

# Ueber das Vorkommen von Nitraten in Keimpflanzen.

Von

**E. Schulze.**

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.  
(Der Redaction zugegangen am 28. März 1896.)

Ueber das Auftreten von Nitraten in etiolirten Keimpflanzen habe ich zuerst im Jahre 1885 eine Mittheilung gemacht<sup>1)</sup>; sie betraf das Vorkommen von Kaliumnitrat in den Keimpflanzen von *Cucurbita pepo*. In der gleichen Keimpflanzenart hat später E. Belzung<sup>2)</sup> Kaliumnitrat aufgefunden. Da er aus seinen Beobachtungen die Schlussfolgerung ableitet, dass in diesen Pflänzchen statt der gewöhnlich während des Keimungsvorgangs aus den Protein-substanzen entstehenden Amide Nitrate gebildet werden<sup>3)</sup>, so sehe ich mich veranlasst, einige theils schon vor vielen Jahren, theils erst in neuerer Zeit über diesen Gegenstand von mir und meinen Mitarbeitern gemachte Beobachtungen hier mitzutheilen.

<sup>1)</sup> Journ. f. prakt. Chemie [2], Bd. 32, S. 451.

<sup>2)</sup> Annales des sciences naturelles, VII<sup>e</sup> série, Botanique, Tom. XV, p. 249 (Jahrgang 1892).

<sup>3)</sup> Nachdem Belzung auf S. 251 seiner Abhandlung mitgetheilt hat, dass er in den Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* ausser Kaliumnitrat nur eine ganz unwesentliche Quantität von Asparagin und nur eine Spur von Leucin gefunden hat, fährt er folgendermaassen fort: «Le *Cucurbita pepo*, loin de répartir son azote de réserve en ces formes assimilables ordinaires, tellement fréquentes même, qu'elles semblent constituer le règle, le minéralise en le nitrifiant, en sorte que les jeunes plantules en voie de croissance reçoivent de leurs organes de réserve le même nitrate, que la plante adulte puise si abondamment dans le sol».

Wir fanden Nitrate zuerst in etiolirten Kürbiskeimlingen, die in einem kalkhaltigen Quarzsand in einem sehr warmen Raume<sup>1)</sup> gezogen worden waren. Ein aus den getrockneten Keimpflanzen mit Weingeist dargestellter Extract lieferte beim Erkalten Krystalle von Kaliumnitrat. Da es für möglich erklärt werden musste, dass in diesem Falle das Nitrat aus dem Sande in die Pflanzen übergegangen war, so untersuchten wir noch einige Kulturen der gleichen Keimpflanzenart, welche in zuvor mit destillirtem Wasser ausgewaschenem Sand gezogen und während ihres Wachstums nur mit solchem Wasser begossen worden waren; ihre Vegetationsdauer hatte 2—3 Wochen betragen. Sie zeigten sehr grosse Schwankungen im Nitratgehalt. In zwei Kulturen von 2wöchentlichen bezw. 3wöchentlichen Pflänzchen fanden wir nach der Tiemann'schen Modifikation der Schlösing'schen Methode<sup>2)</sup> 1,564 bezw. 0,614% Kaliumnitrat (angegeben in Procenten der

<sup>1)</sup> Die Temperatur dieses Raumes sank nicht unter 25°.

<sup>2)</sup> Die Schlösing'sche Methode und ihre Modifikationen sind bekanntlich zur Bestimmung der Salpetersäure bei Gegenwart organischer Substanzen vorzugsweise empfohlen worden. Vor Kurzem haben Pfeiffer und Thurmann (Landw. Versuchsstationen, Bd. 46, S. 1) gezeigt, dass die Gegenwart von Amidn, die durch Säuren unter  $\text{NH}_3$ -Abspaltung zersetzt werden (Harnstoff etc.), einen Fehler bedingen kann, weil  $\text{NH}_3$  und  $\text{NO}$  unter Entstehung von freiem N auf einander einzuwirken vermögen; doch ist nach den von ihnen mitgetheilten Zahlen dieser Fehler, durch welchen das Resultat sich verringert, kein grosser. Kreuzler (Landw. Versuchsstationen, Bd. 31, S. 312) erhielt dagegen nach Schlösing's Methode auch bei Gegenwart von Asparagin für Salpeter gut stimmende Resultate. Bei Ausführung der Bestimmungen, deren Resultate oben mitgetheilt sind, wurden die getrockneten und zerkleinerten Keimpflanzen wiederholt mit heissem 85—90procentigem Weingeist extrahirt, die Extracte nach Zusatz von Kalkmilch eingedunstet, wobei die in die Extracte übergegangenen Antheile des Asparagins und Glutamins unter Ammoniakentwicklung zersetzt wurden, der Rückstand in Wasser aufgenommen, die trübe Flüssigkeit nach Zusatz von etwas Bleiessig auf ein bestimmtes Volumen gebracht und hierauf filtrirt, ein abgemessener Theil des Filtrats sodann in vorgeschriebener Weise mit Eisenchlorür und Salzsäure erhitzt. Falls den bei den Bestimmungen erhaltenen Zahlen kleine Fehler anhaften, so liegt darin doch kein Grund, die aus den Zahlen abgeleiteten Schlussfolgerungen zu ändern.

Keimpflanzen-Trockensubstanz), in zwei anderen 14-tägigen Kulturen dagegen nur Spuren von Nitraten. Schliesslich wurden noch zwei Kulturen untersucht, die in ausgeglühtem und sodann mit destillirtem Wasser ausgewaschenem Sande gezogen worden waren; ihr Gehalt an Kaliumnitrat berechnete sich auf Grund der nach der erwähnten Methode erhaltenen Resultate auf 0,700 bzw. 0,303%.

Die in Form von Nitraten in diesen Pflänzchen enthaltene Stickstoffmenge betrug also in maximo nur 0,22% der Keimpflanzen-Trockensubstanz, was ungefähr 7% der im Ganzen in solchen Pflänzchen auf nichtproteinartige Verbindungen entfallenden Stickstoffquantität ausmacht<sup>2)</sup>.

Auch Keimpflanzen von *Lupinus luteus*, welche in reinem, zuvor mit destillirtem Wasser ausgewaschenem Sande gezogen worden waren, enthielten Nitrate; auch hier war aber der Nitratgehalt ein sehr schwankender. In einer Kultur, welche drei Wochen lang bei 18—20° vegetirt hatte, fanden wir 0,224% Kaliumnitrat. In einer zweiten, in der gleichen Weise gezogenen Kultur war der Nitratgehalt noch etwas geringer; dagegen enthielten Keimpflanzen der gleichen Art, welche etwas länger als drei Wochen in einem sehr warmen Raum (bei ca. 25°) vegetirt hatten, nicht weniger als 3,03% Kaliumnitrat<sup>3)</sup>.

Es zeigte sich, dass die etiolirten Lupinenkeimlinge nicht vom Beginn ihres Wachsthums an Nitrate enthielten. Im Saft von 9-tägigen Pflänzchen vermochte ich mittelst Diphenylamin-Schwefelsäure noch keine Nitrate nachzuweisen, wohl aber im Saft 14-tägiger Pflänzchen der gleichen Kultur.

<sup>1)</sup> Die meisten dieser Zahlen sind schon im Jahre 1885 in der oben citirten Abhandlung (Journ. f. prakt. Chemie [2], Bd. 32) von mir mitgetheilt worden.

<sup>2)</sup> Diese Stickstoffquantität betrug ca. 3,0% (angegeben in Procenten der Keimpflanzen-Trockensubstanz).

<sup>3)</sup> Die für den Kaliumnitrat-Gehalt der Keimpflanzen von *Lupinus luteus* gefundenen Zahlen sind in Procenten der lufttrockenen Keimpflanzen (mit ca. 90% Trockensubstanz) angegeben. Diese Zahlen sind schon in den Berichten der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 20, S. 1500 von mir mitgetheilt worden.

Die Pflänzchen einer anderen Kultur gaben nach 8—9tägiger Vegetationsdauer sehr schwache, nach 14tägiger Vegetationsdauer dagegen starke Salpetersäure-Reaction mit Diphenylamin. Aus 2 $\frac{1}{2}$ —3 wöchentlichen Keimpflanzen solcher Art vermochte ich übrigens auch Kaliumnitrat in Krystallen abzuscheiden<sup>1)</sup>.

Die im Vorigen mitgetheilten Beobachtungen mussten zu der Vermuthung führen, dass die Nitrate keine normalen Bestandtheile der Keimpflanzen seien. Es gelang bald, noch weitere Stützen für diese Annahme aufzufinden. Der Saft von etiolirten Lupinenkeimlingen, welche nicht in Sand, sondern auf Gazenetzen in destillirtem Wasser<sup>2)</sup> gezogen worden waren, gab mit Diphenylamin-Schwefelsäure keine Salpetersäure-Reaction<sup>3)</sup>. Bei dieser Prüfung kamen Keimpflanzen zur Verwendung, deren Vegetationsdauer 14, 18 und 20 Tage betragen hatte. In solchen Pflänzchen vermochten wir auch nach der Schlösing'schen Methode keine Nitrate nachzuweisen.

Es war zu prüfen, ob auch in den auf Gazenetzen gezogenen Kürbiskeimlingen die Nitrate fehlten. Der erste Versuch, den ich zu diesem Zwecke anstellte, blieb resultatlos; die Kürbiskeimlinge, mit denen ich damals experimentirte, entwickelten sich auf Gazenetzen so schlecht, dass ich sie nicht verwenden konnte. Im letzten Jahre wiederholte ich jedoch den Versuch mit zwei anderen Mustern von Kürbissamen<sup>4)</sup> und erhielt

<sup>1)</sup> Ich verwendete dazu die Mutterlaugen, welche nach Abscheidung der Amidosäuren (Phenylalanin und Amidovaleriansäure) aus einem weingeistigen Extract übrig geblieben waren.

<sup>2)</sup> Ueber das bezügliche Verfahren sei hier Folgendes angegeben: Die zuvor mit Paraffin getränkten Gazenetze wurden über flache, mit destillirtem Wasser gefüllte Glasschalen gespannt. Die zwischen feuchtem Filtrirpapier zum Keimen gebrachten Samenkörner wurden dann auf diesen Gazenetzen so aufgesteckt, dass ihre Würzelchen durch die Oeffnungen der Gaze in das Wasser hineinreichten.

<sup>3)</sup> Dass das Vorhandensein der organischen Saftbestandtheile den Nachweis der Salpetersäure durch Diphenylamin nicht beeinträchtigte, wurde durch besondere Versuche festgestellt. Der Saft wurde aber stets von der Prüfung durch Erhitzen von den coagulirbaren Eiweissstoffen befreit.

<sup>4)</sup> Diese Samen wurden vom Lieferanten als «Feld-Kürbis» bezeichnet.

nun auch auf Gaze netzen sehr gut entwickelte Keimpflanzen<sup>1)</sup>. Nachdem dieselben ca. 14 Tage lang im Dunkeln vegetirt hatten, prüfte ich den aus ihnen ausgepressten, vom Albumin befreiten Saft mittelst Diphenylamin-Schwefelsäure auf Nitrate. Das Resultat war in allen Fällen ein ganz negatives; die Keimpflanzen waren also frei von Nitraten. Dagegen konnte ich aus dem Saft derselben durch Ausfällen mit Mercurinitrat leicht Glutamin und Tyrosin gewinnen<sup>2)</sup>.

Nitrate sind also kein constanter Bestandtheil der Keimpflanzen von *Cucurbita pepo*. Da nun diese Keimpflanzen Amide in reichlicher Menge enthalten, so ist die von Belzung aufgestellte Behauptung, dass in denselben die Amide durch Nitrate ersetzt seien, eine ganz irrthümliche. Belzung würde diesen Irrthum wohl vermieden haben, wenn er die schon vor vielen Jahren über den schwankenden Nitratgehalt jener Keimpflanzen von mir gemachten Angaben beachtet und wenn er nicht zur Prüfung der Keimpflanzen auf Amide sich unsicherer Methoden bedient hätte. Ich habe diese Methoden schon früher<sup>3)</sup> einer Besprechung unterworfen und kann hier auf das dort Gesagte verweisen.

Vom physiologischen Standpunkte aus musste es von vornherein für nicht sehr wahrscheinlich erklärt werden, dass in einer Keimpflanze statt der gewöhnlich beim Eiweisszerfall auftretenden Amide Nitrate sich bilden. Wollte die Pflanze den Stickstoff der zerfallenen Eiweisssubstanzen in Nitrate

<sup>1)</sup> Die Länge dieser Keimpflanzen betrug nach ca. 14tägiger Vegetationsdauer ohne die Wurzeln 16—20 cm.

<sup>2)</sup> Zur Darstellung dieser Stoffe verwendete ich den aus den Axenorganen der Keimpflanzen gewonnenen Saft. Dass daneben auch noch Leucin, Asparagin, Arginin, Vernin, Cholin und Xanthinkörper (Nucleinbasen) in den Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* sich finden, ist früher von uns nachgewiesen worden (Journ. f. prakt. Chemie, [2], Bd. 32, S. 433).

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. 20, S. 317. Ich habe dort schon darauf aufmerksam gemacht, dass Belzung von meinen Mittheilungen über die Bestandtheile der Kürbiskeimlinge nur die erste zu kennen scheint. Er glaubt daher auch, dass von ihm zuerst Nitrate in diesen Keimpflanzen nachgewiesen seien.

überführen und dann später die letzteren wieder zur Eiweissbildung verwenden, so würde dies Stoffumwandlungen erfordern, welche zusammen einen complicirten, viel Arbeit beanspruchenden Process bilden. Einfacher ist es, wenn die Pflanze beim Transport der Eiweissstoffe nur Amide bildet<sup>1)</sup>.

Es sei hier noch erwähnt, dass ich auch die auf Gaze- netzen gezogenen Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius*, *Lupinus albus*, *Vicia sativa*, *Ricinus communis* und *Zea Mays* mit negativem Resultat auf Nitrate geprüft habe. Zur Prüfung wurden Keimpflanzen verwendet, welche mindestens 14 Tage lang bei Lichtabschluss vegetirt hatten.

Schon in einer der oben citirten Abhandlungen<sup>2)</sup> habe ich die Thatsache zu erklären gesucht, dass in meinen Versuchen nur die in Sand gezogenen Keimpflanzen nitrathaltig wurden. Ich habe darauf aufmerksam gemacht, dass wahrscheinlich aus den Wurzeln der Keimpflanzen geringe Quantitäten stickstoffhaltiger Stoffe in den Sand übergingen, dass in letzterem auf Kosten dieser Stoffe sowohl wie auch auf Kosten abgestorbener Wurzelfasern vielleicht Nitrate sich bilden und später in die Keimpflanzen übergehen konnten. Doch habe ich in jener Abhandlung es für fraglich erklärt, ob man auf diese Quelle den relativ beträchtlichen Nitratgehalt einiger von uns untersuchten Kulturen, z. B. der bei 25° gezogenen Keimpflanzen von *Lupinus luteus*, zurückführen könne<sup>3)</sup>.

Inzwischen ist eine andere Quelle aufgedeckt worden, aus welcher den Keimpflanzen Nitrate zufließen konnten.

<sup>1)</sup> Ich habe mich in gleichem Sinne in dieser Zeitschrift, Bd. 20, S. 324, Anmerkung, ausgesprochen, doch ist die dort gegebene Begründung nicht einwurfsfrei und ich bitte sie daher durch die obige ersetzen zu wollen.

<sup>2)</sup> Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 20, S. 1500.

<sup>3)</sup> Auch der Nitratgehalt der in geglühtem Sand gewachsenen Pflänzchen würde sich nicht auf diese Quelle zurückführen lassen.

A. Baumann<sup>1)</sup> hat gezeigt, dass Leuchtgasflammen geringe Mengen von Stickstoffsäuren erzeugen. In Folge davon enthält nach seinen Versuchen die Luft nicht nur in Laboratoriumsräumen, sondern auch in Wohnzimmern, in denen Gasflammen brennen, geringe Salpetersäure-Mengen. Stellt man in solchen Räumen reines Wasser in offenen Schalen auf, so nimmt dasselbe binnen relativ kurzer Zeit nachweisbare Quantitäten der genannten Säure aus der Luft auf; das Gleiche gilt für basische Substanzen, Calciumcarbonat und dergl., welche ebendasselbst längere Zeit mit der Luft in Berührung bleiben.

Der in unseren Versuchen verwendete Sand war, wie schon oben erwähnt wurde, kalkhaltig; auch wurde er selbstverständlich während der Entwicklung der Keimpflanzen feucht gehalten. Es ist möglich, dass er aus der Luft des Raumes, in welchem die Keimpflanzen gezogen wurden, Salpetersäure aufnahm und dass letztere in die Pflänzchen überging. Mit Hülfe dieser Annahme lässt sich insbesondere der relativ hohe Nitratgehalt der bei einer Temperatur von 25° gezogenen Keimpflanzen von *Lupinus luteus* erklären. Der Raum, in welchem diese Keimpflanzen sich befanden, wurde nämlich mit Hülfe einiger Gasflammen auf jene Temperatur gebracht<sup>2)</sup>. Wenn diese Flammen Salpetersäure erzeugten, so konnte bei der langen Dauer des Versuchs (3 Wochen) der Sand, in welchem die Pflänzchen vegetirten, vielleicht eine nicht ganz unbedeutliche Quantität jener Säure aufnehmen. Es ist dabei noch zu beachten, dass im Vergleich mit dem Trockengewicht der Pflänzchen das Gewicht des verwendeten Sandes ein sehr bedeutendes war, so dass ein sehr geringer Procentgehalt des letzteren an Nitraten hinreichen kann, um zu bewirken, dass die im Sande wurzelnden Pflänzchen relativ reich an Nitraten wurden.

<sup>1)</sup> Landwirthsch. Versuchsstationen, Bd. 35, S. 237.

<sup>2)</sup> Bei den bei einer Temperatur von 18—20° gezogenen Keimpflanzen, welche sich als weit ärmer an Nitrat erwiesen, kam eine solche Wärmequelle nicht zur Verwendung. Auch wurde der Raum, in welchem diese Pflänzchen sich während ihrer Entwicklung befanden, nicht für chemische Arbeiten benutzt.

Bei den auf Gaze netzen in destillirtem Wasser gezogenen Keimpflanzen konnte diese Salpetersäurequelle kaum von Einfluss sein, da die Gefässe, in denen diese Keimpflanzen sich befanden, behufs des Lichtabschlusses in geschlossenen Schränken aufgestellt waren; auch wurden in dem betreffenden Zimmer nur selten und nur für kurze Zeit Gasflammen angezündet.

Der in jenen Versuchen verwendete Sand enthielt Nitrate, nachdem die Keimpflanzen in ihm vegetirt hatten, obwohl er vor der Verwendung mit destillirtem Wasser ausgewaschen worden war.

Ob die in den Keimpflanzen vorgefundenen Nitrate ausschliesslich den im Vorigen besprochenen Quellen entstammen, das ist eine Frage, die ich nicht mit Sicherheit zu beantworten vermag. Selbstverständlich aber kann ein Nitrat nur dann für ein Stoffwechselproduct einer Keimpflanze erklärt werden, wenn die Versuchsbedingungen so getroffen waren, dass es nicht von aussen in die Pflanze hineingelangen konnte.