

an letzterer Stelle stimmt in allen Einzelheiten mit unseren Beobachtungen überein.

Auch beim Erwärmen mit *n*-Salzsäure gehen die gelben Prismen des Körpers  $C_{16}H_{14}NCl$  in Benzal-hydrindon über, wenn die Hydrolyse auch, vielleicht wegen der geringeren Löslichkeit, langsamer erfolgt.

### 189. Richard Willstätter und Arthur Stoll: Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure.

(Erste vorläufige Mitteilung<sup>1)</sup>: Über die Beziehungen zwischen Chlorophyllgehalt und assimilatorischer Leistung der Blätter.)

[Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Chemie in Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 12. August 1915; vorgetr. in der Sitzung vom 12. Juli 1915.)

#### Einleitung.

Die Kenntnis des Chlorophylls in Bezug auf Zusammensetzung, chemische Eigenschaften und quantitative Bestimmung hat uns als Grundlage gedient, um eine Untersuchung der chemischen Einrichtungen des Assimilationsapparates der grünen Gewächse in Angriff zu nehmen. Wir wollen versuchen, dadurch den Verlauf der Assimilationsreaktion näher kennen zu lernen.

Es ist festgestellt worden, daß die grünen Pflanzen der verschiedenen Klassen den gleichen Blattfarbstoff hervorbringen, und es ist gelungen, ihn zu isolieren und in seine Komponenten aufzulösen. Die Chlorophyllkörner enthalten nämlich ein Gemisch von zwei grünen Farbstoffen, Chlorophyll a und b, und zwei gelben Pigmenten, Carotin und Xanthophyll, zu welchen sich in der Klasse der Phäophyceen ein drittes Carotinoid, das Fucoxanthin, gesellt. Das blaugrüne Chlorophyll a und das gelblichgrüne Chlorophyll b sind komplexe Magnesiumverbindungen von ähnlicher Zusammensetzung; es ist noch nicht gelungen, die beiden Komponenten wechselseitig in einander überzuführen.

Für die quantitative Bestimmung des Chlorophylls in den Pflanzenteilen dienen uns colorimetrische Methoden, welche die Anwendung

<sup>1)</sup> Diese vorläufige Mitteilung ist hervorgegangen aus dem ersten Kapitel des in den Sitzungsberichten der Kgl. Preuß. Akad. der Wissensch. 1915, S. 322 veröffentlichten Vortrags: »Über die chemischen Einrichtungen des Assimilationsapparates« und aus der an gleicher Stelle S. 524 erschienenen Untersuchung: »Über die Assimilation ergrünender Blätter«.

von reinem Chlorophyll als Vergleichssubstanz zur Voraussetzung haben. In unserem Buche »Untersuchungen über Chlorophyll«<sup>1)</sup> (und zwar nur an dieser Stelle)<sup>2)</sup> sind für die Isolierung des Chlorophylls Verfahren mitgeteilt worden, die den Farbstoff zu einer leicht zugänglichen Substanz machen. Gleichfalls an dieser Stelle wurde die quantitative Bestimmung des Chlorophylls in Blättern oder Extrakten beschrieben. In manchen Untersuchungen von Botanikern findet man, daß behufs relativer Bestimmung der Chlorophyllgehalte verschiedener Blätter die Extrakte derselben mit einander colorimetrisch verglichen werden. Die Bestimmung wird aber dadurch gestört, daß gewisse Blätter mehr, andere weniger von Carotinoiden enthalten. Namentlich bei chlorophyllarmen Blättern wird die Genauigkeit der Analyse sehr beeinträchtigt, wenn man das gesamte Gemisch der grünen und gelben Farbstoffe für die colorimetrische Bestimmung anwendet<sup>3)</sup>. Diese läßt sich nur so mit hinreichender Genauigkeit ausführen<sup>4)</sup>, daß man mit dem Gemisch der Chlorophyllkomponenten a und b in ihrem natürlichen Verhältnis den Extrakt der Blätter vergleicht, nachdem durch Verseifen mit Alkali und Ausäthern die Carotinoide von den grünen Farbstoffen quantitativ abgetrennt sind.

Die Frage, ob dem Chlorophyllgehalt der Blätter ihre assimilatorische Leistung proportional sei, ist in der Pflanzenphysiologie schon vor Jahrzehnten erörtert worden, ehe es möglich war, sie auf Grund quantitativer Farbstoffbestimmung zu behandeln.

Im Institut von J. Sachs hat C. Weber<sup>5)</sup> (1879) für mehrere Pflanzen die Mengen der von gleichen Blattflächen und in gleichen Zeiten gebildeten Trockensubstanz ermittelt, um die Assimilationsenergien zu vergleichen. Er fand, daß die verschiedenen Pflanzenarten spezifische Assimilationsleistungen vollbringen. Die Erklärung dafür hat wenige Jahre später G. Haberlandt<sup>6)</sup> gegeben in seiner

<sup>1)</sup> Berlin, bei J. Springer, 1913.

<sup>2)</sup> Es sei erwähnt, daß in der referierenden Literatur, wie in dem in Bezug auf die periodische Literatur so vollständigen Chemischen Zentralblatt über die nur in dem Buche veröffentlichten Untersuchungen, z. B. über Extraktion, Gewinnung und Bestimmung der Farbstoffe, nicht berichtet worden ist.

<sup>3)</sup> Ohne Berücksichtigung der Carotinoide hat z. B. W. Plester in der später angeführten Arbeit den Chlorophyllgehalt der Blätter colorimetrisch verglichen.

<sup>4)</sup> a. a. O. S. 80.

<sup>5)</sup> Arbeiten des botan. Instituts in Würzburg 2, 346 [1879].

<sup>6)</sup> Jahrb. für wissenschaftl. Botanik 13, 84 [1882] und G. Haberlandt, Physiologische Pflanzenanatomie, 4. Aufl., S. 252.

Untersuchung über die »Vergleichende Anatomie des assimilatorischen Gewebesystems der Pflanzen«. Indém er die Zahl der Chlorophyllkörner in Webers Blattflächen bestimmte, zeigte er, »daß bei ähnlich gebauten Laubblättern die spezifischen Assimilationsenergien annähernd proportional sind den Gesamt mengen der Chlorophyllkörner in den betreffenden Blattflächeneinheiten«.

	Spez. Assimilations- energie nach C. Weber	Anzahl der Chloro- phyllkörner nach G. Haberlandt
Bezogen auf <i>Tropaeolum majus</i> =	100	100
<i>Phaseolus multiflorus</i>	72	64
<i>Ricinus communis</i>	118.5	120
<i>Helianthus annuus</i>	124.5	122

Diese Beziehung zwischen assimilatorischer Leistung und Zahl der Chloroplasten ist unverkennbar, aber daraus kann nicht ohne weiteres auf die Proportionalität zwischen Assimilationsenergie und Chlorophyllgehalt geschlossen werden. Wenigstens hat W. Pfeffer <sup>1)</sup> in seinem Handbuch der Pflanzenphysiologie die Anschauung ausgesprochen: die Assimilationsenergie der Chloroplasten ist »spezifisch different und sie kann auch nicht in einem einfachen Verhältnis zum Gehalt an Chlorophyllfarbstoff stehen, der nicht allein die Funktions-tüchtigkeit des Apparates bestimmt.« »Nur bei richtigem und unge-störtem Zusammengreifen aller Teile« kommt die assimilatorische Leistung der Chloroplasten zustande <sup>2)</sup>. Die Assimilation ist hier als vitale Funktion der Protoplasmaorgane betrachtet worden, ohne nähere Bestimmung der dem lebenden Protoplasma zugeschriebenen Rolle.

Die Annahme, daß das Chlorophyll nur einen Anteil habe an der Funktion des Protoplasmas, ist bisher nicht zu allgemeiner Geltung durchgedrungen, weil ihr nur ein spärliches Versuchsmaterial zugrunde lag. Vor allem ist in Pfeffers Institut eine größere Arbeit von A. J. Ewart <sup>3)</sup> über »die vorübergehende Aufhebung der Assimilations-fähigkeit in Chlorophyllkörpern« ausgeführt worden, über welche auch W. Pfeffer selbst kurz berichtet hat <sup>4)</sup>. Es ist beobachtet worden, daß die Chlorophyllkörper bei genügend langem Verweilen unter solchen Verhältnissen, die bei noch längerer Dauer endlich den Tod des Organismus herbeiführen, in einen Zustand versetzt werden, in welchem sie nunmehr unfähig sind, bei Wiederherstellung der besten

<sup>1)</sup> Bd. I, S. 342.

<sup>2)</sup> l. c. S. 338.

<sup>3)</sup> Journ. of the Linnean Soc., Botany, 31, 364 [1895/96].

<sup>4)</sup> Ber. math.-phys. Klasse d. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. 1896, 311.

Bedingungen Kohlensäure zu assimilieren. Diese Fähigkeit kehrt aber unter normalen Assimilationsbedingungen allmählich zurück. Derartige Erfolge konnten durch Temperaturextreme, intensive Lichtwirkungen, durch Austrocknen und andere Einflüsse erzielt werden. In gleichem Sinne ist eine Untersuchung von E. Pantanelli<sup>1)</sup> bedeutsam, welche die in intensivem Lichte auftretenden Ermüdungserscheinungen der Chloroplasten behandelt. »Das Plasma des Chloroplasten arbeitet, ermüdet und erholt sich; das Chlorophyll bleibt dabei in den meisten Fällen primär ganz indifferent«. Eine weitere Untersuchung, die wieder aus dem Institut Pfeffers hervorgegangen ist, scheint gleichfalls für die Mitwirkung des Plasmas bei der Assimilation zu sprechen. O. Treboux<sup>2)</sup> hat »einige stoffliche Einflüsse auf die Kohlensäure-Assimilation bei submersen Pflanzen« untersucht, namentlich die Wirkung des Zusatzes verschiedener anorganischer und organischer Säuren. Die Assimilationstätigkeit des Chlorophyllapparates wurde bei geringem Säurezusatz entsprechend der Säurekonzentration gesteigert, Kohlensäure verhielt sich dabei eigentümlicherweise gleich anderen Säuren. Die Untersuchung ist mit der Gasblasenmethode vorgenommen worden; beweiskräftig scheint sie uns nicht zu sein, es ist nicht unmöglich, daß das bei Säurezusatz lebhafter entwickelte Gas nur oder hauptsächlich frei gemachte Kohlensäure war.

Auch die Versuche von Ewart sind, wie im Folgenden gezeigt wird, wenigstens in einem Teil der angeführten Arbeit nicht einwandfrei; mit seinen Beobachtungen über niedrige assimilatorische Leistungen der Blätter in der Frühjahrsentwicklung treten unsere Messungen in Widerspruch.

Am deutlichsten war bisher die Annahme eines mit dem Chlorophyll zusammenwirkenden inneren Faktors ausgesprochen worden in einer Arbeit von A. A. Irving<sup>3)</sup>, die zu der wichtigen Reihe der »Experimental Researches on Vegetable Assimilation and Respiration« von F. F. Blackman gehört. Irving untersuchte das Verhalten ergrünender etiolierter Blätter und fand, daß diese noch keine Spur von Kohlensäure zu assimilieren vermögen, wenn sie schon eine reichliche Menge von Chlorophyll hervorgebracht haben. Der experimentelle Befund von Irving wird von unseren Versuchen widerlegt; im Gegensatz dazu zeigen die ergrünenden etiolierten Blätter sogar besonders hohe assimilatorische Leistung. Da sich aber in diesem Falle die Leistung von der Proportionalität mit dem Chlorophyllgehalt weit

<sup>1)</sup> Jahrb. für wissenschaftl. Botanik 39, 165 [1903].

<sup>2)</sup> Flora 92, 49 [1903].

<sup>3)</sup> Annals of Botany 24, 805 [1910].

entfernt, allerdings in dem der Angabe von Irving entgegengesetzten Sinne, so bleibt doch die von Irving ausgesprochene Annahme zu Recht bestehen.

Während in mehreren der angeführten Arbeiten künstliche Eingriffe in die Lebensbedingungen von Pflanzen vorgenommen wurden, deren Wirkung auf die Assimilationsreaktion gewiß nicht in allen Fällen eindeutig ist, bestimmen wir in der vorliegenden Untersuchung quantitativ die assimilatorischen Leistungen möglichst verschiedenartiger gesunder Blätter unter günstigen Bedingungen. Die Schlußfolgerungen, welche sich aus unseren Versuchen ergeben, stehen mit den von Pfeffer vertretenen Anschauungen in Einklang und erlauben, die Funktion des Protoplasmas durch Annahme eines enzymatischen Vorgangs etwas näher zu erklären.

#### Methode der Untersuchung.

Das Verhältnis zwischen den Mengen des Chlorophylls und der assimilierten Kohlensäure soll an gewöhnlichen Laubblättern und an solchen Blättern geprüft werden, welche ungewöhnliche Verhältnisse bieten und Grenzfälle der Assimilation darstellen.

Unsere Methode ist die Untersuchung unter Bedingungen maximaler Assimilationsleistung für eine gewählte günstige Temperatur. Indem wir diese, zumeist 25°, konstant halten, lassen wir die Blätter in fünfprozentiger Kohlensäure assimilieren bei starker Belichtung, die der Sonnenstärke ungefähr entspricht, damit die äußeren Faktoren, deren Bedeutung in vielen früheren Untersuchungen allein behandelt worden ist, ohne Einfluß auf die assimilatorische Leistung sind. Dadurch wird es möglich, Einflüssen innerer Faktoren nachzugehen. Die gewählten Bedingungen sind derart, daß die Assimilation eines normalen, sehr gut assimilierenden Blattes weder durch Erhöhung der Kohlensäure-Konzentration noch durch Vermehrung des Lichtes gesteigert werden kann. Bei geringerem Kohlendioxydgehalt würde der Fall eintreten, daß gut und schlecht assimilierende Blätter die gleiche assimilatorische Leistung zeigten, weil es den ersteren an Kohlensäure fehlte. Auch die gewählte Belichtung hat in den meisten Fällen für die maximale Leistung hingereicht; nur bei den wenig Licht absorbierenden gelben Blättern wäre es nötig, um die größte Umsetzung zu erzielen, mit noch größerer Lichtstärke zu arbeiten.

Nach den Bedingungen der Assimilation ist die Wahl der analytischen Methode von Wichtigkeit. Wir folgten im Prinzip der Arbeitsweise von U. Kreusler <sup>1)</sup>, die darin besteht, daß die Kohlen-

<sup>1)</sup> Landwirtsch. Jahrb. 14, 913 [1885]; 16, 711 [1887]; 17, 161 [1888]; 19, 649 [1890].

säure in dem zu den Blättern geleiteten und im abgeleiteten Gasstrom ermittelt wird. Der Vergleich zwischen dem Kohlensäuregehalt des Luftstromes von konstanter Geschwindigkeit, der über die Blätter im Dunkeln geleitet worden ist und dabei die Atmungskohlensäure aufgenommen hat, und des Stromes, der über die belichteten Blätter geht, gibt uns ohne Einfluß der Atmung den Betrag des assimilierten Kohlendioxyds. Im einzelnen weicht unsere Versuchsanordnung von der Kreuslers erheblich ab, darin, daß wir mit kleinräumigen Apparaten, mit geringeren Gasmengen und kürzeren Zeiten arbeiten.

Die Blätter, 5—20 g, befinden sich in einer kleinen, flachen Glasdose, die in ein Wasserbad von konstanter Temperatur eingesetzt ist. Die frisch beschnittenen Stiele sind durch ein Silberdrahtnetz gesteckt und tauchen in Wasser. Die Temperatur wird in der Dose unter den Blättern gemessen. Die kohlensäurehaltige Luft wird aus einer Druckflasche durch ein Strömungsmanometer, mittels dessen der Gasstrom konstant erhalten wird, dann durch eine zur Befeuchtung dienende Waschflasche von konstanter Temperatur in die Assimilationskammer geführt; von hier wird er durch Trocknungsröhren und den Absorptionsapparat für Kohlendioxyd in eine Präzisionsgasuhr entlassen; die Volumenvermehrung der Luft durch die Entbindung des äquivalenten Volumens Sauerstoff aus der assimilierten Kohlensäure kann noch berücksichtigt werden und dies ist in den folgenden Zahlen durchwegs geschehen<sup>1)</sup>. Die Kohlensäure-Absorptionsapparate werden einige Stunden hindurch in kurzen Intervallen, z. B. alle zwanzig Minuten, gewogen.

Als Lichtquelle dient uns eine  $\frac{1}{2}$ -Watt-Osramlampe von 3000 Kerzenstärken, die in 25—15 cm Abstand montiert wird und dann ungefähr 48000—130000 Lux entspricht. Zwischen Lampe und Absorptionskammer befindet sich als Strahlenfilter eine Schicht gekühlten Wassers, das wir in gewissen Fällen behufs Anwendung farbigen Lichtes durch Farbstofflösungen ersetzen.

Viele bemerkenswerte Einzelheiten der Versuchsanordnung sollen später in einer ausführlicheren Abhandlung beschrieben werden.

Neben jedem Assimilationsversuch wurde der Chlorophyllgehalt der Blätter, zumeist auch ihre Fläche und ihr Trockengewicht quantitativ bestimmt.

Beispiel: *Sambucus nigra*. 10 g Blätter, Trockengew. 2.3 g, Fläche 407 qcm, Chlorophyll 18.3 mg, Xanthophyll 1.45 mg, Carotin 0.89 mg.

---

<sup>1)</sup> In den Tabellen der ersten Veröffentlichung (Sitzungsber. der Preuß. Akad. Wiss. 1915, S. 322) war diese Korrektur nicht vorgenommen worden.

*Sambucus nigra* var. *aurea* 10 g Blätter, Trockengew. 1.8 g, Fläche 432 qcm, Chlorophyll 0.4 mg, Xanthophyll 0.71 mg, Carotin 0.14 mg.

Für den Farbstoffgehalt hat sich dabei im allgemeinen keine Differenz ergeben, wenn er vor und nach dem Assimilationsversuch ermittelt worden ist.

Der Assimilationsversuch ergibt das Verhältnis zwischen Chlorophyllmenge und assimilierter Kohlensäure in einer bestimmten Zeit und unter den gewählten Bedingungen; in vielen Fällen, nämlich bei gut assimilierenden Blättern, ist die assimilatorische Leistung für die gegebene Temperatur die größtmögliche.

Wir beziehen das Ergebnis auf die Zeit einer Stunde und nennen es »Assimilationszahl«. Damit wird also die Menge von Kohlendioxyd ausgedrückt, die unter den bestimmten Bedingungen während einer Stunde von der 1 g Chlorophyll enthaltenden Blattmenge assimiliert worden ist.

$$\text{Assimilationszahl} = \frac{\text{in 1 Stde. assimiliertes CO}_2 \text{ (in g)}}{\text{Chlorophyll (in g)}}$$

Mit etwa 40 Pflanzenarten sind über 130 Assimilationsversuche ausgeführt worden; ein beliebiger Versuch mit einem chlorophyllreichen Blatt soll als Beispiel für die Methode angeführt werden.

*Helianthus annuus*, Anfang Juli, 9.0 g Blätter = 302 qcm. 25°, 3000 Kerzen in 25 cm Abstand; 5-prozentige Kohlensäure, Gasstrom 4.5 l in der Stunde.

Die Zusammensetzung des Gasstromes im Dunkelversuch war: 0.1037 g CO<sub>2</sub> im Gemische mit 1 l Luft.

Temperatur der Blätter	Intervall in Minuten	Austretende Luft in Liter	CO <sub>2</sub> (g) im Gemisch mit 1 l aus- tretender Luft	Assimiliertes CO <sub>2</sub> (g)	
				für das Intervall	für 1 Stunde
25.0°	21	1.60	0.0755	0.0451	0.126
25.0°	19	1.40	0.0569	0.0655	0.207
25.0°	20	1.50	0.0544	0.0789	0.222
25.0°	20	1.55	0.0542	0.0767	0.230
25.5°	22	1.65	0.0561	0.0784	0.213
26.0°	18	1.35	0.0559	0.0645	0.215
25.5°	20	1.40	0.0517	0.0728	0.218
25.0°	21	1.55	0.0561	0.0738	0.211

Assimilationszahl 16.7.

Für das Quadratmeter der Blattfläche, einschließlich der Nervatur, wird hieraus die Assimilation von 7.45 g CO<sub>2</sub> in 1 Stunde, entsprechend der Bildung von 5.08 g Glucose, berechnet. Nach H. T. Brown und F. Escombe<sup>1)</sup> beträgt die Assimilation von *Helianthus* in atmosphärischer Luft am Tageslicht bei 26.8° auf 1 qm in 1 Stunde: 0.48 g Trockensubstanz.

Das Ansteigen der Assimilation beim Versuchsbeginn im angeführten Beispiel ist nur scheinbar und beruht auf der anfänglichen Verdrängung des Gases, auf das die Blätter noch nicht eingewirkt haben, aus den Räumen des Apparates. Am Ende des Versuches pflegt, besonders bei wasserarmen alten Blättern, ein Nachlassen der Assimilation zu erfolgen.

#### Normale Blätter.

In der folgenden Tabelle werden die Assimilationszahlen der chlorophyllreichen Blätter einiger Pflanzenarten mitgeteilt; bei den ersten vier Beispielen war die Temperatur 25°, die Belichtung ungefähr 48000 Lux, bei den folgenden vier wurde mit 75000 Lux bei 30° gearbeitet.

Pflanzenart	Gewicht der Blätter g	Trocken- gewicht g	Blattfläche qcm	Chloro- phyllgehalt mg	In 1 Stunde assimiliertes CO <sub>2</sub> %	Assimilations- zahl
<i>Rubus Eubatus</i> . .	5.0	1.80	356	16.2	0.094	5.8
<i>Syringa vulgaris</i> . .	12.0	3.45	371	14.1	0.091	6.5
<i>Sambucus nigra</i> . .	8.0	2.20	343	17.8	0.117	6.6
<i>Ulmus</i> . . . . .	8.0	2.35	421	13.0	0.089	6.9
<i>Prunus Laurocerasus</i> .	10.0	3.40	—	12.2	0.098	8.1
<i>Primula</i> . . . . .	10.0	0.90	—	11.4	0.105	9.1
<i>Hydrangea opulodes</i> .	10.0	1.20	—	9.2	0.060	6.5
<i>Pelargonium zonale</i> .	10.0	0.96	—	12.5	0.093	7.4

Für viele Beispiele normaler Laubblätter sind ähnliche Assimilationszahlen gefunden worden; in diesen Fällen geht also entsprechend der von Haberlandt gefundenen Proportionalität der Chloroplastenzahl und der Assimilationsenergie auch der Chlorophyllgehalt mit der

<sup>1)</sup> Proc. Roy. Soc. London (B) 76, 29, 44 [1905].



assimilatorischen Leistung proportional. Es handelt sich freilich um Blätter, die ähnliche Verhältnisse bieten, nämlich gut assimilierende, chlorophyllreiche Pflanzen, und es wäre verfrüht, wenn wir aus der annähernden Übereinstimmung auf eine einfache quantitative Beziehung zwischen Chlorophyll und Assimilation schließen wollten. Bei eingehender Prüfung tritt schon bei einer einzigen Pflanzenart Divergenz zutage, beispielsweise, wenn wir jüngere und ältere Blätter vergleichen.

#### Junge und alte Blätter.

Der Chlorophyllgehalt nimmt mit dem Wachstum der Blätter zu, die assimilatorische Leistung ebenfalls, indessen nicht entfernt in gleichem Maße; folglich sinkt die Assimilationszahl. Von einer Anzahl solcher Fälle, die im gleichen Sinne aussagen, greifen wir drei Beispiele heraus:

25°; 5 proz. Kohlensäure; ungefähr 48000 Lux.

Pflanzenart	Alter der Blätter	Gewicht g der Blätter	Trocken- gewicht g	Blattfläche qcm	Chloro- phyllgehalt mg	In 1 Stunde assimiliertes CO <sub>2</sub> g	Assimi- lationszahl
Acer Pseudo- platanus	4. bis 6. Blatt von oben am Zweige (23. Juni)	6.0	2.0	358	5.0	0.059	11.8
Acer Pseudo- platanus	Blätter von der Basis der Zweige (23. Juni)	6.0	2.15	469	24.0	0.124	5.2
Tilia	junge, hell- grüne Blätter (25. Juni)	8.0	2.05	421	5.2	0.074	14.2
Tilia	die unteren, tiefgrünen Blätter des- selben Baumes (26. Juni)	8.0	2.55	530	22.5	0.148	6.6
Taxus baccata	junge Zweige (27. Juni)	20.0	5.65	—	27.6	0.131	4.7
Taxus baccata	vorjährige Zweige (28. Juni)	20.0	7.05	—	47.5	0.102	2.1

### Leistungsfähigkeit der Blätter im Frühling.

Die Versuche mit normalen Laubblättern beispielsweise im Sommer haben nicht erkennen lassen, daß die assimilatorische Leistung außer vom Chlorophyllgehalt noch von einem anderen inneren Faktor abhängt. Es soll nun untersucht werden, ob bei der Entwicklung der Vegetation im Frühjahr das Ergrünen der Blätter Hand in Hand geht mit der Bildung eines für den Assimilationsvorgang notwendigen Faktors vermutlich enzymatischer Natur. Die Entstehung des Chlorophylls könnte auch vorausseilen oder hinter der Produktion des Enzyms zurückstehen.

Die Annahme, daß die Fähigkeit des Plasmas für seine Leistung in der Photosynthese sich langsamer einstelle als der Chlorophyllgehalt, hat Ewart in der angeführten Arbeit abgeleitet aus seinen mit Hilfe der Bakterienmethode ausgeführten Versuchen über das Alter der Blätter, in welchem sie zu assimilieren beginnen<sup>1)</sup>. Er findet »that when the foliage is developing in spring, it is only when the leaves have reached a certain size and condition of development, which varies very much in different plants, that any power of assimilation can be detected.«

Die Eignung der Bakterienmethode für diese Untersuchung dürfte überschätzt worden sein; die assimilatorische Leistung ist mit ihr erst dann wahrzunehmen, wenn sie die Atmung überwiegt, die aber gerade bei den jungen Blättern besonders bedeutend ist. Um die Bakterienmethode für diesen Fall anzuwenden, wäre es zum mindesten erforderlich, durch Darbietung von reichlicher Kohlensäure die Assimilationsbedingungen im Verhältnis zur Atmung günstig zu gestalten.

In den folgenden Versuchen finden wir durchgehends bei sehr jungen Blättern assimilatorische Leistungen, die, bezogen auf den Chlorophyllgehalt, sogar höher sind als bei vollentwickelten Blättern. Dabei ist der Chlorophyllgehalt der jungen Blätter, auf das Frischgewicht bezogen, etwa  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  von dem älterer Blätter. Bei etwas späteren Proben zeigen die Assimilationszahlen im allgemeinen ein merkliches Ansteigen, um dann, wenn der übliche Chlorophyllgehalt der entwickelten Blätter erreicht wird, zu den normalen und ungefähr konstanten Werten zu sinken. Zugleich sehen wir öfters die absoluten Beträge der assimilierten Kohlensäure trotz zunehmenden Chlorophyllgehalts zurückgehen.

<sup>1)</sup> loc. cit. S. 452.

Der beschriebene Gang der Assimilationszahlen sei an einigen Beispielen unserer noch ausführlicher mitzuteilenden Beobachtungen dargetan. Für die frühesten Versuche mit den angeführten Pflanzen wurden die eben aus den Knospen ausgetretenen und zwar noch kaum entfalteten gelbgrünen Blättchen gewählt.

Assimilationsleistungen der im Frühjahr sich entwickelnden Blätter.

25°; 5-proz. Kohlensäure; ungefähr 48000 Lux.

Datum	Pflanzenart	Gewicht der Blätter g	Trocken- gewicht g	Blattfläche qcm	Chloro- phyllgehalt <sup>1)</sup> mg	In 1 Stunde assimiliertes CO <sub>2</sub> g	Assimi- lationszahl
29. April	Aesculus	8.0	1.68	211	8.1	0.090	11.1
7. Mai	Hippo-	8.0	1.65	374	12.1	0.146	12.1
3. Mai	castanum	8.0	2.35	386	19.8	0.127	6.4
4. Mai	Tilia cordata	6.0	1.31	344	5.0	0.053	10.6
12. Mai		6.0	1.29	463	6.9	0.110	16.0
5. Juni		6.0	2.11	421	17.3	0.123	7.1
10. Mai	Ampelopsis quinquefolia	5.0	0.92	203	3.7	0.039	10.5
19. Mai		5.0	0.99	274	7.7	0.104	13.5
8. Juni		5.0	1.00	319	14.4	0.089	6.2
11. Mai	Quercus Robur	5.0	1.38	276	8.3	0.036	10.9
20. Mai		5.0	0.99	274	7.7	0.104	15.8
9. Juni		5.0	2.07	255	10.8	0.097	9.0

Von den Frühjahrszahlen stimmen die mittleren (die zweiten Werte unserer Beispiele) gut überein mit den zu einem beliebigen Zeitpunkt an jungen Blättern bestimmten Assimilationszahlen<sup>2)</sup>, die beträchtlich höher ausgefallen sind als die Werte gleichzeitig geprüfter ausgewachsener Blätter von denselben Zweigen.

Aus den angeführten Assimilationszahlen ergibt sich bei Beginn der Laubentwicklung eine ungefähr parallele Ausbildung von assimilatorischem Farbstoff und der Funktionstüchtigkeit des Plasmas.

<sup>1)</sup> Der Chlorophyllgehalt ist zu Beginn und am Ende der Versuche bestimmt worden; letzterer Wert ist in der Tabelle angegeben und die Assimilationszahl ist damit berechnet worden.

<sup>2)</sup> s. die Tabelle auf S. 1548.

Kurz nachher, etwa 9 Tage später, werden die Abweichungen groß genug, um den Einfluß beider innerer Faktoren hervortreten zu lassen. Es folgt nämlich eine Periode, in der die Enzymbildung deutlich vor auszukeilen scheint, während später das Chlorophyll überschüssig wird.

### Herbstliche Blätter.

Die Abhängigkeit der Assimilationsenergie von der Jahreszeit ist eine komplizierte Frage und schon die Veränderung der assimilatorischen Leistung im Herbst zeigt, für sich allein betrachtet, ein ungemein wechselndes Bild. An dieser Stelle sollen besonders einige Erscheinungen hervorgehoben werden, die hinsichtlich der Beziehung zwischen Assimilation und Chlorophyllgehalt Aufschluß geben.

Das Laub vieler Pflanzen vergilbt; das Verhalten von solchen Blättern gehört nicht zu den interessanteren Erscheinungen. Die assimilatorische Leistung geht hier mit abnehmendem Chlorophyll zurück, die chlorophyllarmen Blätter zeigen dieselben oder ähnliche Assimilationszahlen wie chlorophyllreiche Vergleichsexemplare.

5-prozentige Kohlensäure; 3000 Kerzen in 25 cm Abstand; 25°.

Datum	Pflanzenart	Gewicht der Blätter g	Trocken- gewicht g	Blatfläche qcm	Chloro- phyllgehalt mg	In 1 Stde. assimilier- tes CO <sub>2</sub> g	Assimir- lationszahl
14. Juli	<i>Sambucus nigra</i>	8.0	2.05	359	18.8	0.116	6.2
14. Oktober	<i>Sambucus nigra</i> , Blätter leicht abfallend	8.0	1.64	356	8.2	0.049	6.0
2. November	<i>Populus pyra- midalis hort.</i> , tiefgrüne Blätter	8.0	2.55	376	15.2	0.152	10.0
2. November	derselbe Baum, gelbgrüne Blätter	8.0	2.35	363	3.9	0.031	7.9

Der Rückschritt in der Leistung erfolgt häufig derart, daß die Assimilationszahlen in den ersten Herbstmonaten, wenn der Chlorophyllgehalt schon merklich sinkt, ansteigen und daß sie im Spätherbst niedriger werden:

Versuche mit *Acer Pseudoplatanus*.

5-prozentige Kohlensäure; 3000 Kerzen in 25 cm Abstand; 25°

Datum	Beschreibung der Blätter	Gewicht der Blätter g	Trockengewicht g	Blattfläche qcm	Chlorophyllgehalt mg	In 1 Stde. assimiliertes CO <sub>2</sub> g	Assimilationszahl
30. Juli	tiefgrün, dünn	4.0	1.55	271	19.7	0.080	4.1
17. September	grün	4.0	1.55	336	12.5	—	6.6
5. Oktober	grüne Blätter mit gelben Flecken	4.0	1.45	344	7.8	0.064	8.5
19. Oktober	fast gelb	4.0	1.35	387	2.1	0.010	4.8

Wichtiger für unsere Betrachtung als diese Fälle ist die herbstliche Veränderung bei einem Teil der Blätter, die grün bleiben und grün abfallen. Der milde, bis zum 17. November frostfreie Herbst 1914 war der ungestörten Durchführung der Versuche günstig. Unter den grün bleibenden Blättern finden sich viele Beispiele, in welchen ungeschwächtes Assimilationsvermögen erhalten bleibt, sogar nach dem Abfallen der Blätter. Herbstliche Blätter, die abgefallen waren, sind einen Tag bis zwei Tage später vom Erdboden gesammelt worden; sie haben — trotz ihres hohen Chlorophyllgehaltes — hohe Assimilationszahlen gegeben.

5-prozentige Kohlensäure; 3000 Kerzen in 25 cm Abstand; 25°.

Datum	Pflanzenart	Gewicht der Blätter g	Trockengewicht g	Blattfläche qcm	Chlorophyllgehalt mg	In 1 Stde. assimiliertes CO <sub>2</sub> g	Assimilationszahl
26. Oktober	<i>Cydonia japonica</i> Thumb. var. <i>Moerlosii</i> , abfallende Blätter	10.0	4.50	301	16.3	0.119	7.3
27. Oktober	<i>Clerodendron trichotomum</i> Thumb., abgefallene, grüne Blätter	6.2	1.28	211	9.3	0.115	12.3
14. Oktober	<i>Lonicera tatarica</i> , abgefallene Blätter	4.0	1.20	299	3.3	0.020	6.1

Glücklicherweise haben wir auch den entgegengesetzten Fall aufgefunden; er ist uns unter den Proben, die wir quantitativ untersuchten, bei etwa sechs Pflanzenarten begegnet, am schönsten bei *Ampelopsis quinquefolia*. Die in gut grünem Zustand im Oktober und November gepflückten Blätter dieser Arten zeigen nur sehr geringe Assimilationsleistung oder fast keine mehr, während vom gleichen Stamm und zur selben Zeit gepflückte jüngere Blätter noch gute Assimilationszahlen ergaben.

Vergleich schwach und stark assimilierender, grüner, herbstlicher Blätter.

5-prozentige Kohlensäure; 3000 Kerzen in 25 cm Abstand; 25°.

Datum	Pflanzenart	Gewicht der Blätter g	Trocken- gewicht g	Blattfläche qcm	Chloro- phyllgehalt mg	In 1 Stde. g assimili- tes CO <sub>2</sub>	Assimi- lationszahl
26. Oktober	<i>Robinia Pseud-acacia</i> , jüngere tiefgrüne Blätter	4.0	1.40	340	11.4	0.083	7.3
24. Oktober	derselbe Baum, ältere, gelblich-grüne Blätter	4.0	1.35	355	6.2	0.011	1.6
10. Oktober	<i>Tilia cordata</i> , frisch abgefallene, gelblich-grüne Blätter	5.0	1.65	429	5.9	0.002	0.3
11. November	<i>Ampelopsis tricuspidata</i> Veitchii, frische, grüne Blätter	7.0	1.50	—	6.8	0.014	2.0
16. Oktober	<i>Ampelopsis quinquefolia</i> , gepflückte, ältere, gut grüne Blätter	5.0	1.05	251	6.4	0.006	0.9
17. Oktober	dieselbe Pflanze, jüngere Blätter von den Spitzen der Zweige	5.0	1.15	325	6.4	0.050	7.9

Wir konnten bei *Ampelopsis quinquefolia* unter dem Mikroskop keine anatomischen Veränderungen der Blätter wahrnehmen.

die für die Aufhebung der Assimilation verantwortlich wären. Überdies haben wir beobachtet, daß die Assimilation sich allmählich beim Verweilen der Blätter in warmem, feuchtem Raume wieder einstellt und bis zu ansehnlichem Betrag ansteigt.

Versuch unter den gewöhnlichen Bedingungen mit  
*Ampelopsis Veitchii*, am 17. November bei 4° gepflückten,  
 schön grünen Blättern.

7.0 g Blätter; 2.2 g Trockengewicht; 304 qcm Fläche;  
 7.8 mg Chlorophyll.

Intervall in Minuten	Aus tretende Luft in Liter	Assimiliertes CO <sub>2</sub> (g)		Assimilations- zahl
		für das Intervall	für 1 Stunde	
20	1.00	0.0019	0.006	< 0.6
20	1.00	0.0029	0.009	1.2
22	1.10	0.0041	0.011	1.4
18	0.90	0.0043	0.014	1.6
20	1.05	0.0067	0.020	2.6

Unterbrechung; die Blätter werden 15 Stunden bei 25° aufbewahrt  
 und neu angeordnet

20	1.00	0.0107	0.032	4.1
20	1.00	0.0095	0.029	3.7
21	1.05	0.0119	0.036	4.6
19	0.95	0.0102	0.031	4.0

Diese Wiederbelebung der Assimilation ist hier nicht zum ersten Male beobachtet; Ewart<sup>1)</sup> hat nämlich schon gefunden, daß gewisse Pflanzen (*Ilex Aquifolium*, *Buxus sempervirens* u. ä.), die wochenlang anhaltendem Froste ausgesetzt waren, zunächst keine Assimilationsfähigkeit mehr besaßen, daß sie diese aber wieder erlangten, wenn sie acht Stunden bis einen Tag bei 15° gehalten wurden. Eine allgemeine Erscheinung ist diese Wirkung des Frostes übrigens nicht. Wir haben Pappelblätter und andere nach mehrtägigem Frost geprüft und sogleich normale Leistung der Chloroplasten gefunden.

Chloroplasten der Fruchthäute. Ähnliche Verhältnisse wie bei herbstlichen Blättern treffen wir bei den chlorophyllhaltigen Häuten

<sup>1)</sup> Journ. of the Linnean Soc., Botany 31, 364, 389 [1895/96].

von Früchten an. Die Versuche betrafen die Weintraube, Birne, Erbse und den Kürbis; bei diesen wurden sehr verschiedene und durchweg ansehnliche Assimilationszahlen gefunden. Im späteren Herbst zeigte sich die Assimilation bei der Weintraube erloschen.

Assimilationsversuche mit Fruchthäuten.

Art und Beschaffenheit	Gewicht der Häute	Trocken- gewicht g	Fläche qcm	Chloro- phyll- gehalt mg	in 1 Stunde assimi- liertes CO <sub>2</sub> g	Assi- miliations- zahl
Erbse, unreif	40 g Hülsen	6.1	140	3.8	0.088	17.9
Birne, reif, gelb- grün	—	—	230	1.35	0.015	11.1
Kürbis, reif, grün	15 g äußerste grüne Schicht	—	254	18.4	0.088	4.6
Weintraube, halb- reif, grün	aus 100 g Beeren	—	—	1.2	0.002	1.7

Chlorophyllarme Blätter (gelbblättrige Varietäten).

Einen tieferen Einblick in die Abhängigkeit der Photosynthese von inneren Faktoren als durch Untersuchung gewöhnlicher Laubblätter gewinnt man beim Aufsuchen von Grenzfällen der Assimilationstätigkeit. In solchen Fällen, bei denen es sich nicht um Einflüsse handelt, die anatomisch zu erklären sind, zeigt es sich, daß das Chlorophyll viel stärker und viel weniger stark ausgenutzt werden kann als in den zuvor angeführten Versuchen. Derartige Beispiele sind oben unter den herbstlichen Veränderungen des Laubes aufgefunden worden; einen weiteren besonders interessanten Grenzfall stellen die gelben Varietäten verschiedener Pflanzen dar.

Im Institut von C. Correns hat W. Pfeffer<sup>1)</sup> eine eingehende Untersuchung ausgeführt über »Kohlensäure-Assimilation und Atmung bei Varietäten derselben Art, die sich durch ihre Blattfärbung unterscheiden«; er hat die Frage behandelt, ob die Intensität der Photosynthese dem Chlorophyllgehalt parallel geht und ob den blaßgrünen Sippen Hilfsmittel zur Verfügung stehen, mit denen sie den durch

<sup>1)</sup> Beiträge zur Biologie der Pflanzen 11, 249, [1912].



verminderte Assimilation bedingten Ausfall decken. Plester führt den hier interessierenden Teil seiner Arbeit nur mit der Blatthälftenmethode aus. Die geprüften blaßgrünen Varietäten hatten zwischen 27.7 und 53.4 % vom Chlorophyll der typischen Sippen. Es ergab sich, daß mit der Chlorophyllkonzentration auch die Kohlensäureassimilation der hellgrünen Varietäten abnahm. In manchen Fällen war ein ungefähres Parallelgehen der Assimilation mit dem Chlorophyllgehalt zu erkennen. In anderen Fällen assimilierte die hellgrüne Varietät bedeutend stärker, als ihrem Chlorophyllgehalt entsprach, was auf besondere Einrichtungen hindeutete, mit welchen diese Pflanzen die höhere Kohlensäurezerlegung leisten können. Endlich kam es auch vor, daß der Assimilationswert kleiner war, als der Chlorophyllgehalt der blaßgrünen Varietät verlangte. Plester folgert aus seinen Ergebnissen, daß in allen Fällen die hellgrünen Varietäten schwächer assimilieren als die Stammpflanzen, daß aber ein Teil der Einbuße durch geringere Atmung wieder gutgemacht werde.

Es ist uns wahrscheinlich, daß die verminderte Atmung eine Folgeerscheinung ist, darauf beruhend, daß die oxydierbaren Substanzen in geringeren Mengen zur Verfügung stehen.

Die Untersuchung von Plester enthält also schon bemerkenswerte Hinweise auf Abweichungen von der Proportionalität zwischen Chlorophyll und Assimilation.

Das Wesentliche dieser Erscheinung tritt klarer zutage, wenn wir Beispiele mit viel größeren Differenzen im Chlorophyllgehalt (Blätter mit 15 % bis herunter zu 3 und noch weniger Prozenten vom Chlorophyllgehalt der typischen Form) aufsuchen und die Versuchsbedingungen so wählen, daß den gelben wie grünen Blättern die äußeren Faktoren in günstiger Weise geboten werden.

Allerdings entsprechen in den folgenden Tabellen die Assimilationszahlen nicht genau unserer Definition insofern, als zwar den chlorophyllreichen, aber nicht den gelben Blättern Licht im Überschusse geboten worden ist. Für die chlorophyllarmen Blätter sind also diese Assimilationszahlen Minimalwerte. In mehreren Versuchsreihen war es nicht möglich, den gelben Blättern ausreichende Belichtung zu gewähren, ohne ihnen bei der beträchtlichen Versuchsdauer eine Schädigung zuzufügen.

Zunächst finden wir, daß unter gewissen Bedingungen (15° anstatt der bei unseren meisten Versuchen gewählten Temperatur von 25°) der absolute Betrag der von gleichen Blattmengen assimilierten

Kohlensäure bei sehr chlorophyllarmen Varietäten die Leistung normaler Varietäten erreichen kann. Unter diesen Bedingungen sind sogar höhere Assimilationsbeträge (siehe das folgende Beispiel) mit gleichen Blattflächen von chlorophyllarmen als von chlorophyllreichen Pflanzen vorgekommen.

Ulme.

5-prozentige Kohlensäure; 3000 Kerzen in 35 cm Abstand  
(ungefähr 24 000 Lux).

Varietät	Temperatur	Gewicht der Blätter g	Trockengewicht g	Blattfläche qcm	Chlorophyllgehalt mg	Assimiliertes CO <sub>2</sub> (g) in 1 Stunde	Assimiliertes CO <sub>2</sub> (g) in 1 Stunde für 1 qm	Assimilationszahl
chlorophyllarm	25°	8.0	2.0	321	0.95	0.075	2.3	79
chlorophyllarm	15°	dieselben Blätter	2.0	321	0.95	0.056	1.7	59
chlorophyllreich	25°	8.0	2.35	421	13.0	0.089	2.1	69
chlorophyllreich	15°	dieselben Blätter	2.35	421	13.0	0.059	1.4	45

Die Annäherung der Assimilationsleistungen von chlorophyllarmen und chlorophyllreichen Blättern mit der Erniedrigung der Temperatur und die Verschiedenheit der Temperaturkoeffizienten sind von Bedeutung für die Beurteilung der Faktoren, die außer dem Chlorophyll bei der Photosynthese wirken.

Weiter zeigt es sich (siehe die nachstehende Tabelle) in allen Fällen, daß die Assimilationsleistungen, auf den Chlorophyllgehalt bezogen, also die Assimilationszahlen, bei den gelben Varietäten ein Vielfaches betragen von den normalen Zahlen, z. B. das Zehnfache und fast das Zwanzigfache.

Von der gelbblättrigen Holundervarietät wurden schließlich die farbstoffärmsten Blätter, hellstrohgelbe, untersucht; mit dem tiefen Rückgang des Chlorophyllgehalts sank die Assimilation im absoluten Betrage tief, während die Assimilationszahl noch den höchsten bei dieser Pflanze beobachteten Wert behielt.

8 g Blätter (*Sambucus* var. *aurea*); Chlorophyll weniger als 0.1 mg. In 1 Stunde assimiliertes CO<sub>2</sub>: ungefähr 0.013 g. Assimilationszahl mindestens 140.

Dieser Versuch bestätigt die Unentbehrlichkeit des Chlorophylls.

Vergleich der Assimilationsleistungen normaler und gelbblättriger Varietäten; 25<sup>0</sup>); 5-prozentige Kohlensäure; ungefähr 48 000 Lux.

Pflanzenart	Varietät	Gewicht der Blätter g	Trocken- gewicht g	Blatt- fläche qcm	Chloro- phyll- gehalt mg	in 1 Stunde assimi- liertes CO <sub>2</sub> g	Assimi- lations- zahl
Acer Negundo	Stammform	5.0	1.0	215	10.4	0.130	12.5
Acer Negundo	f. <i>versicolor</i> (gelbblättrig)	5.0	0.95	324	1.4	0.077	55
Quercus Robur	Stammform	8.0	3.60	383	20.0	0.156	7.8
Quercus Robur	gelbblättrige Varietät	8.0	2.85	441	1.5	0.082	55
Sambucus nigra	Stammform	8.0	2.05	359	18.8	0.116	6.2
Sambucus nigra	var. <i>aurea</i>	8.0	1.55	366	0.65	0.078	120
Sambucus nigra	var. <i>aurea</i>	8.0	1.50	378	0.60	0.070	117

Die günstigen Assimilationsleistungen der gelbblättrigen Varietäten sind nicht auf ihren Gehalt an Carotinoiden zurückzuführen; es läßt sich beweisen, daß die gelben Pigmente keinen unmittelbaren Einfluß auf den Assimilationsvorgang besitzen. In zahlreichen Versuchen mit chlorophyllarmen und chlorophyllreichen Blättern wurde das violette Licht, für welches die Carotinoide Absorptionsvermögen haben, durch Einführung eines Kaliumbichromat-Filters zwischen Lampe und Assimilationskammer vollständig ausgeschaltet. Die Assimilationsleistung verriet keine Einbuße.

<sup>1)</sup> Die beiden Versuche mit *Acer Negundo* sind bei 30° ausgeführt.

Versuch mit *Sambucus nigra*, gelbblättrige Varietät.  
10 g Blätter; 3000 Kerzen in 25 cm Abstand; 5-prozentige Kohlensäure; 25°.

Intervall in Minuten	Austratende Luft in Liter	Assimiliertes CO <sub>2</sub> (g)	
		für das Intervall	für 1 Stunde
20	1.00	0.0055	<b>0.017</b>
22	1.10	0.0085	<b>0.023</b>
Kaliumbichromat (25 g in 2.5 l Wasser) wird eingeschaltet.			
18	0.90	0.0072	<b>0.024</b>
21	1.05	0.0082	<b>0.023</b>
19	1.00	0.0069	<b>0.022</b>
20	1.00	0.0076	<b>0.023</b>
Kaliumbichromat wird entfernt.			
20	1.05	0.0079	<b>0.024</b>
100	5.20	0.0396	<b>0.024</b>

#### Ergrünende etioliierte Blätter.

Unter Lichtausschluß gezogene (etioliierte) Pflanzen bringen chlorophyllfreie gelbe Blätter von anderer Art hervor als die oben beschriebenen gelben Varietäten. Die Assimilationsenergie ergrünender etiolierter Gewächse ist von Fr. Irving<sup>1)</sup> unter der Leitung von Blackman untersucht worden. Irving hat den Versuchspflanzen nicht kohlenstoffhaltige Luft zugeführt, sondern ihnen nur die eigene Atmungskohlensäure geboten. In einer Reihe ausführlich beschriebener Versuche findet sie, daß noch keine Assimilation stattfindet, wenn die Pflanzen schon einen großen Teil vom Chlorophyll besitzen, so daß sie grasgrün aussehen. Die Versuche sind mit Schößlingen von *Hordeum* und von *Vicia Faba* ausgeführt; die von den Pflanzen abgegebene Kohlensäure wird im Dunkeln und bei Belichtung verglichen und der Eintritt der Photosynthese am Verbrauch bei den Belichtungsversuchen erkannt.

Das Ergebnis von Irving haben wir überraschenderweise nicht bestätigt gefunden, als wir ihre Versuche wiederholten; vielmehr gelang es uns, festzustellen, daß die Blätter schon in einem sehr frühen Zustand des Ergrünes, nämlich mit 3—4 % vom normalen Chlorophyllgehalt, ihre Atmungskohlensäure vollständig verbrauchen. Unsere Versuchsanordnung war in einer Hinsicht genauer als bei Irving. Wir beobachteten nämlich die Temperatur an den belichteten Blättern selbst, nicht in einem umgebenden Bade; indem wir die durch Bestrahlung bewirkte Temperatursteigerung unterdrückten, beugten wir vermehrter Atmung vor.

<sup>1)</sup> Annals of Botany 24, 805 [1910].

Erster Versuch mit *Phaseolus vulgaris*. Von 10<sup>h</sup> V. bis 4<sup>h</sup> N. (Juni) mit etwa einem Drittel Tageslicht belichtet. 40 grüngelbe Blättchen (4.4 g). Versuchstemperatur 25°. Die Atmung betrug in je 20 Minuten 2.1 und 1.7 mg, bei Belichtung mit 48000 Lux in denselben Zeiten 0.0 mg, hierauf wieder im Dunkeln in 60 Minuten 4.8 mg.

Zweiter Versuch mit *Zea mays*. Von 10<sup>h</sup> V. an 24 Stunden bei halbbedecktem Himmel (Juni) offen aufgestellte Blätter (8 g), von der Basis bis zur Mitte grünlich, in der oberen Hälfte gelb. Versuchstemperatur 25°. Die Atmung ergab in 2 Perioden von 20 Minuten je 1.7 mg, bei Belichtung 0.5 und 0.2 mg, wieder im Dunkeln 1.4 mg.

Die genauere Untersuchung der assimilatorischen Leistungsfähigkeit ergrünender etiolierter Blätter ergab, daß sie im entgegengesetzten Sinne, als Irving angenommen hat, von der Norm abweicht. Die Assimilationszahlen wurden unter den eingeführten Bedingungen maximaler Assimilation mit Proben in den verschiedenen Zuständen des Ergrünens ermittelt.

Assimilationsleistungen ergrünender etiolierter Blätter.  
25°; 5-proz. Kohlensäure; ungefähr 48000 Lux.

Pflanzenart	Belichtung	Aussehen	Gewicht der Blätter g	Trocken- gewicht g	Blattfläche qcm	Chlorophyll- gehalt (mg) (am Ende des Versuches)	In 1 Stunde g assimiliertes CO <sub>2</sub>	Assimilations- zahl
Phas. vulg.	nicht belichtet	reingelb	5.0	—	—	wenig. als 0.1	0.007	> 70
» »	11. Juni 6 Stunden	grünlich- gelb	4.4	—	—	0.3	0.040	13.3
» »	29. Mai 2 Tage	gelbgrün	5.0	0.70	216	4.0	0.096	24
» »	31. Mai 4 Tage	grasgrün	5.0	0.74	260	7.8	0.104	13.3
Am Licht	gezogene Vergleichs- pflanze		5.0	0.64	276	9.3	0.087	9.4
Zea mays	14. Juni 1 Tag	grünlich- gelb	8.0	0.64	454	0.3	0.054	18
» »	31. Mai 2 Tage	grüngelb	8.0	0.80	553	2.2	0.036	16.4
» »	3. Juni 5 Tage	grasgrün	8.0	0.80	468	7.0	0.068	9.7
Am Licht	gezogene Vergleichs- pflanze		8.0	1.08	514	9.4	0.048	5.1

Die ergrünteten etiolierten Blätter zeigen, so lange ihr Chlorophyllgehalt gering ist, viel höhere Assimilationszahlen als andere jugendliche Blätter. Der Unterschied beruht darauf, daß in ihnen die Produktion des Chlorophylls, nicht die des assimilierenden Enzyms, unterdrückt ist. In ihrer assimilatorischen Leistung sind die ergrünenden etiolierten Blätter den früher untersuchten gelben Varietäten ähnlich.

### Chlorotische Blätter.

Hinsichtlich der assimilatorischen Leistungsfähigkeit unterscheiden sich chlorotische Gewächse wesentlich von den gelben Varietäten und von etiolierten Blättern, indem bei ihnen das spärlich vorhandene Chlorophyll nur ganz mäßig ausgenützt wird. Die chlorophyllarmen oberen Blätter chlorotischer Pflanzen geben nämlich normale oder etwas tiefere Assimilationszahlen.

Assimilationsleistungen chlorotischer Blätter.  
25°; 5-proz. Kohlensäure; ungefähr 48000 Lux.

Pflanzenart	Beschreibung	Gewicht der Blätter g	Trocken- gewicht g	Blattfläche qcm	Chloro- phyllgehalt mg	In 1 Stunde assimiliertes CO <sub>2</sub> g	Assimilations- zahl
Helianthus	erstes Paar Laubblätter, grünlich-gelb	5.6	—	193	1.1	0.014	18
„	„ ebenso (andere Kultur)	8.0	0.60	322	2.3	0.050	24.7
„	Samenlappen vom 1. Versuch, tiefgrün	11.6	—	182	4.4	0.086	19.5
„	Vergleichs- pflanze, in Fe-haltiger Lö- sung gezogen	8.0	0.76	314	9.3	0.107	11.5
Zea mays	drittes und viertes Blatt, grüngelb	8.0	0.68	340	1.5	0.005	3.3
„	Vergleichs- pflanze, in Fe-haltiger Lö- sung gezogen	8.0	0.76	368	12.4	0.086	6.9

Die assimilatorische Leistung stimmt zu der wohlbekannten Eigenart chlorotischer Blätter, die sehr wenige fertig gestaltete Chloroplasten

aufweisen. Wie schon als festgestellt gilt, ist das Eisen für die Bildung der Chlorophyllkörper notwendig; bei der quantitativen Prüfung der Assimilation hat sich nun kein Anzeichen dafür ergeben, daß außerdem eine eisenhaltige Verbindung mit dem Chlorophyll bei der Photosynthese zusammenwirke, daß also dem Eisen eine besondere Rolle im Assimilationsvorgang selbst zukomme.

Vor kurzem hat B. Moore <sup>1)</sup> in einer ausführlichen Abhandlung den schon lang geführten Nachweis von Eisen in Pflanzenteilen, vermeintlich in dem farblosen Teile der Chloroplasten, wiederholt. Die Zusammenfassung seiner Arbeit enthält unter anderen Annahmen, die mit dem Scheine des Bewiesenen vorgetragen sind, den folgenden Satz, welcher der experimentellen Begründung ermangelt hat und nun noch weniger wahrscheinlich geworden ist: »The iron-containing substances of the colourless portion of the chloroplast, and the chlorophyll produced by them, then become associated in the functions of photosynthesis as a complete mechanism for the energy transformation.«

#### Ergebnis.

Die wichtigsten Fälle, in welchen die assimilatorische Leistung in entgegengesetztem Sinne wie der Chlorophyllgehalt von der Norm abweicht, sind die folgenden:

Die herbstlichen grünen Blätter, deren Assimilationszahlen sehr niedrig sind, die chlorophyllarmen Blätter gelber Varietäten, die sehr hohe Assimilationszahlen zeigen, und die ergrünenden etiolierten Blätter, die sich hinsichtlich der Ausnützung des Chlorophylls ähnlich verhalten.

Diesen Fällen reiht sich die Verschiebung der Assimilationszahlen beim Wachsen der Blätter an, nämlich das Sinken, welches in der Frühjahrsperiode und auch sonst beim Vergleich junger und alter Blätter beobachtet wird.

Diese Erscheinungen sind nicht mit der Annahme verschiedener Verteilung des Chlorophylls zu erklären, sondern sie lassen erkennen, daß außer dem Chlorophyll ein anderer innerer Faktor an dem Assimilationsvorgang beteiligt ist, und zwar sind sie nur unter der Annahme zu verstehen, daß zwei verschiedenen Gesetzen gehorchende Faktoren bei der Assimilation zusammenwirken. Der Ort, an dem der nun zu definierende zweite Faktor wirkt, ist noch nicht sicher bekannt.

Daß dieser Faktor enzymatischer Natur ist, läßt sich namentlich schließen aus vergleichenden Versuchen bei verschiedenen Be-

<sup>1)</sup> Proc. Roy. Soc. London, Ser. B., 87, 556 [1914].

lichtungen und verschiedenen Temperaturen mit chlorophyllreichen und -armen Blättern.

Bei chlorophyllreichen Blättern ist unter den geschilderten Versuchsbedingungen eine Vermehrung des Lichts ohne Einfluß auf die Assimilation; diese sinkt nicht, wenn wir mit der Lichtstärke auf die Hälfte bis ein Viertel herabgehen. Das spricht für die Annahme, daß hier das Chlorophyll gegenüber dem assimilatorischen Enzym im Überschuß ist. Erhöhung der Temperatur bewirkt bei den normalen Blättern Steigerung der Assimilation, weil der enzymatische Vorgang durch Temperaturerhöhung stark beschleunigt wird. Umgekehrt liegen die Verhältnisse bei den wenig Farbstoff enthaltenden Blättern, bei den untersuchten gelbblättrigen Varietäten. Hier finden wir nur einen geringen Einfluß der Temperatursteigerung von 15 auf 30°. Das Enzym ist aber hier im Überschuß gegenüber dem Chlorophyll, schon bei mittlerer Temperatur (25°) genügt das Enzym für die Leistung des Chlorophylls. Hingegen ist die Steigerung des Lichtes von Nutzen; bei Verminderung der Lichtstärke erfolgt sofort Rückgang der Assimilation. Nur wenn das Chlorophyll vollständig ausgenützt wird, nämlich bei stärkster Belichtung, läßt sich in den chlorophyllarmen Blättern die maximale Leistung für das vorhandene Enzym erzielen. Die diesen Folgerungen zugrunde liegenden Versuche eignen sich nicht für eine kurze Mitteilung, sie sollen daher an anderer Stelle genau beschrieben werden.

Die auffälligen Erscheinungen bei herbstlicher Veränderung des Laubes sind dadurch bedingt, daß entweder das Chlorophyll mehr leidet als das Enzym (Steigerung der Assimilationszahlen), oder daß umgekehrt der enzymatische Prozeß in höherem Maße geschädigt wird als der Chlorophyllgehalt (Sinken der Assimilationszahlen). Die Wiederbelebung der zur Assimilation annähernd unfähig gewordenen Blätter beim Verweilen in warmem feuchtem Raume zeigt die Neubildung des Enzyms oder die Beseitigung von Hemmungen des enzymatischen Vorgangs an.

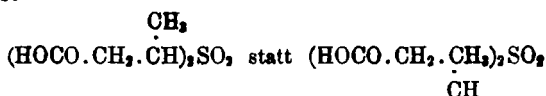
Es war uns bei zahlreichen Versuchen nicht möglich, mit dem isolierten Chlorophyll oder mit isolierten Chloroplasten Assimilation auszuführen; das negative Ergebnis wird darauf beruhen, daß das Chlorophyll mit dem Enzym zusammenwirken muß. Wir haben beobachtet, daß schon milde Eingriffe in die Struktur der Zelle die Assimilation aufheben. Blätter, die wir an der unteren Seite von der Epidermis mit ihren Spaltöffnungen und Schließzellen befreit hatten, assimilierten gut; unterwarfen wir sie aber nur ganz kurz einem gelinden Druck, so erfolgte keine Assimilation mehr.



Aus den geschilderten Versuchen ist also zu folgern, daß eine Teilreaktion der Kohlensäure-Assimilation ein enzymatischer Prozeß ist. Dieser spielt sich wahrscheinlich ab an der Berührungsschicht der Chloroplasten mit dem Plasma. Die Aufgabe des Enzyms mag es sein, den Zerfall eines aus Chlorophyll und Kohlensäure gebildeten Zwischenproduktes unter Abgabe von Sauerstoff zu bewirken.

#### Berichtigung.

Jahrg. 48, Heft 12, S. 1256, 27—32 mm v. o. und S. 1261, 143 mm v. o. (Formel) lies:



und S. 1260, 32—35 mm v. o. und S. 1261, 35—40 mm v. o. (Formel) lies:

