

DIE METHODE GUREWITSCHS  
ZUR BESTIMMUNG  
DER KEIMFÄHIGKEIT OHNE  
KEIMPRÜFUNG  
MITTELS DINITROBENZEN

VON  
K. EBES



*Mededeelingen van de Landbouwboogeschool*  
*Deel 40 — Verhandeling 1*

✓  
i.e. noz

H. VEENMAN & ZONEN — WAGENINGEN — 1936

Zo 19411

# DIE METHODE GUREWITSCHS ZUR BESTIMMUNG DER KEIMFÄHIGKEIT OHNE KEIMPRÜFUNG MITTELS DINITROBENZEN

VON  
K. EBES

Zur raschen Bestimmung der Keimfähigkeit von Weizen und Roggen mit Umgehung der langwierigen Keimprüfung hat A. GUREWITSCH (1935) eine Methode vorgeschlagen, welche beruht auf die Reduktion von *m*-Dinitrobenzen durch die Atmung lebender Körner. Er belässt die Körner bei Zimmertemperatur während 5 Stunden, oder bei 40° bis 45° eine Stunde lang, in einer Suspension fein pulverisierten *m*-Dinitrobenzens; die lebenden Körner reduzieren diesen Stoff angeblich zu gelbem *m*-Nitrophenylhydroxylamin, welches mit verdünnter Ammoniak- oder Sodalösung eine tiefpurpurne Färbung ergäbe. Den Grundgedanken der Methode entlehnte er NELJUBOW, der aber mit den schlecht permeierenden Anilinfarbstoffen arbeitete und demnach gezwungen war, die Samenschalen zu entfernen; das gut eindringende *m*-Dinitrobenzen entnahm er den Arbeiten LIPSCHITZS (1920, 1921) über die Giftwirkung aromatischer Nitroverbindungen und deren Reduktion bei der Atmung lebender pflanzlicher und tierischer Zellen.

Bei Nachprüfung der Ergebnisse GUREWITSCHS war aber zunächst nur eine ganz schwache Gelbfärbung zu erhalten; auch zeigten die vorschriftsmässig behandelten Körner mit verdünnter Ammoniak- oder Sodalösung überhaupt keine Verfärbung. Das gebrauchte *m*-Dinitrobenzen war im organisch-chemischen Laboratorium hergestellt und mir von Professor Dr S. C. J. OLIVIER freundlichst überlassen worden. Der Misserfolg veranlasste dann OLIVIER (1936) nachzuweisen, dass die von LIPSCHITZ und GUREWITSCH angegebene Färbung gerade nicht dem reinen *meta*-Dinitrobenzen zukommt, sondern dass sie von verunreinigenden kleinen Mengen *para*- und *ortho*-Dinitrobenzens herrührt; letztere entstehen als Nebenprodukte bei der Herstellung der *meta*-Verbindung. Später stellte sich heraus, dass ganz reines *m*-Dinitrobenzen auch die schwache Gelbfärbung nicht zeigt, sondern völlig farblos bleibt.

Es lag daher nahe, die von GUREWITSCH angegebene Methode näher zu prüfen unter Verwendung von reinem *o*- und *p*-Dinitrobenzen.

Je 100 Körnern einer Partie Weizen von hoher Keimkraft wurden zu diesem Zwecke abgestufte Mengen chemisch reinen *o*-, bzw. *p*-Dinitrobenzens, suspendiert in je 50 cm<sup>3</sup> destillierten Wassers, zugesetzt; weiter Mischungen der *ortho*- und der *para*-Verbindung in glei-

chen Mengen. Schliesslich wurde chemisch reines m-Dinitrobenzen mit je 1% des o- bzw. p-Isomers versetzt und geprüft. Zur Kontrolle dienten lebende Körner in destilliertem Wasser und abgetötete Körner in entsprechenden Dinitrobenzensuspensionen.

Para- und ortho-Dinitrobenzen zeigten in ihren Reduktionsprodukten wesentliche Unterschiede. Die gelbe Farbe der reduzierten Flüssigkeit ist bei der p-Verbindung bedeutend heller als bei der o-Verbindung; mit verdünnter Ammoniak- oder Sodalösung gibt die reduzierte p-Verbindung eine hell-rotorange Färbung, das o-Isomer eine dunkle blauviolette. Beide Färbungen sind an der Luft unbeständig, die rote aber verschwindet bei gleicher Konzentration schneller als die blauviolette; beide halten sich länger in höherer Konzentration. Die Farben in verdünnter Base gebrachter lebender Körner zeigen ähnliche Unterschiede; die rote Farbe der p-Verbindung ist etwas eher und deutlicher sichtbar als die, durch die Fruchtwand bräunlichviolett erscheinende Färbung der o-Verbindung. Auf den Schnittflächen durch den Keimwurzel ist die violette Farbe vielleicht etwas deutlicher als die rote.

Unterschiede in der Farbe, je nachdem Ammoniak- oder Sodalösung gebraucht wurde, haben wir im Gegensatz zu LIPSCHITZ, nicht erhalten können. Die Färbung der Körner bleibt wenigstens drei Stunden sichtbar. Das m-Dinitrobenzen, wie schon erwähnt, blieb farblos, wie die Kontrollen.

Die Mischung von gleichen Teilen o- und p-Dinitrobenzen ergab bei Reduktion und Basenzusatz das von GUREWITSCH angegebene Purpur als Mischfarbe; sie ist derjenigen, welche man erhält durch Mischung der gesondert hergestellten Reduktionsprodukten, völlig gleich. Auch die mit der Mischung gefärbten Körner zeigten eine Mischfarbe, bei welcher aber das Rot vorherrschte.

Proben mit Mischungen von o- bzw. p- mit chemisch reinem m-Dinitrobenzen ergaben etwas tiefere Färbungen als die gleichen Mengen der ersteren allein. Diese Erscheinung ist noch nicht geklärt; sie ist aber wohl bloss eine Folge der bei grösseren Mengen verhältnismässig geringeren Verluste, indem ja beim Verpulvern und, bei der Herstellung der Suspension, durch Schwimmen der schwer benetzbaren Dinitrobenzene auf der Wasserfläche, durch Ankleben an die Glaswand u. dgl. immer etwas Substanz verloren geht.

Alle durch Base hervorgerufenen Farben verschwinden bei Ansäuerung.

Für eine Keimprobe mit 100 Körnern reichte eine Menge von 10 mg Stoff vollkommen aus, bei einer Versuchsdauer von einer Stunde bei 40° bis 45° C. oder von 5 Stunden bei Zimmertemperatur. Grössere Mengen ergeben zwar eine tiefere Färbung der Flüssigkeit und der Körner, machen aber die Unterschiede nicht wesentlich besser und bedin-

gen nur einen höheren Materialaufwand. Es empfiehlt sich weiter die Verwendung der chemisch reinen para- bzw. o-Präparate nur zu speziellen Zwecken; zur Bestimmung der Keimfähigkeit nach GUREWITSCH verwendet man vorteilhafter m-Dinitrobenzenpräparate, welche ihre Isomere in geringen Mengen als Verunreinigung enthalten. Ein zeitraubendes Abwiegen der Substanzmenge erübrigt sich alsdann und die Kosten stellen sich erheblich niedriger als bei Verwendung des chemisch reinen o- bzw. p-Dinitrobenzols, welche Stoffe schwer herzustellen und deswegen sehr teuer sind.

Zum Schluss sei noch bemerkt, dass LIPSCHITZ die Reaktion angewandt hat zu quantitativen Messungen biologischer Oxydo-Reduktionen, indem er die erhaltenen Färbungen colorimetrisch verglich. Aus Obigem erhellt, dass dies nur zulässig ist, wenn man mit chemisch reinem o- bzw. p-Dinitrobenzen arbeitet. Sogar die vergleichende Anwendung eines und desselben verunreinigten m-Präparates ist nicht ohne Bedenken, indem die hellgelbe Farbe der para-Verbindung eher in Erscheinung tritt als das tiefe Gelb der ortho-Verbindung, was zu unübersehbaren Farbmischungen Anlass geben könnte. Ein Vergleich verschiedener unreiner Präparate kommt gar nicht in Betracht, weil dieselben grössere Unterschiede aufweisen in ihrem Gehalt an o- bzw. p-Isomeren.

Laboratorium voor plantkunde.  
Wageningen, 16 Juni 1936.

#### LITERATUR

- GUREWITSCH, A., Ber. d. deutsch. bot. Ges. **53**, 303 (1935). Hier die weitere Literatur.  
LIPSCHITZ, W., Hoppe-Seyler's Zeitschrift f. Physiol. Chemie, **109**, 189, (1920); Pflügers Archiv f. d. ges. Physiologie, **191**, 1 und 33 (1921).  
OLIVIER, S. J. C. et K. EBES, Recueil d. trav. chim. des Pays Bas, **55**, livr. 7 (1936).