

Zeitschrift: Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse

Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft

Band: 62 (1952)

Artikel: Natur und Verteilung der löslichen Kohlehydrate im Erbsenkeimling. 2. Mitteilung : qualitative und quantitative Bestimmung der einfachen Zucker durch Papierchromatographie

Autor: Wanner, H.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-43611>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 17.02.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Natur und Verteilung der löslichen Kohlehydrate im Erbsenkeimling

2. Mitteilung: Qualitative und quantitative Bestimmung der einfachen Zucker durch Papierchromatographie¹

Von *H. Wanner*

Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich

Eingegangen am 28. Dezember 1951

In einer vorangehenden Arbeit (Wanner, 1950 a) konnte gezeigt werden, daß im noch nicht assimilierenden Erbsenkeimling die Kotyledonen einen großen Überschuß an nichtreduzierenden löslichen Kohlehydraten (Rohrzucker), verglichen mit Hexosen, aufweisen. Die Gesamtkonzentration an nichtreduzierenden Zuckern ist in den Kotyledonen ferner größer als in der Keimlingsachse. Die Hexosenkonzentration ist in den Kotyledonen jedoch kleiner als in der Keimlingsachse. Es besteht somit für Rohrzucker (nach den alten Untersuchungen von Schultz das einzige nichtreduzierende Kohlehydrat in Erbsensamen) ein Konzentrationsgefälle vom Ort der Stärkemobilisierung zum Verbrauchsor, woraus mit einiger Wahrscheinlichkeit auf dessen Natur als Wanderzucker geschlossen werden kann. Wird der Zuckergehalt von Wurzel und Sproß aber in kleinen Zonen bestimmt und nicht einfach gesamthaft für das ganze Organ, so zeigt es sich, daß in beiden Achsenorganen das Konzentrationsgefälle sowohl für Hexosen wie für nichtreduzierende Disaccharide basalwärts gerichtet ist, somit entgegen der Wanderungsrichtung mindestens einer dieser Zuckergruppen. Bei der Besprechung dieser Ergebnisse wurde darauf hingewiesen, daß daraus noch nicht auf eine Wanderung entgegen dem Konzentrationsgefälle gefolgt werden muß. Die gemessene Konzentration der Kohlehydrate in den verschiedenen Zonen der Keimlingsachse bezieht sich auf den gesamten Querschnitt der Achse und wird somit kaum der Konzentration im Transportsystem proportional sein. Die für die Erklärung des Transportmechanismus wichtige Frage, ob im Erbsenkeimling eine Kohlehydratwanderung gegen das Konzentrationsgefälle erfolgt, kann somit einmal nur dann beantwortet werden, wenn es gelingt, die Zuckerkonzentrationen in den Leitelementen und in den übrigen Geweben getrennt zu ermitteln. Diese Aufgabe wird schwierig durchzuführen

¹ 1. Mitteilung: Wanner (1950 a).

sein. Eine weitere unumgängliche Voraussetzung für die Lösung der Rätsel um den Stofftransport in der Pflanze ist aber die quantitative Bestimmung nicht nur von ganzen Kohlehydratklassen, wie reduzierenden und nichtreduzierenden Zuckern, sondern der einzelnen Zucker selbst, aus denen sich diese Fraktionen aufbauen. Ein negatives Gefälle für Hexosen zum Beispiel braucht nicht zu bedeuten, daß für beide in Frage kommenden Hexosen, Glukose und Fruktose, ein solches negatives Gefälle besteht, sondern es wäre ebensogut möglich, daß ein positives Gefälle für den einen Zucker von einem stärkeren negativen Gefälle des andern Zuckers überlagert wird.

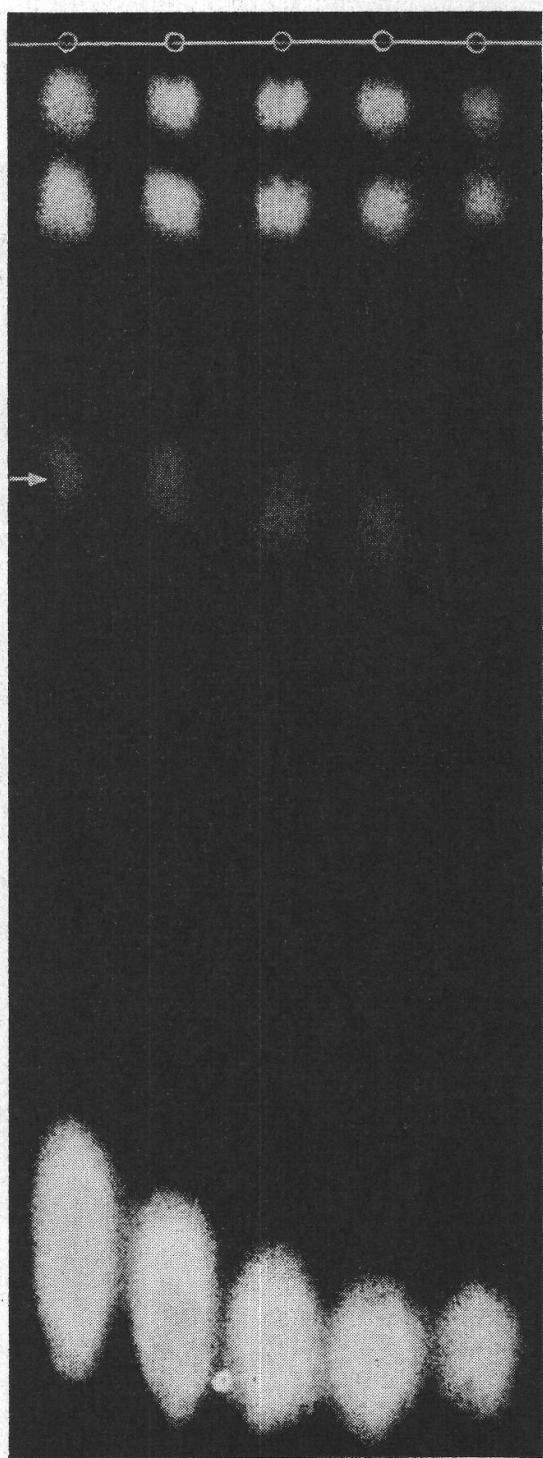
Mit der Möglichkeit, serienmäßige genaue Bestimmungen der löslichen Kohlehydraten aus Pflanzen durchzuführen, war es bis vor kurzem jedoch schlecht bestellt. Die analytischen Methoden der Zuckerchemie krankten in ihrer Anwendung auf Pflanzenextrakte bisher vor allem daran, daß sie ziemlich unspezifisch waren. Die auf dem Reduktionsvermögen der Hexosen beruhenden Verfahren erfaßten immer einen nicht leicht feststellbaren Anteil an nicht zuckerartigen Körpern. Die Disaccharidbestimmung durch Messung der Zunahme des Reduktionsvermögens nach Hydrolyse krankte am selben Übel. Die früher vielfach gepflogene Unterscheidung zwischen Glukose und Fruktose durch Polarimetrie ist sehr ungenau, da die Extrakte immer noch andere optisch aktive Substanzen enthalten usw. Diesen Schwierigkeiten entsprechend sind viele fundamentale Fragen des pflanzlichen Kohlehydratstoffwechsels und des Kohlehydrattransportes bis heute ungelöst. Ein charakteristisches Bild hierzu bieten die Darlegungen in Onslow's «Principles of Plant Biochemistry» (1931). Bis dahin vertreten zum Beispiel vier Autoren die Ansicht, daß Rohrzucker der Wanderzucker in der Zuckerrübe sei, sechs Forscher schreiben einer oder beiden Hexosen diese Rolle zu, und schließlich glaubt ein Untersucher, daß sowohl Saccharose wie auch Glukose und Fruktose in die Zuckerrübe einwandere. Die Unterschiede in der Beantwortung dieser und ähnlicher Fragen sind teilweise durch die Verwendung anderer Bezugsgrößen, in der ungenügenden analytischen Erfassung der verschiedenen Kohlehydrate, zum Teil auch durch verschiedene Interpretation bedingt.

Durch die Ausarbeitung brauchbarer qualitativer und quantitativer Methoden der Verteilungschromatographie für Zucker auf Papier sind die analytischen Schwierigkeiten weitgehend behoben worden (Partidge, 1948; Flood, Hirst and Jones, 1948, und Jeremy and Sherrwood, 1949). Es können mit diesen Verfahren nicht nur mit relativ geringem Arbeitsaufwand sämtliche löslichen Kohlehydrate voneinander getrennt und identifiziert werden, sondern ihre quantitative Erfassung in der Größenordnung von 10γ an aufwärts gelingt mit einer Genauigkeit, die der der makrochemischen Methoden kaum nachsteht, dabei aber streng spezifisch ist. Wir konnten im vorliegenden Fall

durch die Anwendung dieser Methoden Saccharose, Glukose, Fruktose und nicht identifizierte Oligosaccharide im Erbsenkeimling nachweisen und ihre Mengenverhältnisse feststellen.

Abbildung 1

Chromatogramm eines Extraktes aus den Kotyledonen von vier Tage alten Erbsenkeimlingen. In den Kreisen auf der Startlinie oben wurden aufgetragen von links nach rechts: 30; 24; 18; 12; 6; Lösungsmittel Äthylazetat-Essigsäure; Laufzeit zirka 48 Stunden; Flecken entwickelt mit Naphthoresorzin-Trichlorsäure; die untersten Flecken sind Saccharose (Fruktose würde sich weiter unten finden), die drei oberen Flecken (drittunterste Reihe sehr schwach, mit Pfeil bezeichnet) werden von Fruktosanen oder fruktosehaltigen Oligosacchariden gebildet. Das Chromatogramm zeigt, wie zu große Zuckermengen (über 20 Extrakt) die Wanderungsgeschwindigkeit hemmen.



Experimenteller Teil

Die Versuche wurden mit grünen runzeligen Auskernerbsen, Sorte «Expreß», durchgeführt. Nach Sterilisation in Ca-Hypochlorit kamen die Samen zum Quellen auf feuchtes Filtrerpapier und wurden dann in Quarzsand ausgelegt. Die Aufzucht der

Keimlinge erfolgte im Dunkeln, damit die Zuckerverteilung während der Keimung ungestört durch eine einsetzende Photosynthese verfolgt werden konnte. Die Temperatur betrug während der Versuche $20 \pm 2^\circ \text{C}$.

Die Extraktion der Zucker aus den ganzen Keimlingen oder den Keimlingsteilen wurde in folgender Weise durchgeführt. Unter Zusatz von etwas CaCO_3 wurden die Pflanzen mit heißem 80-%-Äthylalkohol im Turmix zerkleinert; der resultierende Brei wurde noch zwei bis drei Stunden auf dem Wasserbad warm gehalten, dann der Extrakt abfiltriert. Am gleichen Material wurde diese Extraktion noch zweimal wieder-

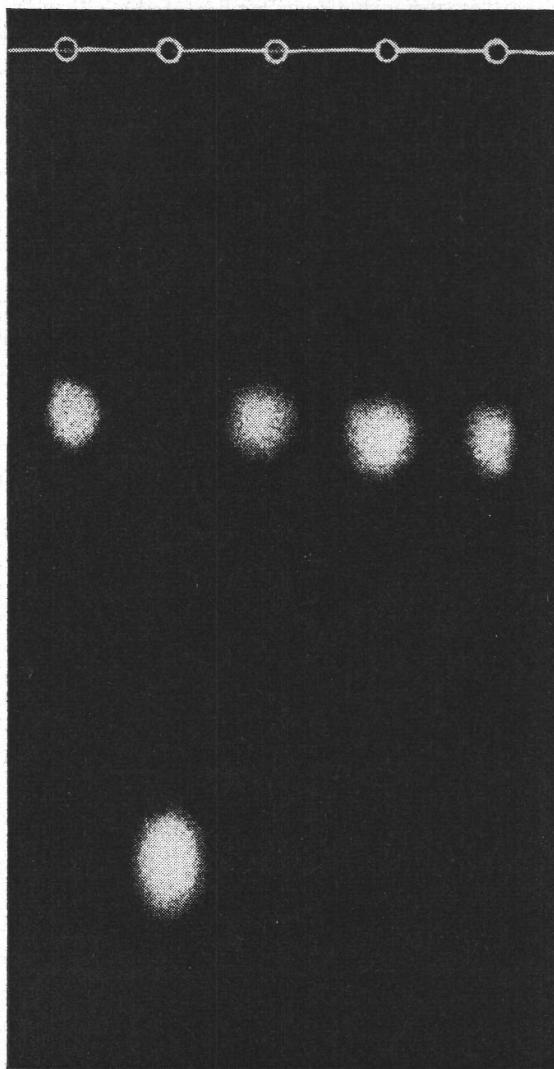


Abbildung 2

Chromatogramm eines alkoholischen Extraktes aus den Kotyledonen von vier Tage alten Erbsenkeimlingen. In den Kreisen auf der Startlinie wurden aufgetragen von links nach rechts: Extrakt, Fruktoselösung, Extrakt, Saccharoselösung. Lösungsmittel: Äthylazetat-Essigsäure; Laufzeit zirka 18 Stunden; Flecken entwickelt mit Trichloressigsäure-Naphthoresorzin. Das Chromatogramm zeigt schön das Fehlen von Fruktose im Extrakt, Saccharose ist vorhanden (Glukose ergibt keine Reaktion mit Naphthoresorzin).

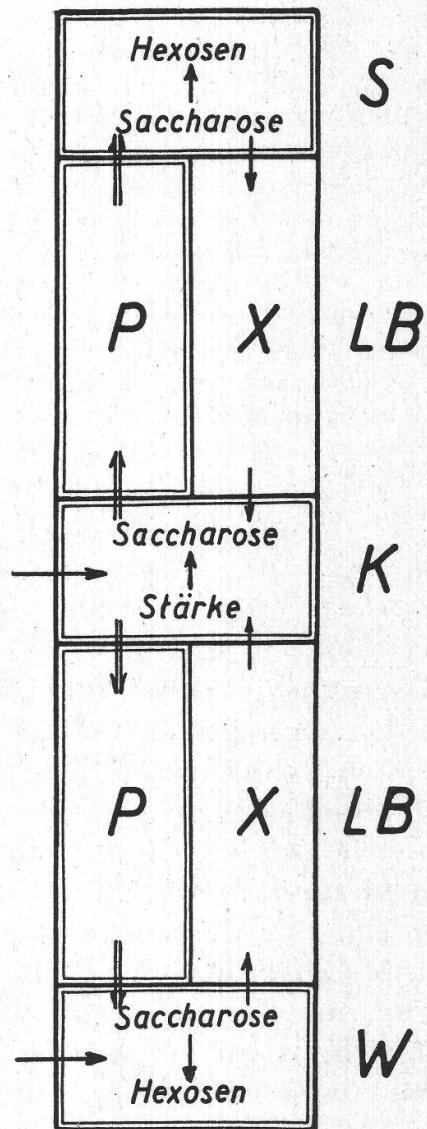
holt, so daß eine quantitative Erfassung der Zucker gewährleistet war; in einem Kontrollversuch erwies es sich, daß der dritte Extrakt nur noch Spuren reduzierender Substanzen enthielt. Nach dem Auffüllen auf ein bestimmtes Volumen kamen die Extrakte zur papierchromatographischen Analyse.

Es wurde immer mit absteigenden eindimensionalen Chromatogrammen gearbeitet. Als Chromatographierkammern kamen große Batteriegläser mit geschliffenem Rand zur Verwendung. Der luftdicht aufsetzbare Glasdeckel war in der Mitte durchlocht, damit die obere Phase des Lösungsmittels zugegeben werden konnte, ohne den Deckel zu heben. Schmale, im Querschnitt keilförmige Wannen aus Chromstahl, die an ihrer Schmalseite auf Gestellen aus demselben Material auflagen, enthielten das Lösungsmittel. Die Extrakte wurden mit automatischen Mikropipetten auf das Fil-

trierpapier (Whatman, Nr. 1) aufgetragen. Das Volumen schwankte je nach der Konzentration der Extrakte zwischen 3 und 50 μ l. Als Lösungsmittel kam in den meisten Fällen die obere Phase des Gemisches Äthylazetat-Eisessig-Wasser (J e r m y n and I s h e r w o o d , 1949). Die eingehängten Papierstreifen mußten zuerst 2 $\frac{1}{2}$ bis 3 Stunden mit dem Dampf der beiden Phasen äquilibriert werden, um befriedigende Chromatogramme zu erhalten. Nachher wurde das Lösungsmittel 15 bis 20 Stunden über das Papier fließen gelassen. Nach Trocknung der Chromatogramme erfolgte der

Abbildung 3

Schema des Kohlehydrattransportes im jungen etiolierten Erbsenkeimling (in Anlehnung an die bekannten Schemata von M ü n c h). K = Kotyledonen; LB = Leitbündel; P = Phloem; X = Xylem; S = Sproß; W = Wurzel. Die Doppelpfeile sollen den Rohrzuckerstrom bezeichnen, die einfachen Pfeile links in die Kotyledonen und in die Wurzel das einströmende Wasser, die einfachen Pfeile rechts im Xylem das in die Kotyledonen zurückströmende Wasser.



Nachweis der Zucker durch Ansprühen der Streifen mit Anilinphthalat (P a r t r i d g e , 1949) für Aldosen oder mit Naphthoresorzin-Trichloressigsäure (F l o o d , H i r s t a n d J o n e s , 1948) für Ketosen.

Von jedem Extrakt wurde zuerst ein Chromatogramm hergestellt, das nur der qualitativen Bestimmung der vorhandenen Zucker diente. Die Größe der dabei erhaltenen Flecken erlaubte die für die quantitative Analyse notwendige Extraktmenge abzuschätzen. Es mußte für diesen Zweck gewöhnlich eine Reihe von 3 bis 5 Extrakttropfen chromatographisch zerlegt werden. Auf demselben Streifen wurden die reinen Testsubstanzen, z. B. Glukose, oder Fruktose mit Saccharose, mitfließen gelassen. Dieser Randstreifen mit den Testzuckern wurde vom trockenen Chromatogramm

abgeschnitten und die Lage der Zucker mit einer der oben erwähnten Farbreaktionen festgestellt. Der restliche Teil des Chromatogramms mit den Zuckern des Extraktes wurde quer zur Fließrichtung in entsprechend breite Streifen zerlegt, die nur einen Zucker enthielten. Diesen Querstreifen wurden die Zucker durch eine Elution mit destilliertem Wasser entzogen. Die Eluierung erfolgte unter einer Glasglocke in wasser-dampfgesättigter Atmosphäre bei Raumtemperatur. Die zur Eluierung benötigte Menge Wasser wurde in besonderen Kontrollversuchen bestimmt. Die quantitative Bestimmung des im Eluat enthaltenen Zuckers geschah kolorimetrisch mit dem Reagens von S o m o g y i (1945) in Verbindung mit dem Farbentwicklungsmitte von N e l s o n (1944). Saccharose wurde vorher mit 1% Schwefelsäure im siedenden Wasserbad hydrolysiert, das Hydrolysat neutralisiert und ebenfalls kolorimetriert. Die Eichkurve wurde in diesem Falle so hergestellt, daß eine Konzentrationsreihe von Rohrzuckerlösungen ebenfalls mithydrolysiert und kolorimetriert wurde.

Zur Bestimmung kamen nur Glukose, Fruktose und Saccharose. Neben diesen drei Zuckern kommen allerdings in geringerer Menge noch drei höhere Oligosaccharide vor (Abb. 1). Einer dieser Zucker, der im Chromatogramm von Abb. 1 den zweit-obersten Fleck bildet, ist nach vorläufigen Untersuchungen wahrscheinlich Stachyose. Alle drei Zucker geben eine starke Reaktion mit Naphthoresorzin-Trichloressigsäure und nur eine schwache mit Anilinphthalat. Es handelt sich somit entweder um nur teilweise oder dann ganz aus Fruktose bestehende Oligosaccharide. Da sie weniger weit als alle geprüften Disaccharide wandern, sind es wahrscheinlich Tri- oder Tetrasaccharide.

Für die gewissenhafte Ausführung aller Analysen bin ich Frl. E. J u c k e r und Frl. E. P e r i n i zu Dank verpflichtet.

Resultate

Der erste zu betrachtende Versuch umfaßt eine Reihe von Analysen von Pflanzen steigenden Alters, vom ungekeimten Samen bis zu acht Tage alten Keimlingen (etioliert). Die Pflanzen wurden ohne Zerlegung in die verschiedenen Organe analysiert. Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, verdoppelt sich der Rohrzuckergehalt des einzelnen Embryos in den ersten vierundzwanzig Stunden der Keimung. Dabei ist äußerlich in dieser Zeit nur die starke Quellung und das Aufreißen der Testa zu sehen. Nachher sinkt der Rohrzuckergehalt wieder bis etwa zum sechsten Tag, um darauffolgend wieder anzusteigen. Der gleiche Verlauf ergibt sich, wenn der Saccharosegehalt auf das Trockengewicht der Substanz bezogen wird. Das im Vergleich zu späteren Keimungsstadien sehr hohe Trockengewicht der Samen (90,5 %) bedingt dagegen bei Benützung des Wassergehaltes als Bezugsgröße eine stetige Abnahme der Saccharosekonzentration von Anfang an. Die Glukose zeigt fast genau das entgegengesetzte Verhalten: stetige Zunahme bis zum letzten Untersuchungsstadium. Die Konzentration der Glukose (bei Bezugnahme auf den Wassergehalt) nimmt allerdings in den ersten vierundzwanzig Stunden stark ab. Da der Gesamtgehalt an Glukose jedoch zirka acht- und vierzig Stunden lang praktisch unverändert bleibt, ist diese Konzentrationsabnahme nur auf die intensive Wasseraufnahme während der Quellung zurückzuführen. Fruchtzucker kann in den Keimpflanzen bis

zum Alter von zwei bis drei Tagen nicht oder nur in sehr geringen Spuren nachgewiesen werden (siehe Abbildung 2). Nach dieser Zeit läßt sich Fruktose quantitativ ermitteln, aber nur in Mengen, die eine Größenordnung tiefer liegen als die von Saccharose und Glukose. Das Absinken und Wiederansteigen des Fruktosespiegels zwischen dem vierten und achten Tag scheint nach Kontrollversuchen reell zu sein, ist aber aus unbekannten Gründen in diesem Fall zu ausgeprägt.

Beachtenswert ist bei diesem Versuch der Anstieg des Saccharosespiegels während der Quellung und dessen rasches Absinken bei Beginn des sichtbaren Wachstums auf annähernd die Ausgangshöhe. Erst nachdem die Rohrzuckermenge, verglichen mit dem 24-Stunden-Maximum, wieder stark abgesunken ist, beginnt sowohl der Glukose- wie der Fruktosegehalt anzusteigen, wobei die Fruktose der Glukose stark nachhinkt. Der Beginn des Anstiegs der Hexosenkonzentration fällt auf-fallenderweise zusammen mit dem Maximum bzw. dem Beginn des Absinkens der Atmungsintensität in den unter vergleichbaren Bedingungen durchgeföhrten Versuchen von Fernandes (1923). Es ist somit möglich, daß schon vor Beginn der analytisch feststellbaren Zunahme der Hexosen solche entstehen, aber gleichzeitig durch die Atmung verbraucht werden. Steigt die Atmungsintensität nicht mehr weiter an, bzw. sinkt sie ab, so müßten sich bei gleichbleibender oder steigender Hexosenproduktion solche anhäufen.

An den Extrakten dieser Versuchsreihe wurde noch eine methodisch sehr aufschlußreiche Kontrolle durchgeföhrte, nämlich die maßanalytische Bestimmung des «Zucker»-Gehaltes nach einer der bisher üblichen Methoden. Wir benützten dazu die für die Bestimmung von Blutzucker ausgearbeitete Methode von Hagedorn-Jensen. Sie ist auch für Pflanzenextrakte schon vielfach angewendet worden. Der Gehalt an reduzierenden «Zuckern» wurde direkt am entsprechend verdünnten alkoholischen Extrakt bestimmt. Zur Ermittlung des Gehaltes an nicht-reduzierenden «Zuckern» wurden Aliquote der Extrakte 45 Minuten in 0,75-%-Oxalsäure bei 100° hydrolysiert. Die Resultate der Titration sind als Glukose in Tabelle 2 aufgeführt. Beim Vergleich der maßanalytisch durch Reduktion von Ferricyanid und chromatographisch ermittelten Werte für Glukose und Fruktose zeigt es sich, wie viel mehr reduzierende Substanzen bei der Methode von Hagedorn-Jensen erfaßt werden. Diese Fehlerquellen bei den bisher üblichen Zuckerbestimmungsmethoden sind meist unterschätzt worden. Unter den zusätzlich reduzierenden Substanzen nehmen die chromatographisch nicht erfaßten Oligosaccharide sicher nur einen kleinen Teil ein. Die Hauptmenge dieser störenden Stoffe ist unter andern Stoffgruppen als den Kohlehydraten zu suchen. Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, zeigt sich auch beim Rohrzucker eine analoge Erscheinung. Zu große Werte sind hier offenbar darauf zurückzuführen, daß durch die Hydrolyse noch andere Sub-

stanzen gespalten werden als Saccharose, die ebenfalls reduzierende Spaltprodukte ergeben. In erster Linie wird man hier an die Phosphat-ester der Zucker denken, von denen zum Beispiel Glukose-1-phosphat durch die für Rohrzuckerbestimmungen üblichen Hydrolysebedingungen vollständig gespalten wird. Diese methodisch sehr bedeutsame Frage nach den bei maßanalytischen Zuckerbestimmungen störenden Stoffen und deren Eliminierung würde es verdienen, genauer geprüft zu werden.

In einer weiteren, gleich angelegten Versuchsreihe wurden vom dritten Tag an die Keimlinge unterteilt. Bei den drei Tage alten Pflanzen teilten wir die Keimlingsachse (Primärwurzel und Sproß) von den Kotyledonen ab und analysierten die zwei Portionen getrennt. Die sechs Tage alten Keimlinge wurden in Kotyledonen, Primärwurzel und Sproß aufgeteilt. Die in Tabelle 3 enthaltenen Resultate zeigen, wie die Saccharose bei den drei und sechs Tage alten Keimlingen fast ausschließlich in den Kotyledonen lokalisiert ist. Auch in den früheren Keimungsstadien und in den ungekeimten Samen dürfte das der Fall sein. Dem gegenüber steht ein geringer Gehalt der Kotyledonen an Glukose und Fruktose, die sich nur in den Achsenteilen des Keimlings finden. Es konnten somit auch mit spezifischeren Methoden die früheren Resultate bestätigt werden: für Saccharose besteht ein Konzentrationsgefälle von den Kotyledonen zur Achse, für die Monosen ist das Gefälle umgekehrt.

Um auch noch über die Verteilung der Zucker in der Keimlingsachse selbst Aufschluß zu erhalten, wurden in einer später angelegten Versuchsreihe an sechs, sieben und acht Tage alten Keimlingen Sproß und Wurzel weiter unterteilt. Die Analysen der sieben Tage alten Keimlinge sind in Tabelle 4 enthalten. Die Zuckerverteilung in den sechs und acht Tage alten Keimlingen ist im wesentlichen gleich. Die bei den sieben-tägigen Keimlingen etwa 5 cm langen Sprosse wurden in Knospe (zirka 1 cm) und Basis aufgeteilt, die Wurzel dagegen in drei Zonen: Meristem 2 mm, Streckungs- und angrenzende Zone bis zum Beginn der Seitenwurzelbildung 2 cm und basaler Teil 6 cm. Die jungen Seitenwurzeln dieser Zone wurden entfernt. Die schon in der vorhergehenden Versuchsreihe festgestellte charakteristische Verteilung von Saccharose und Hexosen auf die Kotyledonen und die übrigen Keimlingsteile zusammen ist auch hier wieder auffallend. Bezogen auf die Trockensubstanz, ist der Saccharosegehalt der Kotyledonen bedeutend kleiner als derjenige der Wurzel und des Sprosses zusammen, während für Glukose und Fruktose die Verhältnisse umgekehrt sind. Als Bezugsgröße ist dem Trockengewicht bei Problemen des Stofftransportes jedoch das Frischgewicht oder, besser, der Wassergehalt vorzuziehen. Erst damit erhalten wir Maße, die mit der notwendigen Vorsicht als «Konzentrationen» bezeichnet werden dürfen. Bei Benützung des Wassergehaltes als Bezugsgröße ergibt sich wieder die höchste Rohrzuckerkonzentration in

den Kotyledonen. Die Basis des Sprosses weist eine fünfmal geringere Menge auf, die Knospe noch etwas weniger. In der Wurzel nimmt die Rohrzuckerkonzentration von den Kotyledonen an ebenfalls ab, wobei das Meristem aber wieder viel mehr Rohrzucker enthält als die angrenzende Wurzelzone. Für Glukose liegen die Verhältnisse weitgehend umgekehrt. Auf eine geringe Konzentration in den Kotyledonen folgt eine hohe Konzentration in den basalen Teilen der Wurzel und des Sprosses. Die Sproßspitze besitzt wieder nur wenig Glukose und noch weniger die mittlere Wurzelzone. Im Wurzelmeristem findet man dagegen eine hohe Glukosekonzentration, fast dreimal mehr als Saccharose. Die höchste Fruktosekonzentration ist im Sproß in der Knospe zu finden, in der Wurzel im Meristem. Auch hier fällt, wie für Glukose, die minimale Fruktosekonzentration in die mittlere Wurzelzone, d. h. zwischen Meristem und Beginn der Seitenwurzelbildung.

Tabelle 1

Zuckergehalt von je 50 Keimlingen

a: absoluter Gehalt in mg; *b*: mg Zucker/g Trockensubstanz;
c: mg Zucker/g Wassergehalt

| Alter | Saccharose | | | Glukose | | | Fruktose | | |
|-----------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>c</i> | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>c</i> | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>c</i> |
| Ungekeimt | 310 | 37,2 | 318,0 | 17,3 | 2,85 | 17,81 | — | — | — |
| 24 Std. | 632 | 74,1 | 65,8 | 20,2 | 2,36 | 2,09 | — | — | — |
| 48 Std. | 378 | 50,0 | 39,0 | 18,9 | 2,50 | 1,95 | — | — | — |
| 96 Std. | 292 | 37,3 | 16,6 | 73,9 | 9,45 | 4,20 | 14,7 | 1,89 | 0,84 |
| 144 Std. | 205 | 27,4 | 7,7 | 143,6 | 19,18 | 5,43 | 0,35 | 0,05 | 0,01 |
| 192 Std. | 295 | 37,6 | 7,7 | 239,5 | 30,48 | 6,23 | 37,15 | 4,73 | 0,97 |

Tabelle 2

Zuckergehalt der gleichen Pflanzen wie in Tabelle 1

a: mg reduzierende Zucker («Glukose») nach Hagedorn-Jensen; *b*: mg (Glukose + Fruktose) papierchromatographisch ermittelt; *c*: mg nichtreduzierender Zucker («Saccharose»), gemessen als Zunahme der Reduktion nach 45 Minuten Hydrolyse in 0,75-%-Oxalsäure. Titration nach Hagedorn-Jensen;
d: mg Saccharose direkt papierchromatographisch bestimmt

| Alter | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>c</i> | <i>d</i> |
|-----------|----------|----------|----------|----------|
| Ungekeimt | 34,0 | 17,3 | x | 310 |
| 24 Std. | 59,5 | 20,1 | x | 632 |
| 48 Std. | 64,5 | 18,9 | 593 | 378 |
| 96 Std. | 140,0 | 88,6 | 521 | 292 |
| 144 Std. | 296,0 | 143,9 | 334 | 205 |
| 192 Std. | 377,0 | 276,6 | 509 | 295 |

Tabelle 3

Verteilung der Zuckergehalte von Erbsenkeimlingen auf Sproß, Kotyledonen und Wurzel

a = mg Zucker/Pflanze

b = mg Zucker/g Frischgewicht

| Alter | Keimlingsteil | Saccharose | | Glukose | | Fructose | |
|-----------|------------------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>a</i> | <i>b</i> |
| Ungekeimt | Ganzer Keimling | 8,13 | 36,1 | 0,56 | 2,46 | — | — |
| 1 Tag | Ganzer Keimling | 23,80 | 42,30 | + | + | — | — |
| 3 Tage | Sproß und Wurzel | 0,60 | 9,66 | 1,38 | 22,25 | 0,25 | 3,98 |
| | Kotyledonen | 14,75 | 20,45 | + | + | + | + |
| 6 Tage | Sproß | 0,54 | 11,12 | 0,44 | 9,00 | 0,33 | 6,69 |
| | Kotyledonen | 11,31 | 13,85 | + | + | — | — |
| | Wurzel | 0,75 | 11,39 | 0,31 | 4,60 | 0,01 | 2,40 |

Tabelle 4

Zuckergehalte in verschiedenen Zonen sieben Tage alter Keimlinge

400 Pflanzen analysiert. Aufteilung der Pflanzen:

Wurzelspitze: meristematische Zone 2 mm; Streckungs- und Differenzierungszone 2 cm; Wurzelbasis 6 cm; Kotyledonen; Sproßknospe 1 cm; Sproßbasis 4 cm

a = mg Zucker/g Trockensubstanz

b = mg Zucker/g Wassergehalt

| Keimlingsteil | Saccharose | | Glukose | | Fructose | |
|-------------------------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>a</i> | <i>b</i> |
| Sproßknospe | 8,31 | 1,29 | 20,1 | 3,14 | 9,52 | 1,48 |
| Sproßbasis | 25,90 | 1,63 | 323,5 | 20,30 | 14,20 | 0,89 |
| Kotyledonen | 16,32 | 8,34 | 33,0 | 1,68 | — | — |
| Wurzelbasis | 24,60 | 1,41 | 232,1 | 13,28 | 19,65 | 1,12 |
| Wurzelstreckungszone .. | 9,58 | 0,50 | 17,2 | 0,90 | 3,99 | 0,21 |
| Wurzelmeristem | 20,15 | 3,34 | 56,4 | 9,33 | 23,2 | 3,84 |

Diskussion

Die Verteilung der Zucker im Keimling ist eine Funktion der Zuckerproduktion, des Transportes und des Zuckerverbrauches. Einzig mögliche Quelle für die Bildung löslicher Zucker bei Erbsenkeimlingen, die im Dunkeln aufgezogen worden sind, ist die Stärke der Kotyledonen. Obwohl nun die Erbsensamen schon vielfach für die Gewinnung und den Nachweis stärkespaltender Fermente *in vitro* benutzt worden sind, ist der Stärkeabbau in den Kotyledonen im Verlaufe der Keimung selber weitgehend unbekannt. Nachgewiesen ist das Vorhandensein einer α -Amylase und eine von Hanes (1940) genauer untersuchte Phosphor-

ylase. Die α -Amylase kann Stärke vollständig spalten, wobei zu Beginn des Abbaues nur niedrigmolekulare Dextrine entstehen (α -Dextrine). Später erscheinen auch Zucker: Maltose, Glukose und Di- oder Trisaccharide aus den Verzweigungsstellen des Amylopectins (Peat, 1941). Die von Hanes (l. c.) eingehend untersuchte Phosphorylase von ungekeimten Erbsensamen ist imstande, Stärke reversibel unter Produktion von Glukose-1-phosphat zu spalten. Dieses wiederum kann durch ein oder mehrere isomerisierende Fermente in reduzierendes Hexosephosphat (Glukose-6-phosphat und Fruktose-6-phosphat) und schließlich durch eine nochmalige Phosphorylierung in Hexosediphosphat (Fruktose-1,6-diphosphat) umgewandelt werden. Die Existenz zweier bisher allerdings erst *in vitro* nachgewiesener Fermentsysteme für den Stärkeabbau wird im allgemeinen dahin interpretiert, daß die Amylasen nur für die Stärkehydrolyse, die Phosphorylase dagegen für den Stärkeaufbau bedeutsam sei.

Aus unserer Beobachtung, daß in keinem Keimungsstadium Maltose auch nur in Spuren nachweisbar ist, dürfen wir wohl den Schluß ziehen, daß ein Stärkeabbau durch Amylase hier wenig wahrscheinlich ist. Glukosane konnten ebenfalls nicht gefunden werden, dagegen Fruktosane (oder zum mindesten Fruktose enthaltende Oligosaccharide), also wiederum keine Zucker, die direkt aus dem Stärkeabbau stammen können. Gegen einen amyloytischen Stärkeabbau spricht ferner die Tatsache, daß die Glukosekonzentration erst zwei bis drei Tage nach Keimbeginn zunimmt. In dieser Zeit muß schon viel Stärke verschwunden sein entsprechend dem starken Anstieg der Saccharosekonzentration innerhalb der ersten vierundzwanzig Stunden.

In bezug auf beide Argumente können allerdings Einwände geltend gemacht werden. Das Fehlen von Maltose könnte darauf beruhen, daß sie ebenso rasch wie gebildet wieder verschwindet durch die Tätigkeit einer Maltase. Die starke Steigerung der Atmungstätigkeit mit dem Beginn der Keimung ist möglicherweise für das Fehlen einer Hexosenakkumulation zu Beginn der Keimung verantwortlich zu machen. Ohne weitere Hilfsannahmen wäre aber auch dann noch der vollständige Ausfall einer Glukosan-Anhäufung sowie die starke Saccharosebildung in den Kotyledonen schon zu Beginn der Keimung unerklärlich.

Eine Phosphorolyse der Stärke könnte vor allem die Rohrzuckeranhäufung leichter verständlich machen als eine Amyloyse. Die für die Synthese von Rohrzucker notwendige Fruktose könnte dabei durch eine Dephosphorylierung von Hexosediphosphat entstehen. Dadurch, daß die freiwerdende Fruktose sofort für die Saccharosebildung abgefangen wird, ließe sich erklären, warum sie zu Beginn der Keimung nur in Spuren nachweisbar ist. Im übrigen ist über den Bildungsmechanismus des Rohrzuckers in den höheren Pflanzen nichts Genaueres bekannt, so daß es sich erübrigt, weitere Spekulationen anzustellen.

Um die Frage, amylolytischer oder phosphorolytischer Stärkeabbau, beim Keimungsvorgang der Erbsen einer Lösung näher zu bringen, haben wir mit der Untersuchung der nachweisbaren Zuckerkphosphate begonnen, über deren Resultate später berichtet werden soll.

Das starke Konzentrationsgefälle für Saccharose von den Kotyledonen zu der Primärwurzel und zum jungen Sproß, nicht aber für Glukose und Fruktose, spricht dafür, daß Saccharose von den Kotyledonen in die Keimlingsachse transportiert und dort in die Hexosen gespalten wird. Besonders für Glukose, aber auch für Fruktose resultiert so ein Konzentrationsgefälle von der Wurzel und Sproßbasis zu den Kotyledonen. Selbstverständlich darf daraus nicht der Schluß gezogen werden, daß diese Zucker in umgekehrter Richtung wie die Saccharose wandern, von der Keimlingsachse in die Kotyledonen! Möglicherweise ist dies darauf zurückzuführen, daß die Saccharosespaltung in der Rinde vor sich geht und die Hexosen auf eine uns unbekannte Weise verhindert werden, wieder ins Leitgewebe einzudringen. Von dieser komplizierenden Erscheinung abgesehen, eignet sich eine Hypothese der Druckströmung recht gut für den vorliegenden Fall (siehe Abbildung 3). Die Kotyledonen sind bei keimenden Erbsen sicher die Hauptabsorptionsstellen des Wassers. Die erste rasch verlaufende Phase der Wasseraufnahme ist quellungsbedingt, daran anschließend muß aber von den Zellen der Kotyledonen Wasser auf osmotischem Wege absorbiert werden, da sie ja sofort mit einer Produktion von Rohrzucker und anderem osmotisch wirksamen Material beginnen. Das gleichzeitig einsetzende Wachstum der Keimlingsachse führt zu einem Verbrauch an Rohrzucker durch dessen Spaltung und Verarbeitung der Hexosen. Saccharoseproduktion auf der einen Seite und Verbrauch auf der andern Seite ruft einen Druckunterschied hervor, aus dem eine Strömung resultieren muß. Nebst dem Rohrzucker wird in der wachsenden Keimlingsachse auch der größte Teil des zuströmenden Wassers verbraucht werden, so daß möglicherweise gar keine Rückströmung von Wasser durch das Xylem stattfindet. Doch erfordert dieses Problem noch eine nähere Untersuchung.

Das Konzentrationsgefälle innerhalb der Wurzel ist sowohl für Saccharose wie für die Hexosen unregelmäßig, mit einem Minimum in der Streckungs- und Differenzierungszone. Wie wir früher zeigen konnten (Wanner, 1950 b), hat die Streckungszone die höchste Atmungsintensität, bezogen auf die Einzelzelle. Dazu kommt noch eine sehr intensive Eiweißproduktion. Beide Erscheinungen müssen dazu beitragen, daß hier der Zuckerverbrauch bedeutend größer ist als in der basalen Wurzelpartie. Im Meristem jedoch müssen ganz andere Verhältnisse zwischen den zuckerverbrauchenden und zuckerproduzierenden Reaktionen bestehen: das Gleichgewicht ist hier zugunsten der Hexosenproduktion verschoben. Die Rohrzuckerkonzentration ist im

Meristem vielleicht nur scheinbar höher als in der angrenzenden Wurzelzone. Es läßt sich gut vorstellen, daß in den basaleren Wurzelpartien der Rohrzucker auf die leitenden Elemente beschränkt ist, im undifferenzierten Meristem jedoch sich gleichmäßig über den ganzen Querschnitt verteilt. Die Bezugnahme auf das Frischgewicht würde dann in den basalen Wurzelzonen zu geringe Konzentrationen ergeben, verglichen mit dem Meristem.

Summary

Etiolated pea seedlings of various ages were analyzed qualitatively and quantitatively by paper partition chromatography for soluble carbohydrates. Quantitatively predominant are saccharose, glucose and fructose. Besides them there are at least three other oligosaccharides containing fructose, one of which is probably stachyose. Maltose has never been observed. The concentration-time course of the three sugars saccharose, glucose and fructose as well as the complete absence of maltose during germination makes it improbable that starch degradation in pea seedlings is performed by an amylase. Further analyses in progress including sugar phosphates may show whether a phosphorolysis of starch occurs the existence of which has been proved hitherto only in vitro.

Saccharose concentration (sugar related to water content) during all germination stages investigated is highest in the cotyledons, glucose and fructose occurring in higher concentrations only in the seedling axis (root and shoot). Fructose appears later in germination and in lower concentration than glucose. These results indicate that saccharose is transported from the cotyledons to and split in the shoot and the root of the seedling.

Literaturverzeichnis

Consdens, R., Gordon, A. H., and Martin, A. J. P. Biochem. J., **38**, 224, 1944.
Fernandes, D. S. Rec. Trav. Bot. Néerl., **20**, 107, 1923.
Flood, A. E., Hirst, E. L., and Jones, J. K. N. J. Chem. Soc., 1679, 1948.
Hanes, C. S. Proc. Roy. Soc., London, **B 128**, 421, 1940.
Jermyn, M. A., and Isherwood, F. A. Biochem. J., **44**, 402, 1949.
Nelson, N. J. Biol. Chem., **153**, 375, 1944.
Partridge, S. M. Biochem. J., **42**, 238, 1948.
— Nature, **164**, 443, 1949.
Peat, S. Advances in Enzymology, **11**, 339, 1951.
Somogyi, M. J. Biol. Chem., **160**, 61, 1945.
Wanner, H. Ber. Schweiz. Bot. Ges., **60**, 426, 1950 (a).
— Ber. Schweiz. Bot. Ges., **60**, 404, 1950 (b).
