wenn auch eine so weit gehende Übereinstimmung als ein Zufall zu betrachten ist, so darf man doch aus derselben schließen, daß bei normaler aerober Eiweißzersetzung ebenso wie bei Zersetzung durch Kochen mit Säuren die Hexonbasen abgespalten werden und daß sie bis zu dem Entwicklungsstadium, in welchem die Keimlinge untersucht wurden, nicht in den weiteren Stoffumsatz hineingezogen werden. Dieses Resultat, welches mit dem von Schulze in bezug auf Arginin erhaltenen im Einklang steht, schließt selbstverständlich nicht aus, daß während der weiteren Entwicklungsstadien die mit Phosphorwolframsäure fällbaren Eiweißzersetzungserzeugnisse zur Eiweißregeneration Verwertung finden können. Daß bei der anaeroben Eiweißzersetzung in den Pflanzenzellen Asparagin, respekt. Aminosäureamide unter den Zersetzungserzeugnissen nur spärlich auftreten, erklärt sich, wie ich es schon in meiner früheren Arbeit hervorgehoben habe, leicht dadurch, daß das in so großer Menge sich bei der Keimung bildende Asparagin, wie es zunächst Schulze nachgewiesen hat, kein unmittelbares Eiweißzersetzungserzeugnis ist, sondern daß es sich aus den wirklichen Eiweißzersetzungserzeugnissen erst nachträglich in den Pflänzchen bildet. Zu diesen weiteren Umsetzungen, welche auf Eiweißregeneration hinzielen, ist aber der Sauerstoffzutritt notwendig; fehlt derselbe, so verbleiben die ursprünglichen Eiweißzersetzungserzeugnisse unverändert da.

Nicht so leicht zu beantworten ist die Frage, warum wir unter den Produkten der anaeroben Eiweißzersetzung in den Lupinensamen meistens keine oder nur minimale Mengen organischer Basen

gefunden haben, während bei normaler Eiweißzersetzung an der Luft über 20% des Stickstoffs der zersetzten Eiweißstoffe in Form von mit Phosphorwolframsäure fällbaren Verbindungen wiedergefunden wurden. Die mit Phosphorwolframsäure fällbaren Hexonbasen sind ja ebenso direkte Produkte der Eiweißspaltung wie die Monoaminosäuren, es drängt sich also die Frage auf, warum wir sie bei der anaeroben Eiweißzersetzung nicht finden? Es sind zwei Fälle denkbar, welche uns ihr Fehlen erklären können. Entweder werden die Hexonbasen bei der anaeroben Eiweißzersetzung überhaupt nicht abgespalten, so daß anzunehmen wäre, daß diese Zersetzung ausschließlich auf der Abspaltung von Monoaminosäuregruppen von den Proteinmolekülen beruhe, während die Hexonbasengruppen weiterhin mit den restierenden Proteinstoffen in Verbindungen verbleiben, oder aber, daß die Hexonbasen bei der anaeroben Eiweißspaltung auch abgespalten werden, aber bald darauf irgend eine weitere Zersetzung erleiden und in andere, mit Phosphorwolframsäure nicht fällbare Stickstoffverbindungen übergeführt werden, so daß sie unter den Zersetzungsprodukten nicht zu finden sind. Es ist a priori nicht zu entscheiden, welche von diesen beiden Möglichkeiten in der Tat zutrifft. Um auf experimentellem Wege diese Entscheidung zu versuchen, ging ich von folgenden Betrachtungen aus. Sollte die anaerobe Eiweißzersetzung in den Samen darin bestehen, daß sich nur die Monoaminosäuregruppen von den Proteinstoffen abspalten, die Diaminosäuregruppen dagegen ihren Zusammenhang mit den in den Samen verbliebenen Eiweißstoffen nicht verlieren, so müßten diese letzteren nach dem Versuche an Diaminosäuregruppen reicher werden als die in den ursprünglichen Samen auftretenden Proteinstoffe. Wenn dagegen die Ursache des Fehlens einer entsprechenden Menge Diaminosäuren unter den Produkten der anaeroben Eiweißzersetzung darin liegen sollte, daß dieselben bald nach ihrer Abspaltung von den sich zersetzenden Eiweißstoffen eine weitere Zersetzung erfahren und in andere, mit Phosphorwolframsäure nicht fällbare Verbindungen übergehen, so wäre kein Grund für einen Unterschied in dem Gehalt der nach dem Versuch in den Samen verbliebenen und der in den ursprünglich in den Samen enthaltenen Proteinstoffe an Diaminosäuregruppen vorhanden. Es war demnach angezeigt, einerseits die Proteinstoffe der ursprünglichen Samen, andererseits diejenigen der Samen, welche längere Zeit in Wasser unter Luftabschluß verweilten und

BULLETIN INTERNATIONAL
DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE
CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES.

SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES.

DERNIERS MÉMOIRES PARUS.

(Les titres des Mémoires sont donnés en abrégé).

- E. Lubicz Niezabitowski.** Die Haut- und Knochenüberreste des in Starunia in einer Erdwachsgrube gefundenen Mammut-Kadavers (*Elephas primigenius*). (Vorläufige Mitteilung) Avril 1911
- E. Lubicz Niezabitowski.** Die Überreste des in Starunia in einer Erdwachsgrube mit Haut und Weichteilen gefundenen *Rhinoceros antiquitatis* Blum. (*tichorhinus* Fisch.). (Vorläufige Mitteilung) Avril 1911
- W. Grzywo-Dąbrowski.** Experimentelle Untersuchungen über die zentralen Riechbahnen des Kaninchens Avril 1911
- H. Zapalowicz.** Revue critique de la flore de Galicie, XX partie Mai 1911
- J. Wołoszyńska.** Über die Variabilität des Phytoplanktons der polnischen Teiche. I. Mai 1911
- F. Lilienfeld.** Beiträge zur Kenntnis der Art *Haplomitrium Hookeri* Nees. Mai 1911
- K. v. d. Malsburg.** Über neue Formen des kleinen diluvialen Urindes: *Bos (urus) minutus* n. spec. Mai 1911
- F. Malinowski.** Sur la biologie et l'écologie des lichens épilithiques Mai 1911
- A. Krasucki.** Untersuchungen über Anatomie und Histologie der Heteropoden Mai 1911
- VI. Kulezyński.** Symbola ad faunam Araneorum Javae et Sumatrae cognoscendam. II. Sicariidae, Dysderidae, Drassodidae, Zodariidae Juin 1911
- H. Zapalowicz.** Revue critique de la flore de Galicie, XXI partie Juin 1911
- A. Beck.** Über den Verlauf der Aktionsströme in dem Zentralnervensysteme Juin 1911
- M. Siedlecki.** Veränderungen der Kernplasmarelation während des Wachstums intrazellulärer Parasiten Juin 1911
- J. Wołoszyńska.** Beitrag zur Kenntnis der Planktonalgen Juill. 1911
- M. Eiger.** Die physiologischen Grundlagen der Elektrokardiographie Juill. 1911
- J. Nowak.** Untersuchungen über die Cephalopoden der oberen Kreide in Polen. II. Teil: Die Skaphiten Juill. 1911
- J. Markowski.** Über die Entwicklung der Sinus durae matris und der Hirnvenen bei menschlichen Embryonen von 15·5—49 mm Scheitel-Steißlänge Juill. 1911

TABLE DES MATIÈRES.

Octobre 1911.

	Page
J. MARKOWSKI. Über die Entwicklung der Sinus durae matris und der Hirnvenen bei menschlichen Embryonen von 15·5—49 mm Scheitel-Steißlänge (Schluß)	609
ED. JANCZEWSKI. Suppléments à la Monographie des Groseilliers. IV. Hybrides nouveaux	612
H. ZAPĄŁOWICZ. Revue critique de la flore de Galicie. XXII partie	620
E. GODLEWSKI (sen.). Über anaerobe Eiweißzersetzung und intramolekulare Atmung in den Pflanzen	623

Le «*Bulletin International*» de l'Académie des Sciences de Cracovie (Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles) paraît en deux séries: la première (A) est consacrée aux travaux sur les Mathématiques, l'Astronomie, la Physique, la Chimie, la Minéralogie, la Géologie etc. La seconde série (B) contient les travaux qui se rapportent aux Sciences Biologiques. Les abonnements sont annuels et partent de janvier. Prix pour un an (dix numéros): Série A ... 8 K; Série B ... 10 K.

Les livraisons du «*Bulletin International*» se vendent aussi séparément.

Adresser les demandes à la Librairie «Spółka Wydawnicza Polska» Rynek Gł., Cracovie (Autriche).

Prix 2 K 10 h.
