

Ueber die Zellwandbestandtheile der Cotyledonen von *Lupinus luteus* und *Lupinus angustifolius* und über ihr Verhalten während des Keimungsvorganges.

Von

E. Schulze.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaction zugegangen am 13. December 1895.)

In der Bibliotheca botanica¹⁾ hat Th. Elfert vor Kurzem eine Abhandlung publicirt, welche den Titel führt: «Ueber die Auflösungsweise der secundären Zellmembranen der Samen bei ihrer Keimung». Er gelangt darin auf Grund mikroskopischer Beobachtungen u. A. zu der Schlussfolgerung, dass bei *Lupinus angustifolius*, *albus* und *luteus* die Verdickungen der Zellwandungen des Cotyledonargewebes nicht aus Reservestoffen bestehen und als gewöhnliche Cellulose anzusprechen seien. Die gegentheiligen Angaben Nadelmann's²⁾ und Tschirch's³⁾, die sich gleichfalls auf mikroskopische Untersuchungen der Lupinenkeimlinge stützen, glaubt er auf unrichtige Beobachtungen, bezw. unrichtige Auslegung derselben zurückführen zu müssen.

Es scheint dem Verfasser der genannten Abhandlung völlig unbekannt geblieben zu sein, dass ich in Verbindung

¹⁾ In dem im Jahre 1894 erschienenen 30. Hefte dieser von Chr. Luerssen und B. Frank herausgegebenen Sammlung von Original-Abhandlungen aus dem Gebiete der Botanik.

²⁾ Berichte der D. Botan. Gesellschaft, 1889, S. 248; Pringsheim's Jahrbücher, Bd. 21, S. 670.

³⁾ Tschirch, Pflanzenanatomie, Bd. 1, S. 453.

mit E. Steiger¹⁾ chemische Untersuchungen über die Zellwandbestandtheile der Cotyledonen von *Lupinus luteus* und *angustifolius* ausgeführt habe, deren Ergebnisse mit seinen Schlussfolgerungen im Widerspruch stehen. Wir haben bewiesen, dass in den Zellwandungen des Cotyledonargewebes der genannten Samen in beträchtlicher Menge eine Substanz sich findet, die in ihrem Verhalten von der gewöhnlichen Cellulose sehr weit abweicht. Sie lässt sich durch heisse 1 procentige Salzsäure oder 1 procentige Schwefelsäure ziemlich rasch in Lösung bringen, während diese Agentien die gewöhnliche Cellulose nur sehr langsam angreifen; sie widersteht nicht den bei Reindarstellung der Cellulose benutzten oxydirenden Mischungen und wird durch Erhitzen mit geschmolzenem Aetzkali auf 180° zerstört; sie liefert bei der Hydrolyse nicht Traubenzucker, sondern Galactose und eine Pentose (höchstwahrscheinlich Arabinose); oxydirt man sie oder den bei der Hydrolyse aus ihr entstandenen Zucker durch verdünnte Salpetersäure, so erhält man Schleimsäure. Dass diese von E. Steiger und mir als Paragalactan bezeichnete Substanz, die ich zu den Hemicellulosen rechne, sich in den Wandverdickungen des Cotyledonargewebes vorfindet, ist nach den auf unsere Bitte von Professor C. Cramer²⁾ und von Dr. R. Pfister³⁾ ausgeführten mikroskopischen Untersuchungen zweifellos.

Dass diese von der gewöhnlichen Cellulose völlig verschiedene Substanz, welche man auch Paragalactoarabannennen kann⁴⁾, wahrscheinlich nicht ein einheitlicher Körper, sondern ein Gemenge zweier Kohlenhydrate, nämlich eines Galactans und eines Arabans ist, wurde früher (loc. cit.) schon von mir ausgesprochen. Da die Entscheidung dieser Frage ohne Bedeutung für die in dieser Abhandlung zu

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 227, Bd. 16, S. 392 und Bd. 19, S. 39, sowie Landwirthsch. Versuchstationen, Bd. 36, S. 391 und Bd. 41, S. 223. Eine kurze Mittheilung über einen Theil dieser Untersuchungen habe ich auch in den Ber. d. D. Botan. Gesellschaft, 1889, S. 355 ff., gemacht.

²⁾ Vgl. diese Zeitschrift, Bd. 14, S. 245.

³⁾ Ebendasselbst, Bd. 19, S. 44.

⁴⁾ Vgl. Landwirthsch. Versuchstationen, Bd. 41, S. 226.

machenden Erörterungen ist, so brauche ich sie hier nicht weiter zu discutiren. Auch werde ich mich im Folgenden zur Bezeichnung jener Substanz stets des Namens Paragalactan bedienen.

Ueber das Verhalten des Paragalactans während der Keimung der Samen haben wir früher nur an *Lupinus luteus* Versuche angestellt¹⁾. Die dabei erhaltenen Ergebnisse führen zu der Schlussfolgerung, dass die genannte Substanz während der Entwicklung der Keimpflanzen zum grössten Theil verbraucht wird. Wäre dies nicht der Fall, so müsste der procentige Paragalactangehalt der Cotyledonen in dem Maasse sich steigern, als die Proteinstoffe und andere zur Ernährung der Keimpflanzen dienende Bestandtheile der Cotyledonen aufgezehrt werden. Das Entgegengesetzte fand aber statt; der procentige Paragalactangehalt der Cotyledonen verringerte sich. Der Beweis dafür liegt darin, dass der unlösliche Theil der Cotyledonen 15tägiger etiolirter Keimpflanzen eine geringere Ausbeute an Glucose und an Schleimsäure lieferte, als der unlösliche Theil der ungekeimten entschälten Samen. In Uebereinstimmung mit diesem Befunde steht das Ergebniss einer von Prof. C. Cramer ausgeführten mikroskopischen Untersuchung. Letztere führte zu der Schlussfolgerung, dass während der Entwicklung der Keimpflanzen die Wandungen der Cotyledonarzellen einen Substanzverlust erleiden.

Nach dem Erscheinen der Abhandlung Elfert's habe ich neue Versuche an *Lupinus luteus* und *Lupinus angustifolius* angestellt. Ueber das denselben zu Grunde liegende Princip sei Folgendes bemerkt: So viel wir wissen, findet sich bei den *Lupinus*-Arten das Paragalactan nur in den Cotyledonen, nicht im Würzelchen und Knöspchen; gesetzt aber auch, dass es in den letzteren Theilen des Embryos nicht völlig fehlt, so kann doch, bei dem geringen Gewicht dieser Theile, die darin enthaltene Paragalactanmenge nur so unbedeutend sein, dass man sie nicht zu berücksichtigen braucht. Vergleicht man also die in 1000 Stück ungekeimter entschälter Samen

¹⁾ M. vgl. Landw. Versuchsstationen, Bd. 36, S. 462—466.

enthaltene Paragalactanquantität mit derjenigen, welche sich in den Cotyledonen von 1000 Stück Keimpflanzen vorfindet, so wird sich zeigen, ob während der Entwicklung der Keimpflanzen die genannte Substanz dem Verbrauch unterliegt oder nicht. Statt der Paragalactanmengen kann man aber auch die Glucose- und Schleimsäure-Quantitäten mit einander vergleichen, welche aus dem unlöslichen Theil der ungekeimten entschälten Samen und aus demjenigen der Cotyledonen etiolirter Keimpflanzen beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure, bezw. bei der Oxydation durch Salpetersäure erhalten werden. Im vorliegenden Falle habe ich es vorgezogen, in letzterer Weise zu verfahren; denn die Berechnung der Paragalactanmengen aus den Resultaten der analytischen Bestimmungen kann nur unter gewissen, nicht als völlig sicher zu bezeichnenden Voraussetzungen, geschehen¹⁾. Ausserdem habe ich sowohl in den entschälten Samen wie in den Cotyledonen der etiolirten Keimpflanzen die Menge der in Wasser, Alkohol und Aether unlöslichen stickstofffreien Stoffe zu bestimmen gesucht. Zu diesen Stoffen gehören das Paragalactan und die Cellulose; wird das Paragalactan während des Keimungsvorganges aufgezehrt, so muss dies eine beträchtliche Verringerung der Quantität jener Stoffe zur Folge haben.

Dass durch solche Bestimmungen eine geringe Abnahme der Paragalactanmenge sich nicht mit Sicherheit würde nachweisen lassen, ist leicht zu erkennen. Denn jene Bestimmungen liefern nicht genaue, sondern nur approximative Zahlen²⁾. Dazu kommt noch etwas Anderes. Da bei der gleichen Lupinensorte das Gewicht der einzelnen Samenkörner innerhalb gewisser Grenzen schwankt, so ist es wahrscheinlich, dass die für die Analyse benutzten 1000 Stück Samen nicht genau das gleiche Gewicht besaßen und demnach auch nicht die gleiche Paragalactanmenge einschlossen, wie die 1000 Samenkörner, aus denen die zur Gewinnung

¹⁾ M. vgl. das von uns in den Landw. Versuchsstationen, Bd. 39, S. 283, Gesagte.

²⁾ Wir verweisen bezüglich dieses Punktes auf unsere, im Vorstehenden schon citirten Abhandlungen.

der Cotyledonen verwendeten Keimpflanzen sich entwickelt haben. Der Unterschied im Stoffgehalt der ungekeimten Samen und der Cotyledonen zwei- bis dreiwöchentlicher Keimpflanzen ist aber, wie meine Versuche gezeigt haben, so bedeutend, dass die Bestimmungen trotz der Fehler, die jenen Umständen entspringen können, unzweideutige Resultate geliefert haben (m. vgl. die w. u. mitgetheilten Zahlen).

Ueber die Einzelheiten der Versuche sind noch folgende Angaben zu machen: Um die Samen bequem entschälen zu können, liessen wir sie zuvor in Wasser aufquellen; die Schalen wurden dann möglichst schnell entfernt, die Embryonen in einen geräumigen Trockenschrank bei einer Temperatur von 60—70° möglichst rasch getrocknet. 1100—1200 Stück solcher Embryonen (genau gezählt!) wurden in lufttrocknem Zustande gewogen und sodann möglichst fein zerrieben; das Pulver brachten wir in eine mit Glasstöpsel verschliessbare Flasche. Abgewogene Quantitäten dieses Pulvers dienten für die verschiedenen Bestimmungen.

Die Keimpflanzen zogen wir in Flusssand, der sich in grossen Blechkästen befand; sie entwickeln sich in diesem Material, falls nur der Feuchtigkeitsgehalt desselben der richtige ist, gut und gleichmässig. Die Kästen mit den Pflänzchen waren in einem verdunkelten Zimmer aufgestellt, dessen Temperatur nur relativ geringen Schwankungen unterlag; sie betrug fast immer 17—18° C. Die Keimpflanzen wurden nach einer Vegetationsdauer von 2, bzw. 3 Wochen¹⁾ untersucht. Gleich nach der Ernte wurden die Cotyledonen möglichst scharf von den übrigen Theilen der Pflänzchen abgetrennt. Die weitere Behandlung der Cotyledonen war nicht immer die gleiche; in einem Falle wurden sie im Trockenschrank bei 60—70° getrocknet; in den übrigen Fällen warfen wir sie unmittelbar nach der Gewinnung in absoluten Alkohol. Nachdem

¹⁾ Bei den Keimlingen von *Lupinus luteus* betrug nach 14tägiger Vegetationsdauer die Länge des hypocotylen Gliedes 10—11 cm., bei den Keimlingen von *Lupinus angustifolius* noch etwas mehr. Es braucht kaum erwähnt zu werden, dass nur Keimpflanzen zur Verwendung kamen, welche nach ihrem Aussehen für völlig gesund erklärt werden konnten.

sie in letzterem einige Wochen lang gelegen hatten, wurden sie herausgenommen und bei Zimmertemperatur über Schwefelsäure getrocknet; sie liessen sich nach dieser Behandlung sehr leicht zerreiben. Für die verschiedenen analytischen Bestimmungen verwendeten wir entweder eine bestimmte Anzahl von Cotyledonen, deren Gewicht ausserdem noch bestimmt wurde; oder wir ermittelten das Gewicht einer grösseren Anzahl von Cotyledonen, zerrieben dieselben und verwendeten abgewogene Mengen des Pulvers.

Im Folgenden beschreibe ich nun zunächst die Art und Weise, in welcher die analytischen Bestimmungen ausgeführt wurden¹⁾.

A. Analyse der ungekeimten Samen.

a) Bestimmung der in Wasser, Alkohol und Aether unlöslichen stickstofffreien Stoffe.

Abgewogene Mengen (8—10 gr.) des Samenpulvers wurden zunächst zur Entfernung von Fett, Cholesterin und Lecithin mit Aether und mit kochendem Weingeist extrahirt, sodann noch einmal zerrieben, und zur Entfernung des grössten Theils der Proteinstoffe mit sehr verdünnter Alkalilauge (meistens Natronlauge von ca. 0,5% Gehalt) behandelt. Nachdem das Ungelöste sich zu Boden gesetzt hatte, wurde die darüber stehende Flüssigkeit abgehebert²⁾; den Bodensatz rührten wir in chloroformhaltigem Wasser auf, liessen wieder absetzen und entfernten die Lösung wieder mittelst eines Hebers. Nachdem diese Operation noch einmal wiederholt worden war, brachten wir das Ungelöste, das wir als «paragalactanhaltigen Rückstand» bezeichnen wollen, auf ein zuvor getrocknetes und gewogenes Filter und wuschen es mit Wasser, Alkohol und Aether aus. Nachdem das Filter mit seinem

¹⁾ In diesem Theil meiner Arbeit wurde ich durch Herrn Dr. E. Winterstein unterstützt; derselbe hatte die Gefälligkeit, die erforderlichen Glucose- und Stickstoff-Bestimmungen auszuführen.

²⁾ Die abgeheberte Flüssigkeit war nicht völlig klar, sondern opalisirend; sie lieferte aber bei mehrtägigem Stehen keinen irgendwie in Betracht kommenden Bodensatz mehr.

Inhalte zuerst über concentrirter Schwefelsäure vorgetrocknet worden war, wurde es in ein Luftbad gebracht und bei 105—110° bis zur annähernden Constanz des Gewichts getrocknet, dann wurde es gewogen.

Vom Gewicht des in dieser Weise dargestellten «paragalactanhaltigen Rückstands» wurde die darin enthaltene Aschenmenge (bestimmt durch Einäschern eines abgewogenen Antheils des Rückstands in einer Platinsshale) und die noch vorhandene Proteïnmenge (berechnet aus dem nach Kjeldahl's Methode bestimmten Stickstoffgehalt, durch Multiplication des letzteren mit 6,25) in Abzug gebracht. Den Rest stellten wir als in «Wasser, Alkohol und Aether unlösliche stickstofffreie Stoffe» in Rechnung.

b) Bestimmung der beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure aus den unlöslichen stickstofffreien Stoffen entstehenden Glucose.

Abgewogene Mengen des Samenpulvers wurden in der unter a) beschriebenen Weise mit Aether, Alkohol und kalter verdünnter Alkalilauge behandelt, der dabei gewonnene «paragalactanhaltige Rückstand» zuerst durch Decantiren mit chloroformhaltigem Wasser, dann auf dem Filter ausgewaschen, sodann noch feucht vom Filter abgelöst¹⁾, in einen Glaskolben gebracht, mit 700—750 ccm. 1¼procentiger Schwefelsäure übergossen und 2 Stunden lang am Rückflusskühler gekocht. Nach dem Erkalten wurde das Ungelöste durch Filtration entfernt und auf dem Filter mit Wasser ausgewaschen; die Waschflüssigkeit dunsteten wir auf ein geringes Volumen ein und vereinigten sie sodann mit dem zuerst abgelassenen Filtrat. Die so gewonnene Lösung wurde noch 2 Stunden am Rückflusskühler im Sieden erhalten und sodann auf 1000 ccm. aufgefüllt. Abgemessene Antheile dieser Flüssigkeit dienten zur Glucose-Bestimmung nach der gravimetrischen Methode:

¹⁾ Hier wie in allen übrigen w. u. beschriebenen ähnlichen Versuchen verwendete ich die von der Firma Schleicher und Schüll gelieferten gehärteten Filter. Das Ablösen der Niederschläge von denselben geschah mittelst eines Spatels unter Zuhilfenahme einer Spritzflasche.

für die Berechnung der Resultate benutzten wir die Traubenzucker-Tabelle¹⁾).

c) *Bestimmung der bei Oxydation der Glucose durch verdünnte Salpetersäure entstehenden Schleimsäure.*

Der nach Ausführung der Glucose-Bestimmungen noch vorhandene Rest der nach b) gewonnenen Glucose-Lösung wurde mittelst Baryumcarbonat von der Schwefelsäure befreit und, nach dem Abfiltriren des Baryumsulfats, im Wasserbade zum Syrup eingedunstet. Den Syrup lösten wir in Salpetersäure vom specifischen Gewicht 1,15 und dunsteten die Lösung langsam auf ca. $\frac{1}{3}$ des Volumens ein. Die dabei entstandene Schleimsäure wurde nach Verlauf von 2—3 Tagen abfiltrirt, mit kaltem Wasser gewaschen, getrocknet und gewogen. Soweit wie möglich befolgten wir bei Ausführung der bezüglichen Operationen die von Tollens gegebenen Vorschriften.

B. Analyse der Cotyledonen der etiolirten Keimpflanzen.

Die Bestimmungen wurden hier ebenso ausgeführt, wie in den ungekeimten Samen, nur mit dem Unterschiede, dass die Behandlung mit verdünnter Alkalilauge weggelassen wurde. Letzteres war statthaft, weil die Cotyledonen 2—3 wöchentlicher Keimpflanzen weit geringere Mengen von unlöslichen Proteinstoffen einschliessen, als die ungekeimten Samen. Es wurden also z. B. zur Bestimmung der in Wasser, Alkohol und Aether unlöslichen stickstofffreien Stoffe die fein zerriebenen Cotyledonen zuerst mit Aether und kochendem Alkohol extrahirt; die rückständige Masse wurde mit kochendem Wasser übergossen, nach dem Erkalten aufs Filter gebracht, der Filterinhalt mit Wasser, Alkohol und Aether ausgewaschen, getrocknet und gewogen. Auch bei Bestimmung der aus den unlöslichen stickstofffreien Stoffen entstandenen Glucose- und Schleimsäure-Quantitäten wurden die zerriebenen Cotyledonen nur mit Aether, Alkohol und Wasser extrahirt, die Rückstände sodann mit $1\frac{1}{4}$ procentiger Schwefelsäure gekocht; die Lösungen

¹⁾ Was hier statthaft war, als es sich nur um die Gewinnung von Vergleichszahlen handelte.

behandelten wir ganz ebenso, wie es w. o. unter « Analyse der Samen » beschrieben worden ist.

Nachdem im Vorigen das Versuchsverfahren eingehend beschrieben worden ist, sind im Folgenden nur noch die in den einzelnen Versuchen erhaltenen Resultate und die aus denselben abzuleitenden Schlussfolgerungen mitzutheilen.

I. Versuche mit *Lupinus angustifolius*.

1190 Stück	entschälte Samen	wogen	129,1 gr. ¹⁾
1128 »	Cotyledonen 2wöchentl. Keimpflanzen	»	14,219 » ²⁾
100 »	»	»	1,186 »
1578 »	» 3wöchentl.	»	13,200 »
200 »	»	»	1,749 »

Bestimmung der in Wasser, Alkohol und Aether unlöslichen stickstofffreien Stoffe.

a) Ungekeimte Samen.

1. 10,406 gr. des Samenpulvers (= 96 Stück Samen) lieferten 3,588 gr. paragalactanhaltigen Rückstand. Dieser Rückstand enthielt 3,04% Stickstoff = 19,00% Protein und 1,01% Asche³⁾. Subtrahirt man Protein und Asche, so bleiben 2,870 gr. stickstofffreie Substanz übrig. Demnach enthielten 1000 Stück entschälter Samen 29,90 gr. unlösliche stickstofffreie Stoffe.

2. 8,00 gr. des Samenpulvers (= 74 Stück Samen) gaben 2,526 paragalactanhaltigen Rückstand. Der letztere enthielt

¹⁾ Es wurde ferner noch festgestellt, dass 200 Stück entschälte Samen 21,85 gr. wogen, woraus zu ersehen ist, dass das Gewicht der Samen kleine Schwankungen zeigt. Für die Berechnungen wurden die obigen Zahlen (1190 Stück = 129,1 gr.) zu Grunde gelegt.

²⁾ Die Cotyledonen der 2wöchentlichen Keimpflanzen waren im Trockenschrank bei 60—70° getrocknet, während wir die Cotyledonen der 3wöchentlichen Pflänzchen zur Entwässerung zuerst in absoluten Alkohol brachten und sodann über conc. Schwefelsäure trockneten (m. vgl. das oben über das Versuchsverfahren Gesagte).

³⁾ Analytische Belege:

0,497 gr. des Rückstands gaben 0,01484 gr. N (= 10,6 cbcm. Alkalilauge).

0,498 » » » » 0,0154 » » (= 11,0 » » » »).

1 cbcm. Alkalilauge = 0,0014 gr. N.

0,513 gr. des Rückstands gaben 0,0052 gr. Asche.

1.19% Stickstoff (= 7,44% Protein und 4,74% Asche¹). Nach Abzug von Protein und Asche bleiben 2,218 gr. stickstofffreie Substanz übrig. Demnach enthielten 1000 Stück Samen 29,98 gr. unlösliche stickstofffreie Stoffe. Im Mittel wurden also in 1000 Stück Samen 29,94 gr. solcher Stoffe gefunden.

b) Cotyledonen dreiwöchentlicher Keimpflanzen.

200 Stück Cotyledonen (= 1,749 gr.) gaben 1,131 gr. Rückstand. Letzterer enthielt 4,38% Stickstoff = 27,38% Protein und 4,22% Asche²). Nach Abzug von Protein und Asche bleiben 0,774 gr. stickstofffreie Stoffe übrig. Die Cotyledonen von 1000 Stück Keimpflanzen enthielten demnach 7,74 gr. solcher Stoffe

Bestimmung der beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure aus den unlöslichen stickstofffreien Stoffen entstandenen Glucose und der bei Oxydation der letzteren gebildeten Schleimsäure.

a) Samen.

Angewendet wurden 20,399 gr. des Samenpulvers (= 188 Stück Samen). Die Glucose-Lösung brachten wir auf 1000 cbcm. Je 25 cbcm. Glucose davon gaben:

a) 0,1996 gr. Cu = 0,10236 gr. Glucose,
b) 0,2004 » » = 0,1028 » »

Mittel 0,10258 gr. Glucose.

1000 cbcm. enthielten demnach 4,1032 gr. Glucose.

¹) Analytische Belege:

0,490 gr. des Rückstands gaben 0,0061 gr. N (= 4,4 cbcm. Alkalilauge).
0,499 » » » » 0,0056 » » (= 4,0 » »).
0,527 » » » » 0,025 » Asche.

Dass in diesem zweiten Versuch ein Rückstand von beträchtlich niedrigerem Stickstoffgehalt erhalten wurde, als im ersten Versuch, erklärt sich daraus, dass derselbe in diesem Falle energischer mit Alkalilauge behandelt worden ist. In Zusammenhang damit steht vielleicht der höhere Aschengehalt; die Membranen scheinen bei Berührung mit der Alkalilauge nach und nach etwas Alkali aufzunehmen.

²) Analytische Belege:

0,448 gr. des Rückstands gaben 0,0196 gr. N (= 14,0 cbcm. Alkalilauge).
1 cbcm. Alkalilauge = 0,0014 gr. N.
0,2370 gr. des Rückstands gaben 0,010 gr. Asche.

950 cbcm. der gleichen Glucose-Lösung wurden zum Syrup eingedunstet, der Syrup mit verdünnter Salpetersäure erhitzt; dabei wurden 2,626 gr. Schleimsäure erhalten. Letztere schloss nur eine Spur von Asche ein.

1000 Stück Samen würden demnach bei gleicher Behandlung 21,8 gr. Glucose und 14,0 gr. Schleimsäure geliefert haben.

b) Cotyledonen zweiwöchentlicher Keimpflanzen.

Angewendet wurden 1128 Stück Cotyledonen (= 14,2 gr.). Die Glucose-Lösung brachten wir auf 1000 cbcm.; 100 cbcm. davon gaben 0,2230 gr. Cu = 0,1143 gr. Glucose; 1000 cbcm. enthielten demnach 1,143 gr. Glucose.

900 cbcm. der Glucose-Lösung lieferten nach dem Eindunsten und Erhitzen mit Salpetersäure 0,2745 gr. Schleimsäure (nach Abzug der darin enthaltenen 0,0130 gr. Asche in Rechnung gestellt).

Nach diesen Zahlen würden die Cotyledonen von 1000 Stück Keimpflanzen bei gleicher Behandlung 2,03 gr. Glucose und 0,54 gr. Schleimsäure geliefert haben.

c) Cotyledonen dreiwöchentlicher Keimpflanzen.

Angewendet wurden 1378 Stück Cotyledonen (= 11,45 gr.). Die Glucose-Lösung brachten wir auf 1000 cbcm.; 100 cbcm. davon gaben 0,1720 gr. Cu = 0,0879 gr. Glucose; 1000 cbcm. enthielten also 0,879 gr. Glucose.

900 cbcm. der Glucose-Lösung lieferten beim Eindunsten und Erhitzen mit Salpetersäure 0,3458 gr. Schleimsäure (nach Abzug der darin enthaltenen 0,0172 gr. Asche in Rechnung gestellt).

Nach diesen Zahlen würden die Cotyledonen von 1000 Keimpflanzen bei gleicher Behandlung 1,128 gr. Glucose und 0,55 gr. Schleimsäure geliefert haben.

Schlussfolgerungen.

Stellen wir zunächst die von den ungekeimten entschälten Samen und von den Cotyledonen der etiolirten Keimpflanzen

gelieferten Glucose- und Schleimsäure-Quantitäten einander gegenüber, so zeigt sich Folgendes:

1000 Stück entschälte Samen lieferten 21,8 gr. Glucose und 14,0 gr. Schleimsäure.

2000 Stück Cotyledonen 2wöchentl. Keimpflanzen lieferten 2,03 gr. Glucose und 0,54 gr. Schleimsäure.

2000 Stück Cotyledonen 3wöchentl. Keimpflanzen lieferten 1,13 gr. Glucose und 0,55 gr. Schleimsäure.

Die Cotyledonen 2wöchentlicher etiolirter Keimpflanzen lieferten also nur $\frac{1}{10}$ der Glucose-Menge und nur $\frac{1}{28}$ der Schleimsäure-Menge, die bei gleicher Behandlung aus den zugehörigen Samen erhalten werden konnten; die Cotyledonen 3wöchentlicher Keimpflanzen lieferten eine noch geringere Glucose-Quantität, während die Schleimsäure-Ausbeute ungefähr die gleiche war, wie bei den 2wöchentlichen Keimpflanzen.

Diese Versuchsergebnisse führen zu der Schlussfolgerung, dass schon nach zweiwöchentlicher Vegetation der Keimpflanzen der von uns als Paragalactan bezeichnete Zellwandbestandtheil zum grössten Theil verbraucht war. Den Beweis dafür, dass der Verbrauch mit einer Auflösung des Paragalactans verbunden war, liefern die im Folgenden einander gegenübergestellten Zahlen, die bei Bestimmung der in Wasser, Alkohol und Aether unlöslichen stickstofffreien Stoffe in den ungekeimten Samen und in den Cotyledonen erhalten wurden:

1000 Stück entschälte Samen enthielten 29,94 gr. unlösl. N-freie Stoffe.

2000 » Cotyledonen 3wöchentl. Keimpflanzen enthielten 7,74 gr. unlösl. N-freie Stoffe.

Die in den obengenannten Lösungsmitteln unlöslichen stickstofffreien Stoffe (Paragalactan, Cellulose etc.) hatten sich also bis auf $\frac{1}{4}$ der ursprünglichen Menge verringert. Dass diese Verringerung durch den Verbrauch des Paragalactans bedingt ist, kann im Hinblick auf die bei den Glucose- und Schleimsäure-Bestimmungen erhaltenen Zahlen nicht bezweifelt werden.

Dass diese Zahlen nicht als genaue, sondern nur als approximative Werthe anzusehen sind, wurde oben schon von

mir ausgesprochen. Die ihnen anhaftenden Fehler können aber nicht so gross sein, dass man um dieser Fehler willen die obigen Schlussfolgerungen irgendwie zu verändern hätte. Auch ist darauf aufmerksam zu machen, dass es sich hier nur um vergleichende Bestimmungen handelt, bei deren Ausführung die Samen und die Cotyledonen der Keimpflanzen nach den gleichen Methoden untersucht wurden. Eine kleine Verschiedenheit lag allerdings darin, dass die ungekeimten Samen mit verdünnter Alkalilauge behandelt wurden, die Cotyledonen der Keimpflanzen dagegen nicht (m. vgl. die oben über das Versuchsverfahren gemachten Angaben); gesetzt aber, dass dies von Einfluss war, so kann doch die Wirkung nur darin bestanden haben, dass durch das Alkali ein geringer Theil der in Wasser, Alkohol und Aether unlöslichen stickstofffreien Stoffe aufgelöst wurde, und dass in Folge davon die Differenz zwischen dem Gehalt der ungekeimten Samen und demjenigen der Keimpflanzen-Cotyledonen an solchen Stoffen noch etwas geringer erschien, als sie in Wirklichkeit war. Auch kann nicht der Einwand erhoben werden, dass bei der Behandlung der zerriebenen Cotyledonen mit Wasser durch Fermente, die sich während des Keimungsvorganges gebildet hatten, ein Theil des Paragalactanes gelöst worden sei; denn solche Fermente mussten durch das Auskochen der Cotyledonen mit Weingeist und durch das Uebergiessen der bei der Extraction mit Aether und Alkohol verbliebenen Masse mit kochendem Wasser unwirksam gemacht sein.

Die bei den Glucose- und Schleimsäure-Bestimmungen erhaltenen Zahlen (vgl. o.) geben mir noch zu einigen Bemerkungen Veranlassung. Jene Zahlen lassen erkennen, dass die Schleimsäure-Menge sich rascher verringert hat, als die Glucose-Menge; auch lieferten die Cotyledonen nach 3wöchentlicher Vegetation der Keimpflanzen noch ebenso viel Schleimsäure, als nach 2wöchentlicher Entwicklung. Diese Erscheinungen erklären sich, wenn man entsprechend der oben schon ausgesprochenen Vermuthung annimmt, dass das Paragalactan kein einheitlicher Körper ist, sondern aus einem Galactan und einem Araban besteht, und dass während der Ent-

wicklung der Keimpflanzen das Galactan, bei dessen Oxydation Schleimsäure entsteht, schneller bis auf einen geringen Rest aufgezehrt wurde, als das Araban.

Es liegt übrigens auch im Bereich der Möglichkeit, dass die Cotyledonen neben dem Paragalactan noch einen anderen zu den Hemicellulosen zu rechnenden Bestandtheil in geringer Menge enthielten, welcher bei der Entwicklung der Keimpflanzen langsamer verbraucht wurde, als das Paragalactan.

II. Versuche mit *Lupinus luteus*.

1116 Stück	entschälte ungekeimte Samen	wogen 95,2 gr. ¹⁾ .
1400 »	Cotyledonen 2wöchentlicher Keimpflanzen	» 19,26 » ²⁾ .
1000 »	» » » » »	» 13,80 »
100 »	» » » » »	» 1,46 »
1140 »	» » 3wöchentlicher »	» 13,66 »
200 »	» » » » »	» 2,54 »

Bestimmung der in Wasser, Alkohol und Aether unlöslichen stickstofffreien Stoffe.

a) Samen.

Angewendet wurden je 8 gr. des Samenpulvers (= 94 Stück Samen). Erhalten wurden:

1. 1,435 gr. Rückstand,
2. 1,502 » »

Mittel 1,468 gr. Rückstand.

Nachdem die Rückstände vereinigt waren, wurden darin Stickstoff- und Aschen-Gehalt bestimmt. Gefunden wurden 2,05% Stickstoff = 12,81% Protein und 8,63% Asche³⁾. Nach

¹⁾ Es wurde ferner noch festgestellt, dass 200 Stück Samen 17,72 gr. wogen; den Berechnungen sind aber die obigen Zahlen zu Grunde gelegt worden

²⁾ Die Cotyledonen der Keimpflanzen von *Lupinus luteus* wurden zuerst unter absolutem Alkohol entwässert, dann über conc. Schwefelsäure getrocknet.

³⁾ Analytische Belege:

0,477 gr. des Rückstandes	gaben 0,0105 gr. N (= 7,5 cbcm. Alkalilänge).
0,480 » » » »	0,0091 » » (= 6,5 » » » »).
0,335 » » » »	0,0285 » Asche.
0,498 » » » »	0,0435 » »

Abzug von Protein und Asche bleiben 1,153 gr. stickstofffreie Stoffe übrig. Demnach enthielten 1000 Stück ungekeimte Samen 12,27 gr. unlösliche stickstofffreie Stoffe.

b) Cotyledonen dreiwöchentlicher Keimpflanzen.

200 Stück Cotyledonen (= 2,54 gr.) lieferten 1,027 gr. Rückstand. Letzterer enthielt 6,56% Stickstoff = 41,00% Protein und 4,05% Asche¹⁾.

Nach Abzug von Protein und Asche bleiben 0,5643 gr. stickstofffreie Stoffe übrig. Demnach enthielten 2000 Stück Cotyledonen 5,643 gr. unlösliche stickstofffreie Stoffe.

Bestimmung der beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure aus den unlöslichen stickstofffreien Stoffen entstandenen Glucose und der bei Oxydation der letzteren gebildeten Schleimsäure.

a) Samen.

Angewendet wurden 25,0 gr. des Samenpulvers (= 293 Stück Samen). Die Glucose-Lösung brachten wir auf 1000 cbcm. Die Glucose-Bestimmung ging verloren und wurde durch eine andere (vgl. w. u.) ersetzt. 900 cbcm. der Glucose-Lösung lieferten beim Eindunsten und Erhitzen des Rückstandes mit Salpetersäure 0,880 gr. Schleimsäure (nach Abzug der darin enthaltenen 0,006 gr. Asche in Rechnung gestellt). Demnach würden 1000 Stück Samen 3,34 gr. Schleimsäure geliefert haben.

Zur Bestimmung der Glucose wurden 8,0 gr. des Samenpulvers (= 94 Stück Samen) verwendet. Die Glucose-Lösung wurde auf 300 cbcm. gebracht; 50 cbcm. davon gaben:

1. 0,2264 gr. Cu = 0,1166 gr. Glucose.
2. 0,2174 » » = 0,1118 » »

Mittel 0,1142 gr. Glucose.

Demnach würden 1000 Stück Samen 7,29 gr. Glucose geliefert haben.

¹⁾ Analytische Belege:

0,4845 gr. des Rückstands gaben 0,03178 gr. N (= 22,7 cbcm. Alkalilauge).
0,2100 » » » » 0,0085 » Asche.

b) Cotyledonen zweiwöchentlicher Keimpflanzen.

Angewendet wurden 1000 Cotyledonen (= 13,80 gr.). Die gesammte Glucose-Lösung wurde eingedunstet, der Rückstand mit Salpetersäure erhitzt. Erhalten wurden 0,188 gr. Schleimsäure. Demnach würden 2000 Cotyledonen 0,376 gr. Schleimsäure geliefert haben. — Die Glucose-Menge wurde nicht bestimmt.

c) Cotyledonen dreiwöchentlicher Keimpflanzen.

Angewendet wurden 1140 Stück Cotyledonen (= 13,66 gr.). Die Glucose-Lösung brachten wir auf 1000 ccm. 100 ccm. davon wurden mit etwas Bleiessig versetzt und dann auf 110 ccm. aufgefüllt. 90 ccm. der filtrirten Flüssigkeit gaben 0,080 gr. Cu = 0,0408 gr. Glucose; die gesammte Glucose-Lösung enthielt demnach 0,498 gr. Glucose. 900 ccm. der ursprünglichen Flüssigkeit wurden eingedunstet, der Rückstand mit Salpetersäure erhitzt; erhalten wurden 0,179 gr. Schleimsäure (nach Abzug der darin enthaltenen 0,02 gr. Asche in Rechnung gestellt). Demnach würden 2000 Stück Cotyledonen bei gleicher Behandlung 0,874 gr. Glucose und 0,349 gr. Schleimsäure geliefert haben.

Schlussfolgerungen.

Stellen wir die von den ungekeimten Samen und von den Cotyledonen der etiolirten Keimpflanzen gelieferten Glucose- und Schleimsäure-Quantitäten einander gegenüber, so ergibt sich Folgendes:

- 1000 Stück entschälte Samen lieferten 7,29 gr. Glucose und 3,34 gr. Schleimsäure.
- 2000 Stück Cotyled. 2wöchentl. Keimpfl. lieferten 0,38 gr. Schleimsäure.
- 2000 » » 3wöchentl. » » 0,88 gr. Glucose und 0,35 gr. Schleimsäure.

Die Resultate sind auch hier unzweideutig. Die Cotyledonen dreiwöchentlicher Keimpflanzen haben nur ca. $\frac{1}{8}$ der Glucosemenge und nur ca. $\frac{1}{10}$ der Schleimsäuremenge geliefert, die aus den zugehörigen ungekeimten Samen erhalten wurde. Daraus ist zu schliessen, dass während der Entwicklung der Keimpflanzen das Paragalactan grösstentheils verbraucht

wurde. Dass dieser Verbrauch mit einer Auflösung des genannten Stoffs verbunden war, ist aus den im folgenden einander gegenübergestellten Zahlen zu ersehen, welche bei der Bestimmung der in Wasser, Alkohol und Aether unlöslichen Stoffe (Cellulose, Paragalactan etc.) in den Samen und in den Cotyledonen erhalten wurden:

1000 Stück entschälte Samen enthielten 12,27 gr. unlösl. N-freie Stoffe.
 2000 Cotyledonen 3wöchentl. Keimpflanzen enthielten 5,64 gr. unlösl. N-freie Stoffe.

Dass die Abnahme sowohl der Glucose- und Schleimsäure-Quantitäten als der unlöslichen stickstofffreien Stoffe bei *Lupinus luteus* nicht so gross war, wie bei *Lupinus angustifolius*, erklärt sich aus dem ungleichen Paragalactangehalt der beiden Samen-Arten, dass der Gehalt an dieser Substanz bei *Lupinus angustifolius* weit grösser sein muss, als bei *Lupinus luteus*, lässt sich auch schon aus mikroskopischen Beobachtungen schliessen; bei ersteren Samen zeigt das Cotyledonargewebe weit stärkere Wandverdickungen, als bei letzterem.

Ebenso wie bei *Lupinus angustifolius* lieferten auch bei *Lupinus luteus* die Cotyledonen 3wöchentlicher Keimpflanzen fast ebenso viel Schleimsäure, wie die Cotyledonen 2wöchentlicher Pflänzchen. In Betreff der Erklärung dieser Erscheinung verweise ich auf das oben bei *Lupinus angustifolius* Gesagte.

Auf Grund der im Vorigen beschriebenen und der früher von E. Steiger und mir ausgeführten Versuche muss ich die von Th. Elfert in Bezug auf die Beschaffenheit der Wandverdickungen des Cotyledonargewebes von *Lupinus luteus* und *angustifolius* aus mikroskopischen Beobachtungen abgeleiteten Schlussfolgerungen für völlig unrichtig erklären. Bei den genannten Lupinusarten schliessen diese Wandverdickungen eine zu den Kohlenhydraten zu rechnende Substanz ein, die von der gewöhnlichen Cellulose ganz verschieden ist und während der Entwicklung der Keimpflanzen zum grössten Theil aufgezehrt wird; sie ist demnach als Reservestoff anzusehen.

Ich kann es kaum als meine Aufgabe betrachten, den Gründen nachzuforschen, aus denen Elfert zu dem entgegen-

gesetzten Resultat gekommen ist; im Hinblick aber auf die Thatsache, dass der genannte Autor durch seine mikroskopischen Beobachtungen zu Schlussfolgerungen gelangte, die den früher von Nadelmann und Tschirch (*loc. cit.*) auf gleichem Wege gewonnenen diametral entgegengesetzt sind, muss sich die Frage aufdrängen, ob vielleicht in diesem Falle bei der Deutung der dem Beobachter unter dem Mikroskop erscheinenden Bilder subjektive Eindrücke eine nicht unwesentliche Rolle spielen. Ich mache dabei darauf aufmerksam, dass auch Elfert bei den Keimpflanzen der Lupinusarten, nachdem dieselben eine gewisse Entwicklung erlangt haben, unter dem Mikroskop Veränderungen der verdickten Zellwände des Cotyledonargewebes erkennt; er will diese Veränderungen aber im Gegensatz zu den anderen Beobachtern (Nadelmann, Tschirch und C. Cramer) nicht auf eine Auflösung der Wandverdickungen zurückführen, sondern sie nur als Differenzierungs-Erscheinungen in den Zellwänden, bedingt durch Wachstumsvorgänge, deuten.

Es sei hier noch angeführt, dass in seiner Abhandlung über die Einwirkung der Diastase-Fermente auf die Reserve-Cellulose auch J. Grüss¹⁾ einen Verbrauch des Paragalactans während des Keimungsvorgangs annimmt. Er erblickt in der Umwandlung dieses Zellwandbestandtheils, bei welcher nach seiner Ansicht Galactose und Arabinose entstehen können, ein Beispiel für den von ihm mit dem Namen « Allöolyse » bezeichneten Process.

Zum Schluss sei noch darauf aufmerksam gemacht, dass die in Bezug auf das Schicksal des Paragalactans während des Keimungsvorgangs aus unseren Versuchen abgeleiteten Schlussfolgerungen in Einklang mit den von uns über das chemische Verhalten des genannten Zellwandbestandtheiles gemachten Erfahrungen stehen. Wir haben bewiesen, dass das Paragalactan gegen Lösungs- und Oxydationsmittel eine ungleich geringere Widerstandsfähigkeit besitzt, als die gewöhnliche Cellulose; gegen heisse verdünnte Mineralsäuren ist es nicht viel resistenzfähiger als das Stärkemehl. Dass eine Substanz von solchem Verhalten bei den mit dem Keimungs-

¹⁾ Berichte der D. Botan. Gesellschaft, Bd. 12, S. 60.

vorgang verbundenen Stoffumwandlungen intakt bleibt, muss a priori für unwahrscheinlich erklärt werden.

Aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen ist zu ersehen, dass der von mir als Paragalactan oder Paragalactoaraban bezeichnete Zellwandbestandtheil während der Entwicklung der Keimlinge zum grössten Theil aufgezehrt wird. Neben dem Paragalactan enthalten die Zellwandungen des Cotyledonargewebes von *Lupinus luteus* und *Lupinus angustifolius* eine Substanz, welche nach ihren Eigenschaften für gewöhnliche Cellulose erklärt werden kann¹⁾. Es war von Interesse, auch das Schicksal dieses Zellwandbestandtheils während des Keimungsvorgangs zu verfolgen. Ich habe daher in den ungekeimten entschälten Samen und in den Cotyledonen 2 $\frac{1}{2}$ wöchentlicher etiolirter Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius* Cellulosebestimmungen nach der Hoffmeister'schen Methode ausgeführt. Sie lieferten folgende Resultate²⁾:

	Die Trockensubstanz enthält:
Ungekeimte entschälte Samen	1,74 % Cellulose.
Cotyledonen 2 $\frac{1}{2}$ wöchentlicher Keimpflanzen	9,30 » »

¹⁾ M. vgl. die in den oben citirten Abhandlungen darüber von mir gemachten Mittheilungen. Es sei dazu noch bemerkt, dass es zweifelhaft ist, ob Paragalactan und Cellulose die einzigen kohlenhydratartigen Bestandtheile der Zellwandungen des Cotyledonargewebes der *Lupinus*-Arten sind. Es ist möglich, dass daneben noch eine dritte Substanz solcher Art sich vorfindet, wenn auch nur in geringer Menge.

²⁾ Analytische Belege:

a) Samen.

4,701 gr. Trockensubst. gaben	0,085 gr. =	1,81 % Cellulose.
4,701 » » »	0,078 » =	1,66 » »
		Mittel 1,74 % Cellulose.

b) Cotyledonen der Keimpflanzen.

4,561 gr. Trockensubst. gaben	0,421 gr. =	9,33 % Cellulose.
4,561 » » »	0,418 » =	9,26 » »
		Mittel 9,30 % Cellulose.

Dass der Cellulosegehalt der von den Schalen befreiten Samen von *Lupinus angustifolius* ein sehr niedriger ist, lässt sich schon aus den von mir früher gemachten Angaben ersehen (vgl. diese Zeitschrift, Bd. 19, S. 39). Die Cellulose ist nach Abzug der darin enthaltenen Asche in Rechnung gestellt worden.

Berechnet man unter Zugrundelegung dieser Zahlen die Cellulosemengen, welche sich in 1000 Stück entschälter ungekeimter Samen und in 2000 Stück Cotyledonen der Keimpflanzen vorfinden, so ergibt sich Folgendes¹⁾:

1000 Stück ungekeimte entschälte Samen enthalten 1,77 gr. Cellulose.
2000 » Cotyledonen 2¹/₂wöchentlicher Keimpflanzen enthalten 2,01 gr. Cellulose.

Diese Versuchsergebnisse entsprechen der Annahme, dass die in den Zellwandungen der Cotyledonen sich findende Cellulose während der Entwicklung der Keimpflanzen nicht zum Verbrauch gelangte. In den Cotyledonen von 1000 Stück etiolirter Keimpflanzen ist sogar etwas mehr Cellulose vorgefunden worden als in 1000 Stück ungekeimter Samen; doch beträgt das Plus nur 0,24 gr. — ein Betrag, der als unwesentlich angesehen werden kann. Bekanntlich liefern die zur Cellulosebestimmung verwendbaren Methoden nicht sehr genaue Zahlen; es kann daher durch Versuchsfehler bedingt worden sein, dass in den Cotyledonen der Keimpflanzen etwas mehr Cellulose gefunden wurde, als in den ungekeimten Samen.

Wenn während des Keimungsprocesses die gewöhnliche Cellulose nicht verbraucht wird, so muss der procentige Gehalt der Cotyledonen an dieser Substanz sich in dem Maasse steigern, als die Proteinstoffe, das Paragalactan und andere zur Ernährung der Keimlinge dienende Bestandtheile der Cotyledonen aufgezehrt werden. Dieser Erwartung entspricht der Befund; der procentige Cellulosegehalt der Cotyledonen betrug, wie aus den oben angegebenen Zahlen zu ersehen ist, 9,30%, während in den ungekeimten Samen im Mittel nur 1,74% Cellulose gefunden wurden.

¹⁾ 1000 Stück ungekeimte entschälte Samen wogen in lufttrockenem Zustande 108,5 gr. und enthielten 102,0 gr. Trockensubstanz. 2000 Stück Cotyledonen 2¹/₂wöchentlicher Keimpflanzen wogen in lufttrockenem Zustande 23,93 gr. und enthielten 21,59 gr. Trockensubstanz.