

## HUMUSSTOFFE UND PFLANZWACHSTUM

Bei unseren Arbeiten über die Beziehungen zwischen Humusstoffen und Pflanzenwachstum fanden wir in manchen Fällen eine Förderung des Anfangswachstums bei Getreide durch Stoffe aus dem Humus und deren Modellsubstanzen. Diese Förderungen müssen in einer Beeinflussung des Stoffwechsels ihre Ursache haben, der über die Enzymsysteme gesteuert wird.

Arbeiten des Instituts haben gezeigt, daß organische Stoffe aus dem Boden und deren Modellsubstanzen als Zwischenkatalysatoren bei Enzymreaktionen in Frage kommen können. Durch Bestimmung der Enzymaktivitäten können Hinweise auf die Orte der Einwirkung dieser Substanzen gefunden werden. So hat man auch in neuerer Zeit besonders bei Untersuchungen über mangelnde Mikronährstoffversorgung der Pflanze derartige Beziehungen aufgedeckt. Allerdings sind die Untersuchungen mit Mikronährstoffen verhältnismäßig einfach, da diese Bestandteile bestimmter Enzyme sind und das betreffende Enzym bei ihrem Fehlen nicht zu seiner aktiven Form ausgebildet werden kann.

### Atmung und Dehydrierung

Die Lebensvorgänge der Organismen erfordern eine dauernde Zuführung von Energie. Die größten Energiemengen liefern Dehydrierungsvorgänge. Unter Dehydrierungsaktionen versteht man die Abspaltung von Wasserstoff aus organischen Verbindungen, wodurch sauerstoffreichere Produkte entstehen. Derartige Reaktionen finden während des gesamten Stoffwechsels, so z.B. beim Abbau der Zucker und deren Umwandlungsprodukte, statt. Die Endstufe dieser als Atmung bezeichneten Prozesse ist die gleichfalls enzymatische Vereinigung des auf diesem Wege aktivierten Wasserstoffes mit dem Sauerstoff der Luft.

Die Atmung verläuft über sehr viele durch Enzyme gesteuerte Zwischenstufen. Ein derartiger stufenweiser Abbau ist notwendig, um nur eine allmähliche Freisetzung der Energie zu bewirken. Der durch eine einzige Stufe erhaltene Energieanfall würde es der Pflanze unmöglich machen, die Prozesse wirksam zu steuern. Die normale Atmung ist mit einem Mann zu vergleichen, der Stufe um Stufe einen Turm herabsteigt. Er ist jederzeit in der Lage anzuhalten und kommt bei vorsichtigem Herabsteigen gesund unten an. Das direkte Herabspringen vom Turm ist vergleichbar mit einer einzigen Stufe der Energiegewinnung. Die körperlichen Schäden des Springers wären mit dem gestörten Stoffwechsel der Pflanze zu vergleichen.

Zur Messung der bei diesen Vorgängen wichtigen Enzymaktivitäten stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. So wird bei der Untersuchung der Oxydationsvorgänge die Sauerstoffaufnahme der Reaktionen gemessen. Ein derartiges System be-

steht aus dem Enzym und einer oxydierbaren Verbindung — einem Stoffwechselprodukt der Pflanze —, auf das der Sauerstoff übertragen wird. Durch Einstellung der Wasserstoffionenkonzentrationen und Reaktionstemperatur schafft man möglichst Bedin-

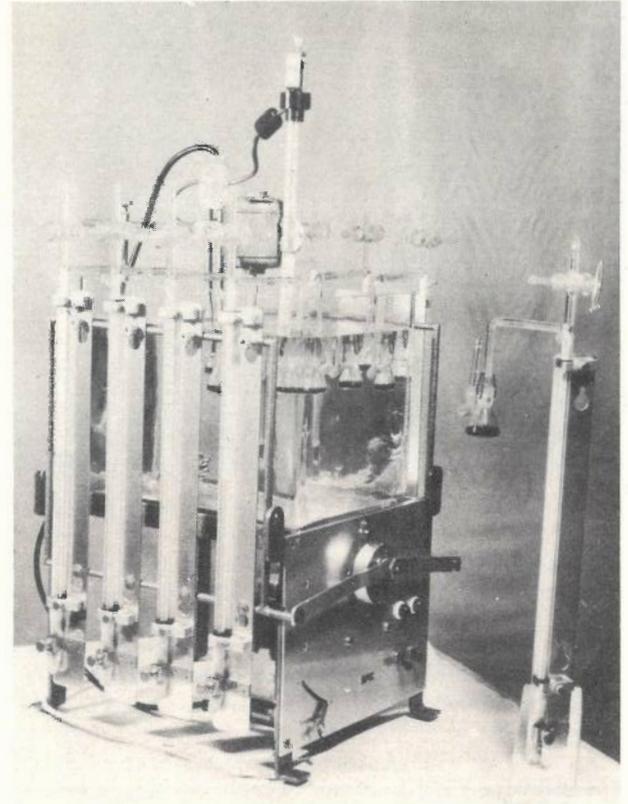


Abb. 1. Apparatur zur Messung des Sauerstoffverbrauchs bei Oxydationsvorgängen nach O. Warburg.

gungen, wie sie in den Pflanzen vorhanden sind. Die dazu benötigte Apparatur besteht im Prinzip aus einem Reaktionsgefäß, das mit der Enzymlösung und der oxydierbaren Substanz beschickt ist. Die Wasserstoffionenkonzentration wird jeweils mit einer entsprechenden Pufferlösung eingestellt. Der Luftraum in dem Gefäß ist abgeschlossen und steht mit einem Manometer in Verbindung. Wird im Verlaufe der Reaktion Sauerstoff verbraucht, so wird er dem Luftraum entnommen. Die dabei eintretende Volumenänderung kann am Manometer abgelesen werden. Die Reaktionen müssen während der Meßzeit bei konstanter Temperatur durchgeführt werden; zu diesem Zweck befinden sich die Gefäße in einem thermokonstanten Wasserbad. Auf diese Weise läßt sich die Sauerstoffübertragung bzw. die Atmung mit wenigen Milligramm Enzym bzw. Gewebeprei von Pflanzen messen. Eine Apparatur für diesen Zweck wurde von O. Warburg entwickelt (Abb. 1).

Setzt man dem Enzymansatz die als Katalysatoren wirkenden Substanzen zu, so wird bei einer Be-

schleunigung der Reaktion ein Mehrverbrauch an Sauerstoff pro Zeiteinheit am Manometer gemessen

Bei früheren Untersuchungen im hiesigen Institut hat K. Reinemund schon festgestellt, daß verschiedene Modellsubstanzen von Huminsäurevorstufen, die auch in pflanzenphysiologischen Testen eine Wirkung zeigten, in Systemen mit verschiedenen, dehydrierenden Enzymen eine Beschleunigung des Sauerstoffverbrauchs hervorriefen.

Aus der Abbildung 2 geht hervor, daß Spuren einer Modellsubstanz die Tyrosinase befähigt, den Sauerstoff mit der Ascorbinsäure mit mehr als der doppelten Geschwindigkeit zur Reaktion zu bringen.

### Huminsäuren und Enzymhaushalt

Im Verlauf der Untersuchungen mit Modellsubstanzen von Huminsäurevorstufen interessieren auch die Vorgänge, die zum Aufbau pflanzlicher Masse führen. Hieran ist die Glykolyse, d.h. der Abbau der Glucose und Fructose zu kleineren Einheiten wie Triosen und Brenztraubensäure maßgeblich beteiligt. Zur Vermehrung der Pflanzenmasse spielt gerade die Umkehrung der Glykolyse, d.h. der Aufbau der Zucker aus den genannten Spaltprodukten eine große Rolle. Ein großer Teil des Pflanzenstoffwechsels, so auch die Bildung der Aminosäure, geht von den Zuckern bzw. deren Spaltprodukten als Vorstufen aus. Bei der grundlegenden Bedeutung dieser Vorgänge für die Substanzbildung war es von besonderem Interesse, auch die Aktivitäten einiger Enzyme der Glykolyse zu bestimmen.

Bei dem obengenannten Beispiel wurden die Enzyme rein isoliert und mit diesen der Einfluß der Modellsubstanzen festgestellt. Bei der Untersuchung der Enzyme der Glykolyse muß die ganze Pflanze aufgearbeitet werden, da sonst ein Vergleich der Aktivitäten gegenüber der Kontrolle nicht möglich ist. Amvorteilhaftesten stellt man zu diesem Zweck „Acetontrockenpulver“ aus dem Pflanzengewebe her.

Die Pflanze wird bei  $-80^{\circ}$  eingefroren und nach dem Zerkleinern mit Aceton versetzt. Dadurch fallen

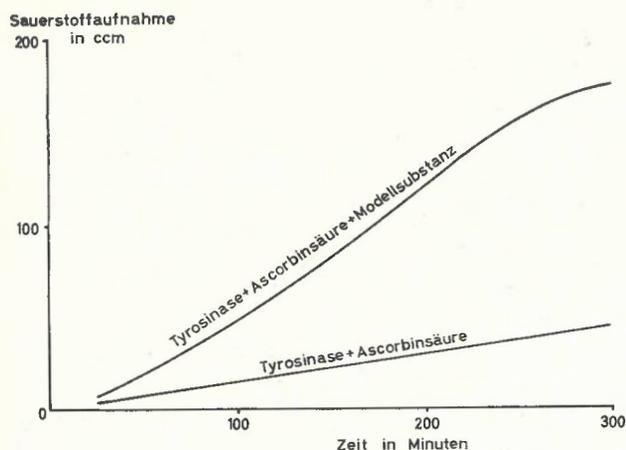


Abb. 2. Beschleunigung der Sauerstoffaufnahme von dehydrierenden Enzymen durch Modellsubstanzen von Huminsäurevorstufen.  
(System Tyrosinase-Ascorbinsäure)

das gesamte Eiweiß und damit auch die eiweißhaltigen Enzyme aus, und die niedermolekularen Bestandteile, sowie Fette, das Chlorophyll u.a. werden herausgelöst. Das Acetontrockenpulver ist unter einigen Vorsichtsmaßregeln sehr haltbar.

Zur Bestimmung der einzelnen Enzyme wird das Acetontrockenpulver mit Wasser oder Pufferlösung extrahiert und die Enzyme auf spezifische Substrate angesetzt, deren Reaktionen man zu untersuchen wünscht. Hierzu benutzt man vorteilhafterweise Farbreaktionen, da kolorimetrische Methoden am empfindlichsten sind.

Wir bestimmten auf diese Weise die Beeinflussung der Enzyme Aldolase, Amylase, Saccharase und Phosphatase von Roggen, der 14 Tage in Wasserkulturen angezogen wurde. Es sollte dabei die Beeinflussung dieser Enzymsysteme durch den Zusatz von Spuren von Huminsäuren überprüft werden. Die Meßwerte beziehen sich jeweils auf eine bestimmte Menge „Acetontrockenpulver“, das aus der Frischsubstanz gewonnen und mit einer bestimmten Menge Wasser extrahiert wurde.

### Übersicht

	Aldolase	Amylase	Saccharase	Phosphatase
Spross ohne H.S.	0,273	0,131	0,209	0,763
mit H.S.	<b>0,329</b>	<b>0,085</b>	0,234	0,724
Wurzel ohne H.S.	0,016	geringe	0,097	0,222
mit H.S.	0,013	Aktivität	<b>0,231</b>	0,258

Enzymaktivitäten von Roggenkeimpflanzen nach Zusatz von Huminsäuren (H.S.) zur Nährlösung.

(Messwerte jeweils in Extinktionen)

Wie aus der Übersicht hervorgeht, besteht ein mehr oder minder deutlicher Einfluß auf die Aktivitäten der verschiedenen Enzyme. Im allgemeinen sind die Enzymaktivitäten in der Wurzel geringer als im Sproß. Bei Zusatz von Huminsäuren wird die Aktivität der Aldolase und der Saccharase im Sproß erhöht, die der Amylase und evtl. die der Phosphatase erniedrigt. Bei der Wurzel dagegen wird die Aktivität der Saccharase und Phosphatase erhöht, die schwache Aktivität der Aldolase jedoch erniedrigt.

Aus den Befunden geht hervor, daß die Huminsäuren nicht eine ganz allgemeine Stimulierung des Stoffwechsels bewirken, sondern wahrscheinlich nur bestimmte Vorgänge beeinflussen, denn die Änderung der Aktivitäten der einzelnen Enzyme zeigt nicht die gleiche Tendenz. Die Erhöhung der Aktivität der Aldolase im Sproß und die der Saccharase in der Wurzel sowie die Hemmung der Aktivität der Amylase im Sproß deuten darauf hin, daß die zugesetzten Huminsäuren oder deren Spaltprodukte in den Kohlenhydrat-haushalt eingreifen und zwar im Sinne einer Erhöhung der Syntheseleistung.

Diese anfänglichen Untersuchungen bedürfen einer Fortsetzung, die sich auch auf den Haushalt der anorganischen Nährstoffe zu erstrecken hat.