

Die Arbeit der Atmungsenzyme der Pflanzen unter verschiedenen Verhältnissen.

Von
W. Palladin.

Mit fünf Abbildungen im Text.

(Pflanzenphysiologisches Institut der Universität St. Petersburg.)
(Der Redaktion zugegangen am 12. März 1906.)

Meine letzte Arbeit,¹⁾ sowie die gleichfalls in meinem Laboratorium ausgeführten Arbeiten von Fräulein Krasnoselsky,²⁾ zeigen, daß die von mir ausgearbeitete Abtötungsmethode durch niedrige Temperaturen bei der Untersuchung der Arbeit der Atmungsenzyme höherer Pflanzen äußerst wertvolle Resultate liefert. In vorliegender Arbeit will ich nach dieser Methode versuchen, das quantitative Verhältnis dieser Enzyme bei verschiedenen Pflanzen in Abhängigkeit von der Nahrung, Entwicklungsstadium, anatomischem Bau und umgebendem Medium festzustellen.

Um die Pflanzenteile zu gefrieren, wurden sie in große Reagenzgläser von ca. 100 ccm Inhalt gebracht, die dann durch Kautschukpfropfen fest verschlossen wurden. Weiter wurden die Pfropfen mit einer Vaselinschicht bedeckt, um das Eindringen der Kältemischung zu verhindern. Nun wurden die Reagenzgläser in die aus Eis oder auch Schnee, Kochsalz und salpetersaurem Ammoniak bestehende Kältemischung³⁾ gebracht. Nach

¹⁾ W. Palladin, Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft, 1905, S. 240.

²⁾ T. Krasnoselsky, Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft, 1905, S. 142; 1906 (wird bald erscheinen).

³⁾ Welter, Tiefe Temperaturen, 1895.

Verlauf einer Stunde sank die Temperatur bis -20° und niedriger. In dieser Mischung blieben die Pflanzen bis zum nächsten Tage (ca. 20 Stunden), wobei die Temperatur bis auf -10° oder -3° stieg. Die erfrorenen Pflanzen wurden nun in ein V-förmiges Rohr von ca. 250 ccm Inhalt gebracht, in dessen hinterem Schenkel ein Wattestopfen steckte, der dann mit 4 ccm Toluol benetzt wurde. Infolgedessen ist das in den Apparat gelangende Gas (Luft oder Wasserstoff) mit Toluoldämpfen gesättigt, wodurch die Entwicklung von Bakterien verhütet wird, während die Toluoldämpfe keinen Einfluß auf den Titer des Barytwassers, welches zur Absorption der von den erfrorenen Pflanzen ausgeschiedenen Kohlensäure benutzt wird, ausüben. Die Eigentümlichkeit meiner Methode besteht darin, daß ich die erfrorenen Pflanzen unversehrt und nicht zerrieben in den Apparat bringe. Meine Versuche zeigten, daß nur unter dieser Bedingung eine größere Menge Kohlensäure ausgeschieden wird, da jede Schädigung des anatomischen Baues und der zelligen Struktur der abgetöteten Pflanzen störend auf die Tätigkeit der Atmungsenzyme wirkt. Die Pflanzen wurden in dem V-förmigen Rohr bis zum vollkommenen Verschwinden der Kohlensäureausscheidung gelassen. In einer Reihe von Versuchen wurde ein Luftstrom durch den Apparat gezogen, in anderen Versuchen wurde zuerst Wasserstoff verwendet, um zunächst die Kohlensäuremenge bei anaerober Atmung zu bestimmen. Nachdem dann die Ausscheidung von Kohlensäure aufgehört hatte, wurde der Wasserstoffstrom durch einen Luftstrom ersetzt, wonach meist (wenn auch nicht immer) von neuem eine starke Kohlensäureausscheidung infolge der eingeleiteten Oxydationsprozesse begann, die dann ebenfalls allmählich aufhörte.

Das Enzym der anaeroben Atmung bezeichnete ich in der vorhergehenden Arbeit mit dem Namen Carbonase. Das Enzym, welches nach Einführung von Sauerstoff den Beginn des Oxydationsprozesses bewirkt, will ich in vorliegender Arbeit vorläufig Oxydase nennen. Nach dem vollständigen Verschwinden der Kohlensäureausscheidung an der Luft wurden die Pflanzen in einer Reihe von Versuchen dem Apparat entnommen, in einer

Reibschale zerrieben, mit destilliertem Wasser übergossen und in einen Erlenmeyer'schen Kolben von 300 ccm Inhalt gebracht. Nach Hinzufügung einer 20%igen Pyrogallollösung wurde der Kolben durch einen Kautschukpfropfen mit zwei gebogenen Glasröhren geschlossen und umgekehrt. (Fig. 1.) Durch die eine Röhre wird Luft in den Kolben geleitet; die andere Röhre dient zum Austritt der Gase. Nach der Hinzufügung der Pyrogallollösung beginnt in den meisten Fällen von neuem eine äußerst starke Kohlensäureausscheidung. Pyrogallol wurde von Bertrand¹⁾ und dann von Chodat und Bach²⁾ zur Konstatierung und quantitativen Bestimmung der Oxydationsenzyme verwendet. Indem ich mich der Theorie von Chodat und Bach anschließe, vermute ich, daß die durch Pyrogallol angeregte Kohlensäureausscheidung ein Resultat der gemeinsamen Tätigkeit der Oxygenase (höhere Hydro-superoxyde) und der Peroxydase ist. Infolge dessen schließe ich auf Grund der hierbei ausgeschiedenen Kohlensäuremenge auf die Quantität der in den Pflanzen enthaltenen Oxygenase. Das Aufhören der Ausscheidung von Kohlensäure nach einer gewissen Zeit weist auf das Verschwinden der Oxygenase hin. Hiernach wurde 3%ige Wasserstoffsuperoxydlösung in den Kolben gegossen, worauf wiederum eine starke Kohlensäureentwicklung erfolgte. Da nun nach der Theorie von Chodat und Bach ein Teil der Peroxydase bereits zu ihrer gemeinsamen Arbeit mit der Oxygenase verbraucht worden war, zeigt die nach der Hinzufügung von H_2O_2

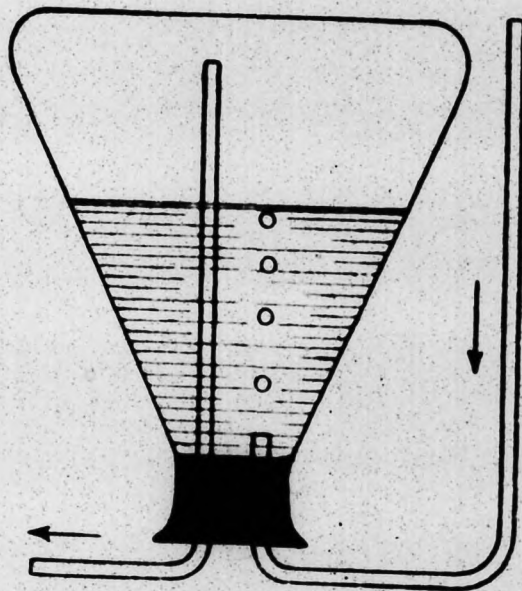


Fig. 1.

¹⁾ Bertrand, Annales de chimie et de physiq., 7^e série, Bd. XII, 1897, S. 115.

²⁾ Chodat und Bach, Berichte d. Deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. XXXV, S. 2466, Bd. XXXVI, S. 601, 1756, Bd. XXXVII, S. 36; Archives des sciences physiques et naturelles, Bd. XVII, 1904, S. 477.

ausgeschiedene Kohlensäure die Menge der übrig gebliebenen Peroxydase an. Die Summe der sowohl nach Hinzufügung von Pyrogallol als auch von H_2O_2 ausgeschiedenen Kohlensäuremenge gibt nun eine Vorstellung von der in den untersuchten Pflanzen enthaltenen Peroxydase.

Die Bestimmung der ausgeschiedenen Kohlensäure wurde in allen Fällen mit Hilfe der Pettenkofer'schen Röhren ausgeführt.¹⁾

Als Untersuchungsobjekte dienten etiolierte Blätter von *Vicia Faba*, die Gipfel etiolierter Stengel von *Vicia Faba*, Weizenkeime und alte Blätter von *Ficus elastica*, *Plectogyne japonica* und *Piperomya marmorata*. Die etiolierten Blätter wurden in der einen Versuchsreihe, sofort nachdem sie abgeschnitten waren, erfroren; in einer anderen Serie von Versuchen wurden sie zuerst im Laufe einiger Tage auf einer 10%igen Saccharoselösung im Dunkelraume oder am zerstreuten Lichte kultiviert und dann erst erfroren. Die am Lichte kultivierten Blätter nahmen hierbei eine grüne Färbung an. Die Weizenkeime wurden aus Zürich (Stadtmühle) bezogen. Zunächst wurden sie durch Sieben von Beimengungen befreit, gewaschen, darauf 1—2 Stunden unter einer dünnen Wasserschicht geweicht und dann auf ca. 1 Stunde in dünner Schicht auf Fließpapier gelegt. Erst hierauf wurden sie in den Apparat gebracht oder erfroren.

A. Einfluß der Nahrung und des Entwicklungsstadiums.

Versuch 1.

Die etiolierten Blätter von *Vicia Faba* (mittlerer Größe) wurden in vier Portionen geteilt. Zwei Portionen wurden unmittelbar in den Pettenkofer'schen Apparat gebracht. Die anderen zwei Portionen wurden während zwei Tagen im Dunkelraum auf einer 10%igen Saccharoselösung kultiviert und erst dann in den Pettenkofer'schen Apparat gebracht.

¹⁾ W. Pfeffer, Untersuchungen aus d. bot. Institut zu Tübingen, Bd. I, S. 637, 1885.

a) Ohne Zuckernahrung (lebende Blätter).

Temperatur 18°.

| Dauer des Versuches in Stunden | 1. Portion (3,8 g) Luftstrom | | | 2. Portion (4,2 g) Wasserstoffstrom | | |
|--------------------------------|------------------------------|-----------|-----------------------|-------------------------------------|-----------|-----------------------|
| | Menge der CO ₂ | | | Menge der CO ₂ | | |
| | in mg | auf 100 g | in 1 Stunde auf 100 g | in mg | auf 100 g | in 1 Stunde auf 100 g |
| 3 | 7,6 | 200 | 66,6 | 3,6 | 86 | 28,7 |
| 3 | 4,8 | 126 | 42,0 | 2,0 | 48 | 16,0 |
| 15 1/2 | 18,0 | 474 | 30,6 | 6,4 | 152 | 9,6 |
| 2 | | 800 | | | Luftstrom | |
| 21 1/2 | | | | 4,4 | 105 | 52,5 |
| | | | | 22,0 | 520 | 24,2 |
| | | | | | 911 | |

Nach dem Versuche wurden die Blätter der ersten Portion mit 50 ccm destillierten Wassers in einem Mörser zerrieben und in den umgekehrten Erlenmeyer'schen Kolben gebracht. Der erhaltene flüssige Brei schied nach Zufügen des H₂O₂ folgende Menge von Kohlensäure aus.

| Menge des zugefügten H ₂ O ₂ in ccm | Dauer des Versuches in Stunden | Menge der CO ₂ | |
|---|--------------------------------|---------------------------|-----------------------|
| | | in mg | auf 100 g der Blätter |
| 10 | 23 | 31,6 | 831 |
| 10 | 48 | 32,8 | 863 |
| | | 64,4 | 1694 |

Es wurde keine CO₂ mehr ausgeschieden.

b) Nach Zuckernahrung (lebende Blätter).

Temperatur 18°.

| Dauer des Versuches in Stunden | 3. Portion (3,6 g) Luftstrom | | | 4. Portion (3,7 g) Wasserstoffstrom | | |
|--|---------------------------------|-----------|-----------------------------|--|-----------|-----------------------------|
| | Menge der CO ₂ | | | Menge der CO ₂ | | |
| | in mg | auf 100 g | in 1 Stunde auf 100 g | in mg | auf 100 g | in 1 Stunde auf 100 g |
| 3 | 14,8 | 411 | 137,0 | 5,2 | 140 | 46,6 |
| 3 | 14,8 | 411 | 137,0 | 4,4 | 119 | 39,7 |
| 17 | 50,0 | 1388 | 81,6 | 20,0 | 540 | 31,8 |
| 7 ¹ / ₂ | 22,8 | 633 | 84,4 | — | — | — |
| 4 ¹ / ₂ | — | — | — | 6,4 | 173 | 38,4 |
| 3 ¹ / ₂ | — | — | — | 20,0 | 540 | 154,3 |

Nach dem Versuche wurden die Blätter der dritten Portion mit 50 ccm destillierten Wassers zerrieben und in umgekehrte Erlenmeyer'sche Kolben gebracht. Nach dem Zufügen des H₂O₂ wurde folgende Menge Kohlensäure ausgeschieden:

| Menge des zugefügten H ₂ O in ccm | Dauer des Versuches in Stunden | Menge der CO ₂ | |
|--|--------------------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | | in mg | auf 100 g der Blätter |
| 10 | 21 | 59,6 | 1655 |
| 10 | 19 | 54,4 | 1511 |
| 10 | 24 | 63,6 | 1766 |
| | | 177,6 | 4932 |

Das Verhältnis der durch die lebenden Blätter der dritten und ersten Portion während der letzten Stunden vor ihrer Zerkleinerung ausgeschiedenen Kohlensäuremengen ist gleich:

$$\frac{84,4}{30,6} = 2,7$$

Das Verhältnis der von den zerriebenen Blättern nach

Zufügung von Wasserstoffsperoxyd ausgeschiedenen Kohlen- säuremengen ist gleich:

$$\frac{4932}{1694} = 2,9$$

Um wieviel folglich die auf Zucker kultivier- ten lebenden Blätter mehr Kohlensäure aus- geschieden haben, als die Blätter, welche kei- nen Zucker erhalten haben, um ebenso viel haben die abgetöteten, auf Zucker kultivierten Blätter nach Zufügung von Wasserstoffsperoxyd mehr Kohlensäure ausgeschieden, als die abgetöteten Blätter, die keinen Zucker erhalten hatten.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Fi- gur 2 dargestellt.

Wir sehen, daß in Übereinstimmung mit meinen früheren,¹⁾ auch von Godlewski²⁾ be- stätigten Untersuch- ungen die Einführung von Zucker die Intensi- tät der normalen wie auch der anaeroben At- mung stark erhöht.

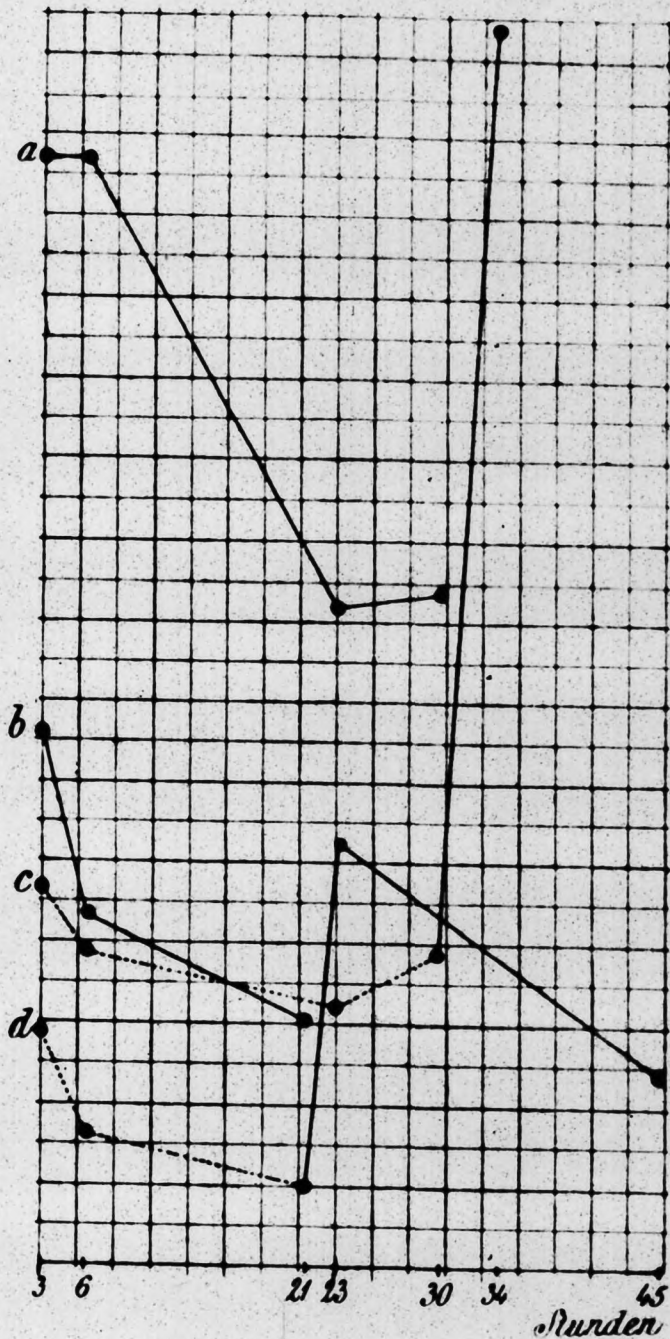


Fig. 2.

Normale und anaerobe Atmung lebender etiolierter Blätter von *Vicia Faba*. *b* normale Atmung der nicht ernährten Blätter. *a* normale Atmung der mit Zucker ernährten Blätter. *d* anaerobe Atmung der nicht ernährten Blätter. *c* anaerobe Atmung der mit Zucker ernährten Blätter.

¹⁾ W. Palladin, Revue générale de botanique, Bd. V, 1893, S. 449, Bd. VI, 1894, S. 201.

²⁾ E. Godlewski, Anzeiger der Krakauer Akad. d. Wissensch., 1904, S. 115.

Außerdem zeigt es sich, daß nach längerem Verweilen der Blätter in einer Wasserstoffatmosphäre die Kohlensäureerzeugung fast vollständig aufhört. Wird Wasserstoff wieder von Luft ersetzt, so steigert sich nicht nur die Kohlensäureausscheidung, sondern sie übersteigt sogar bedeutend die normale Kohlensäureausscheidung in der Luft. Eine ähnliche, zeitweilig die Norm um mehrere Mal übersteigende Verstärkung der Atmung habe ich¹⁾ schon bei der Alge *Chlorochecium saccharophilum* beobachtet.

Versuch 2.

Große, etiolierte Blätter von *Vicia Faba* wurden in vier Portionen geteilt. Zwei Portionen wurden unmittelbar erfroren. Die anderen zwei Portionen wurden während drei Tagen im Dunkelraum auf einer 10%igen Saccharoselösung kultiviert und erst dann erfroren.

a) Ohne Zuckernahrung (erfrorene Blätter).
Temperatur 19°.

| Dauer des Versuches in Stunden | 1. Portion (8,2 g) Luftstrom | | | 2. Portion (8,8 g) Wasserstoffstrom | | |
|--|---------------------------------|-----------|-----------------------------|--|-----------|-----------------------------|
| | Menge der CO ₂ | | | Menge der CO ₂ | | |
| | in mg | auf 100 g | in 1 Stunde auf 100 g | in mg | auf 100 g | in 1 Stunde auf 100 g |
| 4 | 10,4 | 126 | 31,5 | 9,8 | 111 | 27,7 |
| 4 | 6,8 | 82 | 20,5 | 3,2 | 36 | 9,4 |
| 15 | 6,4 | 78 | 5,2 | 3,2 | 36 | 2,4 |
| 25 | Spuren | — | — | 14,8 | 168 | 6,7 |
| 15 | — | — | — | 6,8 | 77 | 5,1 |
| 63 | 23,6 | 286 | — | 37,8 | 428 | — |

Es wurde keine CO₂ mehr ausgeschieden.

Wenn wir nun von der an der Luft ausgeschiedenen Kohlensäuremenge die in der Wasserstoffatmosphäre ausge-

¹⁾ W. Palladin, Zentralblatt für Bakteriologie, II. Abt., Bd. XI. 1903, S. 146.

schiedene Kohlensäuremenge abziehen, so erhalten wir für die Oxydationsprozesse folgende Quantitäten von Kohlensäure:

| Dauer des Versuches | Kohlensäure der Oxydations- prozesse in 1 Stunde | |
|------------------------|---|------|
| 4 Stunden | 126 — 111 = 15 | 3,7 |
| 4 „ | 82 — 36 = 46 | 11,5 |
| 15 „ | 78 — 36 = 42 | 2,8 |

Auf Grund dieser Versuche können wir folgende Schlüsse ziehen:

1. Wenn wir die an der Luft und in einer Wasserstoffatmosphäre von den erfrorenen Blättern ausgeschiedenen Kohlensäuremengen vergleichen, sehen wir, daß in der ersten Zeit auch an der Luft der anaerobe Prozeß der Kohlensäurebildung überwiegt. In der vorigen Arbeit¹⁾ fand ich, daß die Preßsäfte gefrorener Gipfel etiolierter Stengel von *Vicia Faba* in den ersten 2 Stunden sowohl an der Luft wie auch in Wasserstoff je 0,8 mg CO₂ ausschieden. Folglich findet in den ersten 2 Stunden nur ein anaerober Prozeß statt.

2. Die gefrorenen Blätter werden an der Luft bald schwarz. In einer Wasserstoffatmosphäre behielten die Blätter hingegen während der ganzen Versuchsdauer ihr grelles Gelb und begannen erst nach der Einführung von Sauerstoff sich schnell zu schwärzen.

3. Wenn man nach dem Aufhören der Kohlensäureausscheidung in eine Wasserstoffatmosphäre Luft eintreten läßt, so beginnt von neuem eine starke Kohlensäurebildung. Die Summe der zuerst in Wasserstoff und dann an der Luft gebildeten Kohlensäuremengen übersteigt beträchtlich die in parallelem Versuche an der Luft ausgeschiedene Kohlensäuremenge. Das Verhältnis beträgt $\frac{428}{286} = 1,5$. Folglich wird durch die anaerobe Atmung das Material für die nachfolgenden Oxydationsprozesse vorbereitet. Bei Mangel an Oxydationsmaterial wirkt das Oxydationsenzym augenscheinlich zerstörend auf das anaerobe Enzym (Carbonase),²⁾ wodurch sich auch die Tat-

¹⁾ W. Palladin, Berichte d. botan. Gesellsch., 1905, S. 243.

²⁾ Die Fräulein Gromow und Grigoriew haben in einer in meinem Laboratorium ausgeführten Arbeit z. B. auch gefunden, daß

sache erklären läßt, daß beide Enzyme bei gemeinsamer Arbeit (in abgetöteten Blättern) weniger Kohlensäure bilden, als bei aufeinanderfolgender Tätigkeit der Carbonase und der Oxydase.

b) Nach Zuckernahrung (erfrorene Blätter).

Temperatur 19°.

| Dauer des Versuches in Stunden | 3. Portion (8,2 g) Luftstrom | | | 4. Portion (8,3 g) Wasserstoffstrom | | |
|--|---------------------------------|-----------|-----------------------------|--|-----------|-----------------------------|
| | Menge der CO ₂ | | | Menge der CO ₂ | | |
| | in mg | auf 100 g | in 1 Stunde auf 100 g | in mg | auf 100 g | in 1 Stunde auf 100 g |
| 4 | 12,6 | 153 | 38,2 | 7,6 | 92 | 23,0 |
| 4 | 8,4 | 102 | 25,5 | 2,2 | 26 | 6,5 |
| 15 | 7,2 | 88 | 5,9 | 4,0 | 48 | 3,2 |
| | | | | | Luftstrom | |
| 3 | Spuren | — | — | 13,6 | 163 | 54,3 |
| 6 | — | — | — | 7,6 | 92 | 15,3 |
| 15 | — | — | — | 4,4 | 53 | 3,5 |
| 47 | 28,2 | 343 | — | 39,4 | 474 | — |

Auf Grund dieses Versuches werden folgende von Oxydationsprozessen herrührende Kohlensäuremengen berechnet:

| Dauer des Versuches | Kohlensäure der Oxydations- prozesse in 1 Stunde |
|------------------------|---|
| 4 Stunden | $153 - 92 = 61$ 15,2 |
| 4 „ | $102 - 26 = 76$ 19,0 |
| 15 „ | $88 - 48 = 40$ 2,7 |

Die Resultate dieses zweiten Teiles des Versuches sind auf Figur 3 dargestellt.

Auf Grund des angeführten Versuches kann man folgende Schlüsse ziehen.

1. Wider Erwarten scheiden die nach Zuckergabe abgetöteten etiolierten Blätter in einer Wasserstoffatmosphäre weniger Kohlensäure aus, als die nicht ernährten Blätter. Da

Chinin die Arbeit der proteolytischen Enzyme und ihre zerstörende Wirkung auf die Zymase hemmt. (Diese Zeitschrift, Bd. XLII, 1904, S. 299.)

nun in etiolierten Bohnenblättern die Kohlehydrate fast vollkommen fehlen,¹⁾ durfte man erwarten, daß die auf Zucker kultivierten Blätter auch nach ihrer Abtötung in einer Wasserstoffatmosphäre mehr Kohlensäure bilden müßten, als die nicht auf Zucker kultivierten Blätter. Hieraus folgt, daß der in gefrorenen Blättern sich abspielende anaerobe Prozeß der Kohlensäurebildung

nichts mit der Alkoholgärung gemein hat, da jener Prozeß am energischsten in denjenigen Blättern verläuft, die keine Kohlehydrate enthalten, ja sogar durch Einführung von Saccharose nur abgeschwächt wird. Diese Tatsache bietet einen neuen Stützpunkt für die Einführung einer besonderen Bezeichnung des Enzyms dieses anaeroben Prozesses der Carbonase. Durch alle

diese Ausführungen will ich keineswegs die Möglichkeit der Alkoholgärung bei den höheren Pflanzen verneinen, glaube aber nur, daß sie eine Nebenrolle spielt und nicht als ein Fundamentalprozeß bezeichnet werden kann. Schon aus einigen Tatsachen, die von Kostytschew²⁾ festgestellt sind, sieht man, daß zwischen

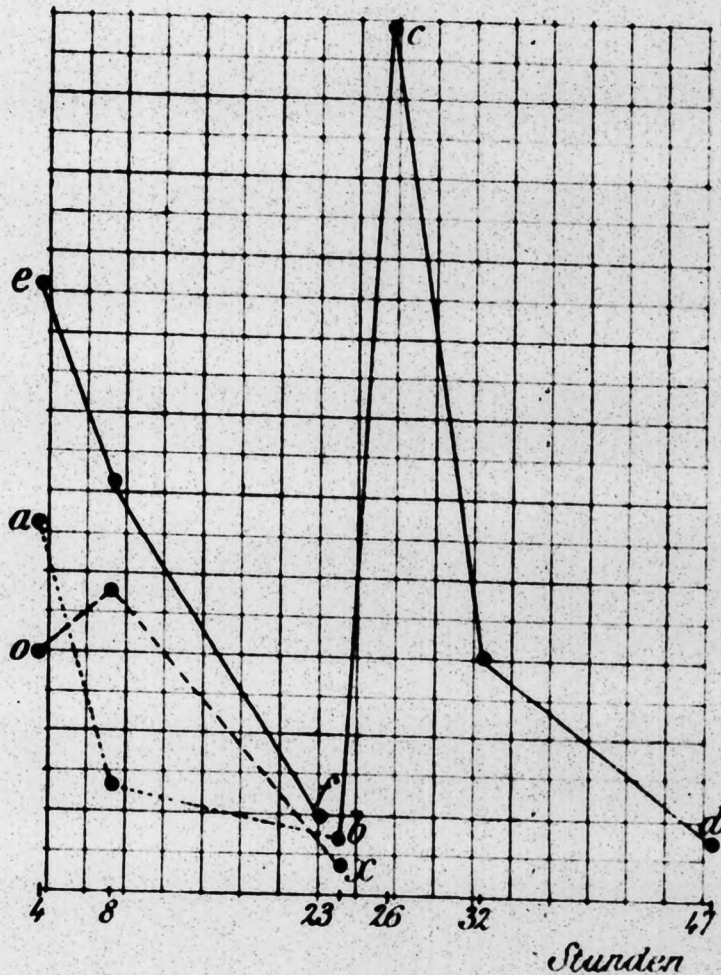


Fig. 3.

Atmung nach der Zuckergabe gefrorener etiolierter Blätter von *Vicia Faba*. *ef* Normale Atmung. *abcd* Der erste Teil (*ab*) der Kurve anaerobe und der zweite Teil (*bcd*) der Kurve Oxydationsatmung. *or* berechnete Kurve der durch Oxydationsprozesse gebildeten Kohlensäure.

¹⁾ W. Palladin, *Revue générale de botanique*, Bd. V, 1893, S. 449.

²⁾ Kostytschew, *Zentralblatt für Bakteriologie*, II. Abt., Bd. XIII, 1904, S. 490.

der anaeroben (intramolekularen) Atmung und der Alkoholgärung ein Unterschied ist.

2. Hingegen verstärkt die Einführung von Zucker die Oxydationsprozesse in erfrorenen Blättern um so viel, daß ungeachtet der schwächeren Kohlensäureausscheidung in einer Wasserstoffatmosphäre die Gesamtmenge der durch anaerobe und aerobe Prozesse in Zuckerblättern gebildeten Kohlensäure die von zuckerfreien Blättern ausgeschiedene Kohlensäuremenge beträchtlich übertrifft. Dieses Verhältnis ist gleich $\frac{474}{428} = 1,1$. Doch ist dieses Verhältnis um das Doppelte geringer, als das Verhältnis bei lebenden Blättern, welches im ersten Versuche gleich $\frac{410}{200} = 2,0$ war. Folglich wirkt die Einführung von Zucker, die bei lebenden etiolierten Blättern eine so starke Erhöhung der Atmungsenergie hervorrief, nach Abtötung der Blätter durch niedrige Temperaturen in weit geringerem Grade. Unzweifelhaft werden in lebenden Blättern durch Zuckergabe Vorgänge angeregt, die in erfrorenen Blättern nicht mehr zustande kommen können. Die Aufklärung dieser Vorgänge ist die Aufgabe künftiger Untersuchungen.

3. Die Natur des Oxydationsenzym und sein Verhältnis zur Oxygenase und Peroxydase bleibt noch unaufgeklärt. Ich bezeichne dieses Enzym vorläufig als Oxydase, da ich dasselbe auf Grund gewisser Erwägungen als von den beiden oben genannten Enzymen verschieden betrachte.

Versuch 3.

Die etiolierten Blätter von *Vicia Faba* (aus dem Gewächshause) wurden in vier Portionen geteilt. Zwei Portionen wurden unmittelbar erfroren. Die anderen beiden Portionen wurden während vier Tagen im Dunkelraum auf einer 10%igen Saccharoselösung kultiviert und erst dann erfroren.

In diesem Falle war die Zuckernahrung ohne Einfluß auf die Atmungsenergie der lebenden Blätter. Sie haben während zwei Stunden folgende Menge von Kohlensäure ausgeschieden:

| | | |
|--------------------|------------|------|
| Ohne Zuckernahrung | 1. Portion | 20,0 |
| „ | 2. „ | 18,8 |
| Nach | 3. „ | 20,4 |
| „ | 4. „ | 21,6 |

a) Ohne Zuckernahrung (erfrorene Blätter).
Temperatur 18—21°.

| Dauer des Versuches in Stunden | 1. Portion (8,2 g) Luftstrom | | | 2. Portion (8,2 g) Wasserstoffstrom | | |
|---|---------------------------------|-----------|-----------------------------|--|-----------|-----------------------------|
| | Menge der CO ₂ | | | Menge der CO ₂ | | |
| | in mg | auf 100 g | in 1 Stunde auf 100 g | in mg | auf 100 g | in 1 Stunde auf 100 g |
| 8 | 11,6 | 141 | 17,1 | 11,6 | 141 | 17,1 |
| 19 | 11,2 | 136 | 7,2 | 3,6 | 44 | 2,3 |
| 23 | 5,6 | 68 | 3,0 | Luftstrom | | |
| | 28,4 | 345 | — | 17,0 | 207 | 9,0 |
| | | | | 32,0 | 392 | — |
| Beide Portionen wurden zerrieben und dann je 20 ccm H ₂ O ₂ zugefügt. | | | | | | |
| 5 | 10,4 | 127 | 25,4 | 11,0 | 134 | 26,8 |
| 18½ | 4,4 | 53 | 2,8 | 4,8 | 59 | 3,1 |
| | 14,8 | 180 | — | 15,8 | 193 | — |

b) Nach Zuckernahrung (erfrorene Blätter).
Temperatur 18,5—21°.

| Dauer des Versuches in Stunden | 3. Portion (8,2 g) Luftstrom | | | 4. Portion (8,2 g) Wasserstoffstrom | | |
|---|---------------------------------|-----------|-----------------------------|--|-----------|-----------------------------|
| | Menge der CO ₂ | | | Menge der CO ₂ | | |
| | in mg | auf 100 g | in 1 Stunde auf 100 g | in mg | auf 100 g | in 1 Stunde auf 100 g |
| 6 | 12,8 | 156 | 26,0 | 8,0 | 98 | 16,3 |
| 18½ | 15,6 | 190 | 10,3 | 4,4 | 54 | 2,9 |
| 22 | 4,8 | 59 | 2,6 | Luftstrom | | |
| | 33,2 | 405 | — | 25,6 | 312 | 14,2 |
| | | | | 38,0 | 464 | — |
| Beide Portionen wurden zerrieben und je 20 ccm H ₂ O ₂ zugefügt | | | | | | |
| 6 | 9,2 | 112 | 18,6 | 9,8 | 120 | 20,0 |
| 23 | 6,4 | 78 | 3,4 | 6,4 | 78 | 3,4 |
| | 15,6 | 190 | — | 16,2 | 198 | — |

Die Resultate sind dieselben wie im vorhergehenden Versuche.

Versuch 4.

Etiolierte Blätter von *Vicia Faba* wurden erfroren und dann in Erlenmeyer'sche, mit Quecksilber abgesperrte Kolben gebracht. Von Zeit zu Zeit wurde die Luft aus dem Kolben ausgesogen und im Apparate von Palowzow-Richter¹⁾ analysiert.²⁾

1. Nach 1 Stunde:

$$\text{CO}_2 = 0,98\%$$

$$\text{O}_2 = 20,20\%$$

$$\text{N}_2 = 78,82\%$$

Daraus wurde der Atmungskoeffizient $\left(\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}\right)$ nach der Formel

$$\frac{208c - b}{792} \text{ berechnet.}$$

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 2,00$$

2. Nach 3 Stunden seit Beginn des Versuches:

$$\text{CO}_2 = 1,85\%$$

$$\text{O}_2 = 19,68\%$$

$$\text{N}_2 = 78,47\%$$

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 2,00$$

3. Nach 5 Stunden seit Beginn des Versuches:

$$\text{CO}_2 = 2,21\%$$

$$\text{O}_2 = 18,67\%$$

$$\text{N}_2 = 79,12\%$$

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 1,04$$

Zwischenkoeffizient nach der Formel

$$\frac{\text{CO}_2^2 - \frac{\text{CO}_2^1 \cdot \text{N}_2^2}{\text{N}_2^1}}{\frac{\text{O}_2^1 \cdot \text{N}_2^2}{\text{N}_2^1} - \text{O}_2^2} \text{ berechnet:}$$

¹⁾ Palowzow, Untersuchungen über die Pflanzenatmung. St. Petersburg 1901 (russisch). Richter, Protokoll der St. Petersburger Naturf. Gesellsch., Sekt. Botanik, 1903.

²⁾ Die Analysen wurden von Fräulein Krasnosselsky ausgeführt, wofür ich hiermit meinen Dank ausspreche.

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,30$$

4. Nach 23 Stunden seit Beginn des Versuches:

$$\text{CO}_2 = 5,06\%$$

$$\text{O}_2 = 15,42\%$$

$$\text{N}_2 = 79,52\%$$

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,92$$

$$\text{Zwischenkoeffizient } \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,85$$

Also sind die Atmungskoeffizienten während verschiedener Stunden des Versuches folgende:

| | |
|------------------------------|------|
| Während der ersten Stunde | 2,00 |
| • zweiten und dritten Stunde | 2,00 |
| • vierten und fünften Stunde | 0,30 |
| • sechsten bis 23. Stunde | 0,85 |

In den vorgehenden Versuchen wurde gefunden, daß er-frorene etiolierte Blätter in den ersten zwei Stunden an der Luft und in einer Wasserstoffatmosphäre die gleiche Menge CO_2 ausscheiden. Dieser Umstand gab Veranlassung zu der Vermutung, daß während dieser Zeit kein Sauerstoff absorbiert wird. Die Atmungskoeffizienten (2,00 und 1,04) zeigen aber, daß eine Sauerstoffabsorption dennoch stattfindet. Folglich wird die Sauerstoffabsorption in den ersten 2 Stunden nicht von der entsprechenden Kohlensäureausscheidung begleitet. Es geht nur eine Assimilation des Sauerstoffs vor sich. Nach den Untersuchungen von Fräulein Krasnosselsky¹⁾ läßt sich das gleiche an den verletzten und erfrorenen Zwiebeln von *Allium Cepa* beobachten. Weiter beginnt eine starke Sauerstoffabsorption ($\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,3$) begleitet von Kohlensäureausscheidung und endlich beginnt dann die Sauerstoffabsorption zu sinken ($\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,85$). Für die ganze Versuchsdauer ist das Verhältnis der Gesamtmenge der ausgeschiedenen CO_2 zu der Gesamtmenge des absorbierten Sauerstoffs fast gleich 1 (nämlich $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = 0,92$). Folglich können wir den Prozeß der Sauerstoffabsorption und der Kohlensäure-

¹⁾ Krasnosselsky, Noch nicht publizierte Arbeit.

ausscheidung als zwei oft von einander gänzlich unabhängige Vorgänge betrachten.

Versuch 5.

Gipfel der etiolierten Stengel von *Vicia Faba* wurden in zwei Portionen geteilt und erfroren.

Erfrorene Gipfel.

Temperatur 18°.

| Dauer des Versuches in Stunden | 1. Portion (12,7 g) Wasserstoffstrom | | 2. Portion (13,0 g) Wasserstoffstrom | |
|--------------------------------|--------------------------------------|-----------|--------------------------------------|-----------|
| | Menge der CO ₂ | | Menge der CO ₂ | |
| | in mg | auf 100 g | in mg | auf 100 g |
| 5 | 19,6 | 153 | 19,6 | 151 |
| 19 | 12,0 | 94 | 11,6 | 89 |
| | Luftstrom | | | |
| 27 | 19,2 | 151 | 3,2 | 24 |
| 21 | 3,6 | 28 | 0,8 | 6 |
| | 54,4 | 426 | Luftstrom | |
| 5 | | | 12,0 | 92 |
| 48 | | | 18,4 | 141 |
| | | | 65,6 | 503 |

Dieser Versuch liefert einen neuen Beweis dafür, daß durch die Tätigkeit der Carbonase das Oxydationsmaterial für die Arbeit der Oxydase vorbereitet wird, da ein längeres vorhergehendes Verweilen in der Wasserstoffatmosphäre hiernach eine stärkere Kohlensäurebildung durch Oxydationsprozesse ergab. Die gleichzeitige gemeinsame Arbeit beider Enzyme erweist sich (in erfrorenen Pflanzen) als weniger günstig. Wahrscheinlich wird die Carbonase durch die Oxydase zerstört.

Versuch 6.

Große etiolierte Blätter von *Vicia Faba* wurden in zwei Portionen geteilt. Eine Portion wurde unmittelbar erfroren. Die andere Portion wurde während sechs Tagen in diffussem Lichte auf 10%iger Saccharoselösung kultiviert und dann erfroren.

Erfrorene Blätter.

| 1. Portion (12,4 g) Ohne Zuckernahrung | | | | 2. Portion (12,3 g) Nach Ernährung mit Zucker und Licht | | | |
|--|--------------------------------------|--------------|-----------------|---|--------------------------------------|--------------|-----------------|
| Dauer des Versuches in Stunden | Menge der CO ₂ | | | Dauer des Versuches in Stunden | Menge der CO ₂ | | |
| | in mg | auf 100 g | Tem- peratur | | in mg | auf 100 g | Tem- peratur |
| | Wasserstoffstrom | | | | Wasserstoffstrom | | |
| 25 | 12,4 | 100 | 18° | 23 | 7,6 | 62 | 17,5° |
| 2½ | 0,0 | — | | 2½ | 0,0 | — | |
| | Luftstrom | | | | Luftstrom | | |
| 44 | 17,6 | 142 | 19° | 51 | 25,6 | 208 | 18° |
| | Pyrogallussäure 20 ccm | | | | Pyrogallussäure 40 ccm | | |
| 48 | 63,2 | — | 19° | 48 | 86,8 | — | 18° |
| | Pyrogallussäure 10 ccm | | | | Pyrogallussäure 10 ccm | | |
| 29 | 17,2 | 648 | 17,5° | 21 | 23,6 | 896 | 18° |
| | H ₂ O ₂ 20 ccm | | | | H ₂ O ₂ 20 ccm | | |
| 4½ | 22,8 | — | | 2 | 37,2 | — | |
| 20 | 13,6 | 293 | 18° | 25 | 17,6 | 445 | 18° |

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Figur 4 dargestellt. Sie sind folgende:

1. Mit Zucker und Licht ernährte etiolierte Blätter scheiden nach Erfrieren im sauerstofffreien Raume bedeutend weniger Kohlensäure aus, als erfrorene nicht ernährte Blätter.

2. Ernährung mit Zucker und Licht verursacht eine gesteigerte Bildung von Oxygenase und Peroxydase.

Versuch 7.

Sehr kleine etiolierte Blätter von *Vicia Faba* wurden in zwei Portionen geteilt. Eine Portion wurde unmittelbar erfroren. Die andere Portion wurde während zehn Tagen in diffusem Lichte auf 10%iger Saccharoselösung kultiviert und dann erfroren.

Erfrorene Blätter.

Temperatur 17,5—18°.

| 1. Portion (2,8 g) Ohne Zuckernahrung | | | 2. Portion (2,8 g) Nach Nahrung mit Zucker und Licht | | |
|--|--------------------------------------|-------------|--|---------------------------|-------------|
| Dauer des Versuches in Stunden | Menge der CO ₂ | | Dauer des Versuches in Stunden | Menge der CO ₂ | |
| | in mg | auf 100 g | | in mg | auf 100 g |
| 70 | 10,0 | 357 | 70 | 16,8 | 600 |
| | Pyrogallussäure je 20 ccm | | | | |
| 46 | 57,2 | 2043 | 21 | 58,8 | 2100 |
| 26 | 6,8 | 282 | 26 | 31,2 | 1110 |
| | 64,0 | 2325 | Pyrogallussäure 20 ccm | | |
| | | | 21 | 5,2 | 186 |
| | | | | 95,2 | 3396 |
| | H ₂ O ₂ 20 ccm | | | | |
| 20 | 47,2 | 1648 | 2 | 34,4 | 1220 |
| 48 | 7,6 | 271 | 25 | 9,8 | 350 |
| | 54,8 | 1957 | | 44,2 | 1570 |

Die Resultate sind dieselben wie im vorhergehenden Versuche.

Versuch 8.

Große etiolierte Blätter von *Vicia Faba* wurden in drei Portionen geteilt. Eine Portion wurde unmittelbar erfroren. Die anderen zwei Portionen wurden während sechs Tagen in diffusem Lichte auf 10%iger Saccharoselösung kultiviert und dann erfroren.

a) Ohne Zuckernahrung (erfrorene Blätter).

Temperatur 18°.

| Dauer des Versuches in Stunden | 1. Portion (9,8 g) | |
|--------------------------------------|--------------------------------------|-----------|
| | Menge der CO ₂ | |
| | in mg | auf 100 g |
| 28 | 28,8 | |
| 19 1/2 | 5,2 | |
| | 34,0 | 346 |
| | Pyrogallussäure 20 ccm | |
| 23 1/2 | 34,0 | |
| 50 | 36,8 | |
| | 70,8 | 722 |
| | H ₂ O ₂ 20 ccm | |
| 2 | 43,6 | |
| 21 1/2 | 57,6 | |
| 47 | 12,8 | |
| | 114,0 | 1163 |

b) Nach Zucker- und Lichtnahrung (erfrorene Blätter).

Temperatur 18°.

| 2. Portion (9,7 g) | | | 3. Portion (9,5 g) | | |
|--------------------------------|--------------------------------------|-----------|--------------------------------|--------------------------------------|-----------|
| Dauer des Versuches in Stunden | Menge der CO ₂ | | Dauer des Versuches in Stunden | Menge der CO ₂ | |
| | in mg | auf 100 g | | in mg | auf 100 g |
| | Luftstrom | | | Wasserstoffstrom | |
| 5½ | 18,4 | | 5½ | 7,2 | |
| 21½ | 18,4 | | 21½ | 6,8 | |
| 43½ | 6,8 | | 22½ | 3,8 | |
| | 43,6 | 449 | | 17,6 | 185 |
| | Pyrogallussäure 20 ccm | | | Luftstrom | |
| 48 | 42,4 | | 4½ | 21,2 | |
| | Pyrogallussäure 20 ccm | | 23½ | 14,0 | |
| 25 | 43,6 | | 18½ | 4,4 | |
| 25 | 32,8 | | | 39,6 | 416 |
| 45 | 40,0 | | | Pyrogallussäure 20 ccm | |
| | 158,8 | 1637 | 48 | 69,2 | |
| | H ₂ O ₂ 20 ccm | | | Pyrogallussäure 10 ccm | |
| 1½ | 44,0 | | 49 | 64,4 | |
| 3 | 34,8 | | 45 | 36,8 | |
| 68 | 32,0 | | | 170,0 | 1789 |
| | 110,8 | 1142 | | H ₂ O ₂ 10 ccm | |
| | | | 2½ | 68,0 | |
| | | | 68 | 41,2 | |
| | | | | 109,2 | 1149 |

Versuch 9.

20 g in Wasser gequollene Weizenkeime.

Lebende Weizenkeime.
Temperatur 19°.

| Dauer des Versuches in Stunden | Menge der CO ₂ | |
|--------------------------------------|---------------------------|-------------|
| | in mg | in 1 Stunde |
| 1½ | 23,8 | 15,9 |
| ½ | — | — |
| 1½ | 20,0 | 13,3 |

Also scheiden lebende Weizenkeime in einer Wasserstoffatmosphäre weniger Kohlensäure aus, als in der Luft.

$$\frac{J}{N} = \frac{13,3}{15,9} = 0,8.$$

Versuch 10.

Im Wasser gequollene Weizenkeime wurden in drei Portionen von je 10 g geteilt. Die dritte Portion wurde erfroren.

| a) Lebende Weizenkeime | | | | b) Erfrorene Weizenkeime | | | |
|--|---------------------------|--------------|---------------------------------|--------------------------|--|---------------------------|-----------|
| Dauer des Versuches in Stunden | 1. Portion | | 2. Portion | | Dauer des Versuches in Stunden | 3. Portion | |
| | Menge der CO ₂ | | Menge der CO ₂ | | | Menge der CO ₂ | |
| | in mg | auf 100 g | in mg | auf 100 g | | in mg | auf 100 g |
| 1½ | Luftstrom 13,6 9,1 | | Wasserstoffstrom 11,2 7,5 | | 3½ | Luftstrom 32,4 9,3 | |
| 19 | — — | | 70,8 3,7 | | 2½ | 21,2 8,5 | |
| 1 | — — | | 2,5 2,5 | | | | |
| 2 | — — | | Luftstrom 11,6 5,8 | | | | |

Aus diesem Versuche folgt:

1. Man bemerkt eine gesteigerte Kohlensäureausscheidung von lebenden Weizenkeimen an der Luft nach langem Verweilen im sauerstofffreien Raume.

2. Erfrorene und lebende Weizenkeime scheiden während der ersten Stunden an der Luft gleiche Kohlensäuremengen aus.

Versuch 11.

Zwei Portionen gequollener und dann erfrorener Weizenkeime.

Erfrorene Weizenkeime.

Temperatur 20—21°.

| Dauer des Versuches in Stunden | 1. Portion (15 g) | | 2. Portion (15 g) | |
|--------------------------------------|---------------------------|-------------|---------------------------|-------------|
| | Luftstrom | | Wasserstoffstrom | |
| | Menge der CO ₂ | | Menge der CO ₂ | |
| | in mg | in 1 Stunde | in mg | in 1 Stunde |
| 2 | 17,6 | 8,8 | 22,6 | 11,3 |
| 2 | 14,4 | 7,2 | 15,6 | 7,8 |
| 2 | 14,0 | 7,0 | 12,8 | 6,4 |
| 3 | 14,8 | 4,9 | 14,4 | 4,8 |
| 15 | 38,4 | 2,6 | 40,4 | 2,7 |
| 9 | 16,4 | 1,8 | 20,0 | 2,2 |
| 20 | 15,2 | 0,8 | 19,6 | 1,0 |
| 19 | 7,6 | 0,4 | 8,4 | 0,4 |
| | 138,4 | | 153,8 | |

Versuch 12.

Zwei Portionen gequollener und dann erfrorener Weizenkeime.

Erfrorene Weizenkeime.
Temperatur 18°.

| Dauer des Versuches in Stunden | 1. Portion (10 g) | | 2. Portion (10 g) | |
|--------------------------------------|---------------------------|-------------|---------------------------|-------------|
| | Luftstrom | | Wasserstoffstrom | |
| | Menge der CO ₂ | | Menge der CO ₂ | |
| | in mg | in 1 Stunde | in mg | in 1 Stunde |
| 2 | 21,2 | 10,6 | 16,8 | 8,4 |
| 4 | 23,2 | 5,8 | 16,0 | 4,0 |
| 15 | 56,0 | 3,7 | 28,6 | 2,0 |
| 52 | 27,8 | 0,5 | 45,6 | 0,8 |
| 24 | Spuren | — | 14,8 | 0,6 |
| 97 | 128,2 | | 121,8 | |

Aus den beiden letzten Versuchen folgt, daß erfrorene Weizenkeime an der Luft gleiche Kohlensäuremengen ausscheiden wie in sauerstofffreiem Raume.

Versuch 13.

Gequollene Weizenkeime wurden in zwei Portionen geteilt. Eine Portion wurde erfroren. Beide Portionen wurden in einem Mörser zerrieben und mit 40 ccm Pyrogallussäurelösung versetzt. Temperatur 18,5°.

| Lebende Weizenkeime (10 g). | | Erfrorene Weizenkeime (10 g) | |
|--------------------------------------|--|--------------------------------------|--|
| Dauer des Versuches in Stunden | Menge der CO ₂ | Dauer des Versuches in Stunden | Menge der CO ₂ |
| 22 | 8,0 H ₂ O ₂ 10 ccm | 23 | 8,0 H ₂ O ₂ 10 ccm |
| 1 | 48,0 | 4 | 62,0 |
| 22 | 44,4 H ₂ O ₂ 20 ccm | 5 | 38,8 H ₂ O ₂ 20 ccm |
| 8½ | 30,0 H ₂ O ₂ 20 ccm | 39 | 41,6 |
| 39 | 22,0 | | 142,4 |
| | 144,4 | | |

Folglich sind die Weizenkeime sehr reich an Peroxydase, enthalten aber nur geringe Menge von Oxygenase. Durch diesen Mangel an Oxygenase ist aller Wahrscheinlichkeit nach die Tatsache zu erklären, daß lebende Keime, nachdem sie aus der Wasserstoffatmosphäre an die Luft gebracht worden sind, keine gesteigerte Kohlensäureausscheidung zeigen, wie dieses bei den an Oxygenase reichen etiolierten Bohnenblättern der Fall ist. Ferner scheiden aus demselben Grunde gefrorene Weizenkeime, ähnlich den Zwiebeln von *Allium Cepa*,¹⁾ denen die Oxygenase gleichfalls fast vollkommen fehlt, an der Luft die gleiche Menge CO_2 aus, wie in einer Wasserstoffatmosphäre.

Versuch 14.

Am 13. November wurden 38 g der Blätter von *Plectogyne japonica* erfroren. Temperatur $17,5^\circ$.

| | | Wasserstoffstrom |
|------------------|---------|-----------------------|
| 24 | Stunden | 16,4 mg CO_2 |
| 21 $\frac{1}{2}$ | " | Spuren |
| | | Luftstrom |
| 48 | " | 6,4 mg CO_2 |

10 g von diesen Blättern wurden in kleine Stücke zerschnitten und mit 20 ccm Pyrogallussäurelösung + 20 ccm H_2O_2 versetzt.

| | | |
|-----------------|---------|-----------------------|
| 1 | Stunde | 51,2 mg CO_2 |
| 2 | Stunden | 85,6 " |
| 1 $\frac{1}{2}$ | " | 31,2 " " |
| 18 | " | 24,0 " " |

Hier wurde der Versuch abgebrochen und die weitere Kohlensäureausscheidung nicht mehr bestimmt.

Versuch 15.

Am 26. Dezember wurden 5 g der Blätter von *Plectogyne japonica* erfroren. Temperatur 18° .

| | | Luftstrom |
|----|---------|----------------------|
| 23 | Stunden | 3,6 mg CO_2 |

Die Blätter wurden in kleine Stücke zerschnitten und mit 40 ccm Pyrogallussäurelösung versetzt.

¹⁾ Krasnosselsky, Berichte d. bot. Gesellsch., 1905, S. 142.

| | |
|--------------------------------------|------------------------|
| 48 Stunden | 6,0 mg CO ₂ |
| H ₂ O ₂ 20 ccm | |
| 2 1/2 Stunden | 27,2 . . . |
| 23 . . . | 29,2 . . . |

Der Versuch wurde abgebrochen.

Versuch 16.

Am 22. Dezember wurden je 10 g der Blätter von *Ficus elastica* und *Piperomya marmorata* erfroren. Temperatur 18°.

| | <i>Ficus</i> | <i>Piperomya</i> |
|------------|--------------------------------------|-------------------------|
| | Luftstrom | |
| 24 Stunden | 10,8 | 1,6 mg CO ₂ |
| | 40 ccm Pyrogallussäure | |
| 23 . . . | 26,2 | 16,0 mg CO ₂ |
| | 30 ccm H ₂ O ₂ | |
| 24 . . . | 36,0 | 6,0 mg CO ₂ |

Es wurde keine CO₂ mehr ausgeschieden.

Aus allen beschriebenen Versuchen folgt, daß die Atmungskohlensäure der Pflanzen verschiedenen Ursprung hat:

1. Anaerobe Kohlensäure — das Resultat der Arbeit der Carbonase.

2. Kohlensäure, die nach der Ersetzung der Wasserstoffatmosphäre durch Luft von den unversehrten erfrorenen Pflanzen ohne Einführung irgendwelcher Reagentien ausgeschieden wird, als das Resultat der Arbeit der Oxydase.¹⁾

3. Kohlensäure, die nach Zusatz von Pyrogallol gebildet wird, das Resultat der Arbeit der Oxygenase.

4. Die Oxygenasekohlensäure und die Kohlensäure, die nach Zusatz von H₂O₂ ausgeschieden wird, bilden zusammen das Resultat der Arbeit der Peroxydase.

Die Resultate aller beschriebenen Versuche lassen sich in folgender Tabelle zusammenstellen:

¹⁾ Es ist möglich, daß in diesem Falle gleichfalls auch die Oxygenase tätig ist, jedoch nur auf Kosten des in den Pflanzen vorhandenen oxydierbaren Materials.

Arbeit der verschiedenen Atmungsenzyme.

(Gesamtmenge der ausgeschiedenen Kohlensäure in mg auf 100 g der Pflanzensubstanz.)

| Pflanzen | a) Wasser- stoff Carbo- nase | b) Luft Oxy- dase | c) Summe von a + b | d) Pyro- gallus- säure Oxy- genase | e) Pyro- gallus- säure + H ₂ O ₂ | f) Summe von d + e Peroxy- dase | g) Summe von c + f | Nr. der Ver- suche |
|---|--|----------------------------|-----------------------------|---|--|--|-----------------------------|-----------------------------|
| Weizen- keime | 1025 | 0 | 1025 | — | — | — | — | 11 |
| | 1282 | 0 | 1282 | — | — | — | — | 12 |
| | — | — | — | 80 | 1424 | 1504 | 2786 | 13 |
| Gipfel der etiolierten Stengel | 270 | 233 | 503 | — | — | — | — | 5 |
| Etiolierte Blätter | — | — | 357 | 2325 | 1957 | 4279 | 4636 | 7 |
| | — | — | 346 | 722 | 1163 | 1885 | 2231 | 8 |
| | 185 | 207 | 392 | — | — | — | — | 3 |
| | 183 | 245 | 428 | — | — | — | — | 2 |
| | 100 | 142 | 242 | 648 | 293 | 941 | 1183 | 6 |
| Etiolierte Blätter nach Zucker- nahrung | 166 | 308 | 474 | — | — | — | — | 2 |
| | 152 | 312 | 464 | — | — | — | — | 3 |
| Etiolierte Blätter nach Zucker- und Licht- nahrung | — | — | 600 | 3396 | 1570 | 4966 | 5566 | 7 |
| | 185 | 416 | 601 | 1789 | 1149 | 2938 | 3539 | 8 |
| | 62 | 208 | 270 | 896 | 445 | 1341 | 1611 | 6 |
| Ficus | — | — | 108 | 262 | 360 | 622 | 730 | 16 |
| Plecto- gyne | 45 | 18 | 63 | — | — | — | — | 14 |
| — | — | — | 72 | 120 | 1128 ¹⁾ | — | — | 15 |
| Piperomya | — | — | 16 | 160 | 60 | 222 | 236 | 16 |

¹⁾ Nur ein Teil der ausgeschiedenen Kohlensäure wurde bestimmt.

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß das Überwiegen des einen oder anderen Atmungsenzyms in Abhängigkeit von dem Entwicklungsstadium der Pflanze steht:

1. Die anaerobe Atmung herrscht in den embryonalen Organen vor und sinkt mit dem Übergang zum Stadium des aktiven Lebens. Sie ist am schwächsten in Organen, die ihr Wachstum eingestellt haben.

Dieser Schluß stimmt mit der Tatsache überein, daß nur die niederen Pflanzen, die gewissermaßen ihr ganzes Leben im embryonalen Stadium bleiben, zu einer mehr oder weniger anaeroben Lebensweise befähigt sind.

2. Die Oxydase¹⁾ fehlt fast vollkommen in den embryonalen Organen. Sie tritt mit dem Übergange zum aktiven Leben auf und ihre Menge vermindert sich in den Organen, die ihr Wachstum eingestellt haben.

3. Das Verhältnis der Kohlensäure der anaeroben Atmung zu der Kohlensäure der Sauerstoffatmung ($\frac{J}{N}$) ist in den untersuchten erfrorenen Pflanzen folgende:

1. Weizenkeime:

$$\frac{J}{N} = \frac{1282}{1282} = 1.$$

2. Gipfel etiolierter Bohnenstengel:

$$\frac{J}{N} = \frac{270}{503} = 0,53.$$

3. Etiolierte Bohnenblätter:

$$\left. \begin{array}{l} \frac{J}{N} = \frac{185}{392} = 0,47 \\ \frac{J}{N} = \frac{183}{428} = 0,42 \\ \frac{J}{N} = \frac{100}{242} = 0,41 \end{array} \right\} \text{Mittel} = 0,43.$$

4. Etiolierte Bohnenblätter nach Zuckernahrung (gelbe):

$$\left. \begin{array}{l} \frac{J}{N} = \frac{152}{464} = 0,32 \\ \frac{J}{N} = \frac{166}{474} = 0,35 \end{array} \right\} \text{Mittel} = 0,33.$$

¹⁾ In dem auf Seite 408 ausgeführten Sinne.

5. Etiolierte Bohnenblätter nach Zucker- und Lichtnahrung (grüne):

$$\left. \begin{aligned} \frac{J}{N} &= \frac{62}{270} = 0,23 \\ \frac{J}{N} &= \frac{185}{601} = 0,30 \end{aligned} \right\} \text{Mittel} = 0,26.$$

6. Altes Blatt von *Plectogyne japonica*:

$$\frac{J}{N} = \frac{45}{63} = 0,71.$$

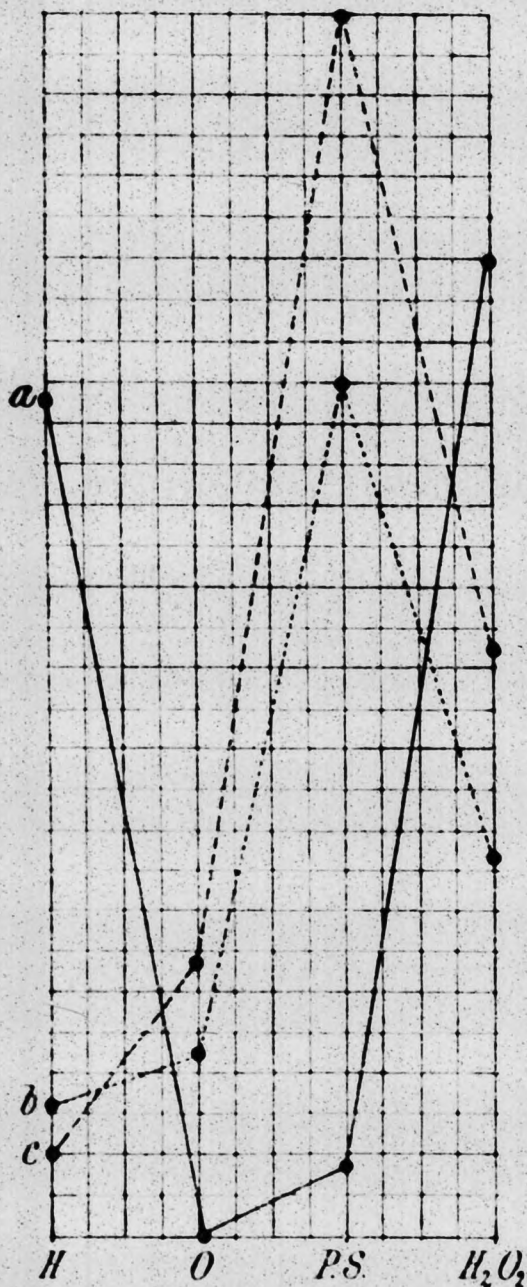


Fig. 4.

Die Kohlensäureausscheidung der erfrorenen Pflanzen. *a* Weizenkeime. *b* etiolierte Blätter. *c* Mit Zucker und Licht ernährte etiolierte Blätter.

Folglich ist der Koeffizient $\frac{J}{N}$ in erfrorenen embryonalen Organen gleich 1, sinkt rasch mit dem Übergang zum Stadium des aktiven Lebens und steigt wieder in den Organen, die ihren Wuchs beendet haben.

4. Die Menge der Oxygenase ist in den embryonalen Organen minimal. Sie steigt mit dem Übergang zum Stadium des aktiven Lebens und sinkt in den Organen, die ihr Wachstum eingestellt haben.

Zur größeren Übersichtlichkeit sind auf nebenstehender Figur 4 die Gesamtmengen der CO₂ in Milligrammen dargestellt, die durch die Arbeit der Carbo-nase (H), der Oxydase (O), der Oxygenase nach Pyrogallolzusatz (P. S.) und endlich des Restes der durch die Oxygenase nicht verbrauchten Peroxydase (H₂O₂), nach Zusatz von Wasserstoff-superoxyd in erfrorenen Weizenkeimen (*a*), in etiolierten Bohnen-

blättern (b) und mit Zucker und Licht ernährten etiolierten Bohnenblättern (c) ausgeschieden werden.

Alle die von mir ausgeführten Versuche beweisen, daß der als Atmung bezeichnete Gasumsatz eine der kompliziertesten Erscheinungen darstellt und als das Resultat aller durch die gemeinsame Arbeit mehrerer Enzyme bewirkten Vorgänge aufgefaßt werden muß.

Diese Versuche zeigen ferner, wie stark die Atmungsenergie der durch niedrige Temperaturen abgetöteten Pflanzen ist. Zur Bestätigung dieser Ansicht muß die Atmungsenergie lebender und abgetöteter Pflanzen nebeneinander gestellt, verglichen werden. Zum Beispiel, 10 g Weizenkeime schieden in einer Stunde folgende Mengen CO_2 aus (Versuch 10):

- a) Lebende an der Luft 9,1 mg
- b) Lebende in Wasserstoff 7,5 "
- c) Erfrorene an der Luft 9,3 "

Da nun erfrorene Weizenkeime an der Luft und in Wasserstoff die gleichen Mengen CO_2 ausscheiden, so folgt hieraus, daß erfrorene Keime in den ersten Stunden in einer Wasserstoffatmosphäre beträchtlich mehr CO_2 ausscheiden als lebende Keime. An der Luft dagegen bilden erfrorene und lebende Keime die gleichen Mengen CO_2 . Ein noch schärferer Unterschied läßt sich nach den Untersuchungen von Fräulein Junitzky¹⁾ an keimenden Erbsen beobachten, wonach erfrorene Körner beträchtlich stärker atmen als lebende.

25 Erbsenkörner, die 24 Stunden in Wasser geweicht waren, schieden folgende Kohlensäuremengen aus:

| | Dauer des Versuches in Stunden | Ausgeschiedene CO_2 mg | CO_2 in 1 Stunde mg |
|---|--------------------------------|---------------------------------|------------------------------|
| Lebende Samen (Hierauf wurden die Erbsen erfroren) | 2 | 7,6 | 3,8 |
| Erfrorene Samen | 3 | 13,2 | 4,4 |
| | 3 | 13,6 | 4,5 |
| | 4 | 14,4 | 3,6 |
| | 13 | 45,2 | 3,4 |

¹⁾ N. Junitzky, Noch nicht publizierte Arbeit.

Folglich scheiden durch niedrige Temperaturen abgetötete Erbsensamen im Laufe einiger Stunden mehr CO_2 aus, als lebende Erbsen. Hieraus folgt, daß die Tätigkeit der Atmungsenzyme im lebenden Organismus durch die Anforderungen des Organismus reguliert wird. Diese Regulierung hört mit dem Tode der Pflanze auf und deshalb beginnen die Atmungsenzyme in den ersten Stunden nach dem Tode stärker zu arbeiten, als im Leben.

Schon vor mehreren Jahren habe ich die Ansicht ausgesprochen, daß die Atmungsenergie der Pflanzen mit ihrem Gehalt an Nucleoproteiden in Zusammenhang steht. Obgleich die Methodik, deren ich mich zur quantitativen Bestimmung der Nucleoproteide bediente (Bestimmung des Stickstoffes des durch Pepsinsalzsäure unverdauten Eiweißes), nicht eine genaue genannt werden kann, ließen die gewonnenen Resultate diesen Zusammenhang nicht verkennen.

Etiolierte Bohnenblätter enthalten kaum Spuren von löslichen Kohlehydraten und atmen schwach. Nach ihrer Kultur auf Zucker wird die Atmungsenergie erhöht; noch mehr nach Kultur auf Zucker am Licht. Parallele Stickstoffbestimmungen des unverdauten Eiweißes zeigen, daß sich nach der Kultur auf Zucker und gleichfalls nach Zuckerkultur am Licht die Menge des unverdauten Eiweißes (Stickstoffes) in demselben Verhältnis vergrößert, in welchem die Atmungsenergie (Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure) zunimmt.¹⁾ Zum Beispiel:

1. Stickstoffgehalt des unverdauten Eiweißes in 100 g etiolierter Blätter in Milligramm:

| | Ohne Zuckergabe | Nach 6tägiger Kultur auf Zucker | |
|-----------|--------------------|---------------------------------|----------|
| | | im Dunkeln | am Licht |
| Versuch I | 18,6 | 82,6 | 166,4 |
| II | 18,6 | 51,9 | 115,4 |

¹⁾ W. Palladin, Revue générale de botanique, 1899, S. 102.

2. Die durch etiolierte Blätter nach 6tägiger Kultur auf Zucker ausgeschiedene Kohlensäuremenge in Milligramm betrug:

| | Im Dunkeln | Am Licht |
|-----------|------------|----------|
| Versuch I | 101,6 | 230,5 |
| " II | 109,3 | 298,7 |

Ferner hat auch Spitzer¹⁾ den Gedanken einer Abhängigkeit der Atmung von den Nucleoproteiden ausgesprochen.

Natürlich läßt sich eine solche Abhängigkeit nur in der Periode des regelmäßigen aktiven Lebens der Pflanzen beobachten. Und wenn sich dieser Zusammenhang während des Ruhestandes und ebenso während der Reizperiode nicht konstatieren läßt, darf er deshalb doch nicht prinzipiell abgeleugnet werden.

Wenn man die Resultate der Untersuchungen von Smirnoff,²⁾ Kovchoff³⁾ und Krasnosselsky,⁴⁾ welche auf meinen Vorschlag gemacht waren, zusammenstellt, sieht man, daß die Atmung erfrorener verletzter Zwiebeln von

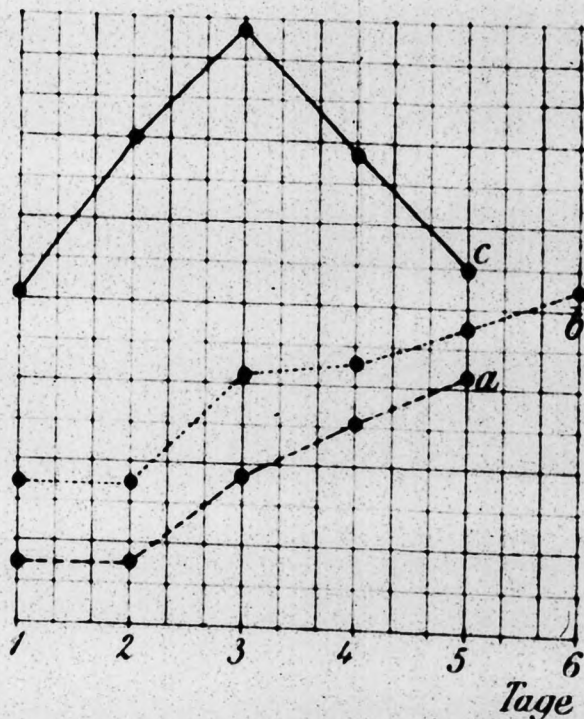


Fig. 5.

a Nucleoproteidbildung in verletzten Zwiebeln von *Allium Cepa* nach Kovchoff. b Die Kohlensäureausscheidung der verletzten und erfrorenen Zwiebeln nach Krasnosselsky. c Die Kohlensäureausscheidung der lebenden verletzten Zwiebeln nach Smirnoff.

Allium Cepa proportional der Bildung von Nucleoproteiden (Fig. 5) gesteigert ist. Die Kurven a und b fallen beinahe zusammen. Da nun erfrorene Zwiebeln sowohl an der Luft, als auch in Wasserstoff die gleichen Mengen CO_2 ausscheiden, bildet die in Kurve b dargestellte Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure das Resultat

¹⁾ Spitzer, Pflüger's Archiv für Physiologie, Bd. LXVII.

²⁾ Smirnoff, Revue générale de botanique, 1903, S. 28.

³⁾ Kovchoff, Revue générale de botanique, 1902, S. 459.

⁴⁾ Krasnosselsky, Berichte d. bot. Ges., 1905, Versuch IV, S. 150.

der Arbeit des anaeroben Enzyms: der Carbonase. Einen ganz anderen Charakter hat die Atmung lebender Zwiebeln nach ihrer Verletzung (Kurve c). Der durch die Verletzung verursachte Reiz wird von einer gesteigerten Ausscheidung von Kohlensäure begleitet, welche ich als Reizkohlendure¹⁾ bezeichne. Fräulein Krasnosselsky²⁾ hat nun gezeigt, daß die Reizkohlendure in diesem Falle das Resultat der Arbeit einer Peroxydase ist, die sich unter dem Einfluß der Verletzung bildet.

Als ich die vorliegende Arbeit begann, erwartete ich, daß erfrorene etiolierte Bohnenblätter, nach der Kultur auf Zucker und am Licht, sowohl an der Luft, wie auch im Wasserstoff stärker atmen würden, als etiolierte Blätter ohne Zuckergabe. In Wirklichkeit ergaben jedoch die beschriebenen Versuche für die Atmung in Wasserstoff gerade das umgekehrte Resultat: Erfrorene Blätter atmen nach Zuckerkultur und insbesondere nach Zuckerkultur am Licht schwächer als die Blätter, die keinen Zucker erhalten hatten. An der Luft hingegen wird durch Einführung von Zucker die Atmungsenergie erfrorener Blätter wohl verstärkt, jedoch bei weitem nicht in dem Maße, wie es bei lebenden Blättern der Fall ist. Folglich steht nicht nur diejenige Kohlensäuremenge, die auf anaerobem Wege durch die Arbeit der Carbonase gebildet wird, in Abhängigkeit von dem Gehalt an Nucleoproteiden, sondern ebenso auch die durch Oxydationsprozesse ausgeschiedene Kohlensäure.

Die Abhängigkeit der bei der Atmung gebildeten Kohlensäuremenge von dem Gehalt an Nucleoproteiden kann verschiedenartig gedeutet werden; erstens in der Weise, daß, je größer der Inhalt an Nucleoproteiden ist, desto größer bei sonst gleichen Bedingungen auch die durch ihre Mitwirkung gebildete Menge von Atmungsenzymen ist, zweitens, durch die Annahme, daß die Nucleoproteide selbst die Oxydationsenzyme sind (die Ansicht Spitzer's), drittens endlich ist es möglich, daß ein Teil der ausgeschiedenen Kohlensäure direkt durch den Zerfall der Nucleoproteide gebildet wird. Nach den neuesten Untersuchungen sollen die Nucleoproteide sowohl im Pflanzen-

¹⁾ Palladin, Berichte d. bot. Ges., 1905, S. 245.

²⁾ Krasnosselsky, Noch nicht publizierte Arbeit.

wie auch im Tierorganismus einem beständigen Zerfall unterliegen. Wenn nun der Harnstoff das endgültige Abbauprodukt der Nucleoproteiden darstellt, so wäre es nichts Unwahrscheinliches, daß das eine oder andere Stadium ihres Zerfalls von Kohlensäureausscheidung begleitet wird.

Schon Horbaczewski¹⁾ behauptete auf Grund seiner Versuche, daß die Harnsäure aus den Xanthinbasen gebildet wird. Darauf wurde durch eine ganze Reihe weiterer Untersuchungen, z. B. von Schittenhelm,²⁾ Burian,³⁾ Jones und Partridge,⁴⁾ festgestellt, daß die Produkte des Zerfalls der Nucleinsäure schließlich Harnsäure und Harnstoff ergeben. Ein besonderes hydrolytisches Ferment (die Guanase) verwandelt Guanin in Xanthin und Adenin in Hypoxanthin. Durch eine Oxydase wird aus Hypoxanthin Xanthin gebildet. Letzteres wird weiter in Harnsäure oxydiert, die dann durch ein uricolytisches Ferment⁵⁾ zerlegt wird und unter anderen Endprodukten Glykokoll und Harnstoff gibt.

Der Harnstoff kann gleichfalls ein Produkt des Zerfalls der Protamine, einer anderen Eiweißgruppe, sein, die ähnlich den Nucleinen eine so wichtige Rolle spielt. Nach den Untersuchungen von Kossel und Dakin⁶⁾ wird Arginin, ein Abbauprodukt der Protamine, durch ein als Arginase bezeichnetes Ferment in Ornithin und Harnstoff zerlegt. Somit sehen wir, daß Endprodukte, wie Harnstoff, durch den Zerfall von Nucleinen und Protaminen entstehen.

Dank den Forschungen der letzten Zeit haben sich unsere Vorstellungen über die Funktionen der Eiweißsubstanzen wesentlich geändert. Verbindungen wie Asparagin, Glutamin und Monoamidosäuren, die so lange die Aufmerksamkeit der Botaniker gefesselt hatten, werden in den Hintergrund gedrängt durch die

¹⁾ Horbaczewski, Monatshefte der Chemie, 1891, Bd. XII, S. 221.

²⁾ A. Schittenhelm, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 251, Bd. XLIII, 1904, S. 228, Bd. XLV, 1905, S. 121.

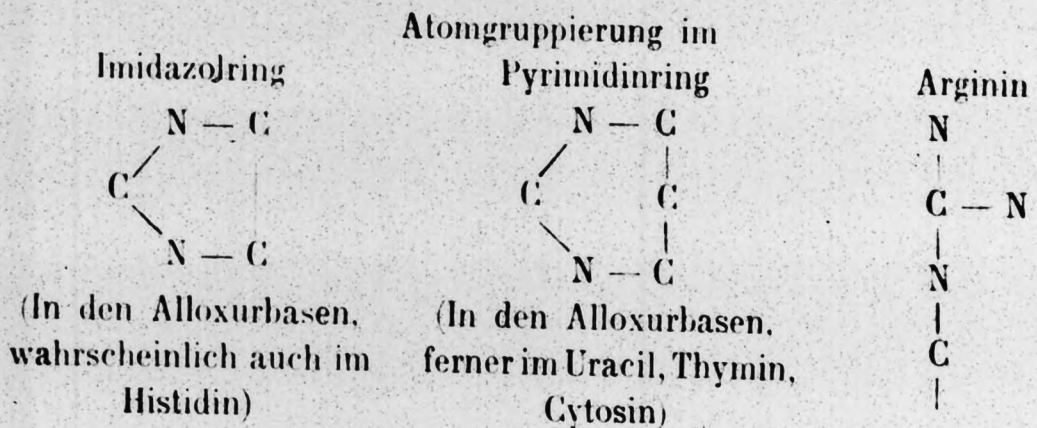
³⁾ Burian, Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, 1904, S. 494.

⁴⁾ W. Jones u. C. Partridge, Diese Zeitschr., Bd. XLII, 1904, S. 343.

⁵⁾ A. Schittenhelm, Diese Zeitschrift, Bd. XLV, 1905, S. 161.

⁶⁾ A. Kossel und Dakin, Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 321, Bd. XLII, 1904, S. 181.

Produkte des Zerfalls der Nucleine und der Protamine, jener beiden Eiweißgruppen, mit den die wichtigsten Lebensfunktionen, Fortpflanzung und Neubildung, eng verknüpft sind. Die Abbauprodukte beider Gruppen haben, was die Struktur betrifft, viel Gemeinsames. In der Nucleinsäure finden wir nach den Untersuchungen Kossel's »neben einem Kohlenhydratkomplex zwei Gruppen stickstoffreicher heterocyclischer Verbindungen: die Alloxurbasen und die einfachen Pyrimidinverbindungen. Ebenso wie diese Bestandteile der Nucleine zeichnen sich auch die Bausteine der Protamine durch den Reichtum an Stickstoff aus. In den Nucleinsäuren ebenso wie in den Protaminen finden wir Atomgruppen, die C und N in abwechselnder Anordnung enthalten.



Hier zeigt sich eine chemische Eigentümlichkeit desjenigen Teils von Protoplasma, welcher die Prozesse der Fortpflanzung oder der Neubildung organischer Substanz vollzieht». ¹⁾

Die Eiweißkörper, in denen die Monoamidosäuren überwiegen, sind vor allem Nahrungseiweiß. In den Eiweißkörpern jedoch, die so eng mit den wichtigsten Lebensprozessen verbunden sind, «sind die langen Kohlenstoffketten der Monoamidosäuren, die quantitativ so wesentlich am Aufbau der komplizierten Eiweißkörper beteiligt sind, daß sie hier als Hauptsache imponieren, zum großen Teil verschwunden.» ²⁾ Diese imponierende Rolle der Nebenbestandteile der Eiweißstoffe ist so groß, daß die Eiweißkörper, denen sie fehlen, sogar nicht mehr als «Eiweiß» bezeichnet werden. So sagt z. B. L. Iwanoff: ³⁾ «Die Sper-

¹⁾ A. Kossel, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, 1905, S. 349.

²⁾ A. Kossel, l. c., S. 350.

³⁾ L. Iwanoff, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, 1904, S. 492.

matozooköpfe beim Lachs und beim Hering enthielten rund 96% nucleinsaures Protamin und sind eiweißfrei.»

Wenn wir nun die Atmung auf enzymatische Prozesse zurückführen, wird dadurch keineswegs die Abhängigkeit des Atmungsprozesses von dem Protoplasma, d. h. den Nucleoproteiden und Protaminen ausgeschlossen. Das Protoplasma bildet entsprechend den Anforderungen des Organismus die einen oder anderen Enzyme, es koordiniert ihre gemeinsame Tätigkeit und vernichtet diejenigen Enzyme, die im gegebenen Zeitpunkt unnötig sind, oder führt sie in einen inaktiven Zustand über. Deshalb dürfen wir unter keinen Umständen den Worten L. Iwanoff's beistimmen: «uns vollkommen dem Bedauern Reinke's anschließen, welches von ihm gelegentlich seiner Arbeiten über die chemische Zusammensetzung des Plasmas ausgesprochen wurde, nämlich daß das Dogma der Omnipotenz des Eiweißes leider immer noch in der Pflanzenphysiologie sein Haupt hochhält.»¹⁾ Gerade im Gegenteil glaube ich, daß die neuesten Untersuchungen der Enzyme und ebenso der Eiweißkörper nur noch mehr die Omnipotenz der letzteren bestätigen.

B. Einfluß des anatomischen Baues und des umgebenden Mediums.

Versuch 17.

Lebende Weizenkeime. 1. 10 g Keime, 2. 10 g grob zermahlene Keime, 3. 10 g fein zermahlene Keime. Jede Portion wurde in einen umgekehrten Erlenmeyer'schen Kolben gebracht und mit 50 ccm destiliertem Wasser übergossen. Atmung bei 17—18°.

Lebende Keime.

| Versuchsdauer in Stunden | Unverletzte Keime in Wasser | Grobes Mehl in Wasser | Feines Mehl in Wasser |
|-----------------------------|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 2 | 27,6 | 14,0 | 9,2 |
| 2 | 38,0 | 24,2 | 12,8 |
| 2 | 45,8 | 23,2 | 14,0 |
| 14 | Die Kohlensäure wurde nicht bestimmt | | |
| 2 | 40,0 | 18,8 | 11,0 |
| | 151,4 | 80,2 | 47 |

¹⁾ L. Iwanoff, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, 1904, S. 492.

Folglich wird die Zerkleinerung der Weizenkeime von einer starken Erniedrigung der Atmungsenergie (in Wasser) begleitet.

Versuch 18.

Drei Portionen in Wasser geweichter Weizenkeime zu je 20 g. Die erste Portion wurde in ein U-förmiges Rohr geschüttet: die beiden anderen Portionen wurden in umgekehrte Erlenmeyer'sche Kolben gebracht, die eine mit 100 ccm destilliertem Wasser, die andere mit 100 ccm eines vorher ausgekochten, starken Extrakts aus Weizenkeimen, die im Laufe von 24 Stunden in Wasser geweicht worden waren. Temperatur 19°.

Lebende Keime.

| Versuchsdauer in Stunden | In Luft | | In Wasser | | In Extrakt | |
|--------------------------------|------------------------|----------------|------------------------|----------------|------------------------|----------------|
| | CO ₂ -Menge | | CO ₂ -Menge | | CO ₂ -Menge | |
| | in mg | in 1 Stunde | in mg | in 1 Stunde | in mg | in 1 Stunde |
| 1 1/2 | 23,8 | 15,9 | 13,2 | 8,8 | 21,4 | 14,3 |
| | In Wasserstoff | | | | | |
| 1 1/2 | 20 | 13,3 | — | — | — | — |
| 2 1/2 | — | — | 26,4 | 10,5 | 39,2 | 15,7 |

Folglich wird im Vergleich mit der Atmung in Luft die Kohlensäureausscheidung stärker in Wasser erniedrigt als in Wasserstoff. In ausgekochtem Extrakt dagegen wird beinahe die gleiche Kohlensäuremenge ausgeschieden wie in Luft.

Versuch 19.

In Wasser geweichte und danach erfrorene Weizenkeime. Drei Portionen zu je 20 g. Eine Portion wurde in der Reibschale zerrieben: diese Portion und eine andere Portion unversehrter Keime wurde in umgekehrte Erlenmeyer'sche Kolben gebracht, die mit 60 ccm destilliertem Wasser und 1 ccm Toluol beschickt waren. Die letzte Portion unversehrter Keime wurde auf Watte in ein U-förmiges Rohr ohne Wasser gebracht: der äußere Schenkel des Apparates wurde durch einen mit Toluol benetzten Wattepfropfen verschlossen.

Erfrorene Keime.

| Versuchsdauer in Stunden | In Wasser | | Versuchsdauer in Stunden | In Luft Unversehrte Keime |
|--------------------------------|-----------------------|----------------------|--------------------------------|-------------------------------------|
| | Zerkleinerte Keime | Unversehrte Keime | | |
| 5 | 13,2 | 29,2 | 3 | 53,3 |
| 18 | 17,6 | 84,8 | 3½ | 60,0 |
| | 30,8 | 114,0 | | |

Folglich wurde in 1 Stunde ausgeschieden:

| | | | |
|-----------|---|--------------------|--|
| in Wasser | { | zerkleinerte Keime | $\frac{13,2}{5} = 2,6 \text{ mg CO}_2$ |
| | | unversehrte Keime | $\frac{29,2}{5} = 5,8 \text{ , ,}$ |
| in Luft | | unversehrte Keime | $\frac{53,3}{3} = 17,7 \text{ , ,}$ |

Versuch 20.

In Wasser geweichte und danach erfrorene Weizenkeime. Verwendet wurden 3 Portionen zu je 10 g. Portion 1 wurde zerrieben und mit 50 ccm Wasser und 4 ccm Toluol versetzt. Portion 2, unversehrte Keime in 50 ccm Wasser und 4 ccm Toluol. Portion 3, unversehrte Keime ohne Wasser im U-förmigen Rohr mit Wattepfropfen, der mit Toluol benetzt war. Temperatur 18°.

Erfrorene Keime.

| Versuchsdauer in Stunden | 1. Wasser | | 3. Luft |
|-----------------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| | Zerriebene Keime | Unversehrte Keime | Unversehrte Keime |
| 2 | 2,4 | 4,8 | 21,2 |
| 4 | Spuren | 4,4 | 23,2 |
| 15 | Spuren | 6,4 | 56,0 |
| | | 15,6 | 100,4 |

Hiernach wurden die Keime der zweiten Portion von der Flüssigkeit abfiltriert. Die Keime wurden auf Watte in ein U-förmiges Rohr gebracht. Die Flüssigkeit wurde auf Watte gegossen, die in ein zweites U-förmiges Rohr gebracht wurde. Im Laufe von 48 Stunden wurden in beiden Apparaten in einem

Luftstrom, der mit Toluoldämpfen gesättigt war, folgende Kohlen- säuremengen ausgeschieden:

| | |
|-----------------|------------|
| Die Keime | 3,6 |
| Die Flüssigkeit | <u>4,8</u> |
| | 8,4 |

Versuch 21.

Geweichte und danach erfrorene Weizenkeime. Verwendet wurden drei Portionen zu je 10 g. Eine Portion wurde zer- kleinert; diese und eine Portion unversehrter Keime wurden mit 50 ccm Wasser ohne Toluol versetzt. Die dritte Portion wurde ohne Wasser und Toluol in ein U-förmiges Rohr gebracht. Temperatur 19°.

Erfrorene Keime.

| Versuchs- dauer in Stunden | Wasser | | Luft |
|----------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| | Unversehrte Keime | Zerkleinerte Keime | Unversehrte Keime |
| 3½ | 12,0 | 10,8 | 32,4 |
| 2½ | 8,0 | Spuren | 21,2 |
| 6 | 20,0 | 10,8 | 53,6 |

Hiernach wurden die Keime der ersten Portion abfiltriert. Die Flüssigkeit wurde zum Sieden gebracht und die Dämpfe durch einen Pettenkofer'schen Apparat mit Barytwasser ge- leitet. Die Keime wurden auf Watte in ein U-Rohr gebracht, durch welches im Laufe einer Stunde mit Toluoldämpfen ge- sättigte Luft geleitet wurde, die danach einen Pettenkofer'schen Apparat passieren mußte.

Es schieden aus:

| | |
|-----------------|------------------------|
| Die Flüssigkeit | 6,4 mg CO ₂ |
| Die Keime | <u>2,0</u> „ „ |
| | 8,4 mg CO ₂ |

Versuch 22.

Vier Portionen in Wasser geweichter und danach er- frorener Weizenkeime zu je 20 g. Portion I wurde in eine Wasserstoffatmosphäre gebracht; Portion II wurde in 100 ccm destilliertem Wasser, Portion III in 100 ccm ausgekochtem Extrakt aus Weizenkeimen untersucht; Portion IV endlich wurde im

Freien (im Januar) bei einer Temperatur von -8° in einer Reibschale zerrieben: die erhaltene Masse wurde in dünner Schicht auf Watte gelegt und in ein U-Rohr gebracht. Bei I und IV waren die durch den Apparat geleiteten Gase mit Toluoldämpfen gesättigt. Temperatur 18° .

Erfrorene Keime.

| Unversehrte Keime | | | | | Zerkleinerte Keime | |
|--------------------------|-----------------|--------------------------|-----------------|-----------------|--------------------------|-----------------|
| In Wasserstoff | | In Wasser | | In Extrakt | In Luft | |
| Versuchsdauer in Stunden | CO ₂ | Versuchsdauer in Stunden | CO ₂ | CO ₂ | Versuchsdauer in Stunden | CO ₂ |
| 4 $\frac{1}{2}$ | 42,4 | 3 $\frac{3}{4}$ | 14,8 | 30,4 | 5 | 22,0 |
| 19 | 80,8 | | | | 47 | 32,8 |
| 27 | 64,0 | | | | | 54,8 |
| | 187,2 | | | | | |

Folglich beträgt die Atmung in einer Stunde:

| | | | |
|-----------------------|---|----------------|-----|
| für unversehrte Keime | } | in Wasserstoff | 9,4 |
| | | in Wasser | 4,0 |
| | | in Extrakt | 8,3 |
| für zerriebene Keime | | in Luft | 4,4 |

Versuch 23.

In Wasser geweichte und danach erfrorene Weizenkeime wurden in einer großen flachen Schale in ein Liter Wasser gelegt, wo sie bei häufigem Umrühren anderthalb Stunden verblieben, um die in Wasser löslichen Stoffe zu extrahieren. Darauf wurden die Keime zur Entfernung des Überschusses von Wasser in dünner Schicht auf Filtrierpapier gelegt: nach Verlauf einer Stunde wurden dann 4 Portionen zu je 20 g abgewogen.

Portion I wurde in ein U-Rohr gebracht, durch welches mit Toluoldämpfen gesättigte Luft geleitet wurde, Portion II in 60 ccm destilliertes Wasser, Portion III in 60 ccm ausgekochten Extrakt aus Weizenkeimen und Portion IV in 60 ccm 30%iger Glykoselösung. Zu den letzten drei Portionen wurde je 0,5 ccm Toluol gegeben und nach 4 Stunden abermals die gleiche Menge hinzugefügt. Temperatur 18° .

Erfrorene Weizenkeime.

| Versuchsdauer in Stunden | I. Luft | | II. Wasser | | III. Extrakt | | IV. Glykoselösung | |
|--------------------------------|--------------------------------|---------------|--------------------------------|---------------|--------------------------------|---------------|--------------------------------|---------------|
| | Gesamtmenge CO ₂ | pro Stunde | Gesamtmenge CO ₂ | pro Stunde | Gesamtmenge CO ₂ | pro Stunde | Gesamtmenge CO ₂ | pro Stunde |
| 4 | 24,0 | 6,0 | 13,6 | 3,4 | 30,0 | 7,5 | 10,0 | 2,5 |
| 47 | 70,8 | 1,5 | 34,4 | 0,7 | 93,2 | 2,0 | 82,8 | 1,7 |
| 4 | Spuren | — | — | — | — | — | — | — |
| | 94,8 | | 48,0 | | 123,2 | | 92,8 | |

Nach Beendigung dieses Versuches wurden die Keime der ersten Portion in 55 ccm Extrakt aus Weizenkeimen gebracht. Im Laufe von 4 Stunden wurden nur Spuren von Kohlensäure ausgeschieden.

Versuch 24.

In Wasser geweichte Weizenkeime wurden mit Aceton und Äther versetzt. Ein Teil der Keime wurde zu feinem Mehl zerrieben. Zum Versuch wurden je 10 g Mehl und unversehrte Keime in 80 ccm destilliertem Wasser und 1 ccm Toluol verwendet.

Acetonkeime.

| Versuchsdauer | Unversehrte Keime in Wasser | Versuchsdauer | Zerriebene Keime in Wasser |
|---------------|--------------------------------|---------------|-------------------------------|
| 5 Stunden | 16,6 mg CO ₂ | 23 Stunden | 8,0 mg CO ₂ |
| 18 | 3,2 | | |
| | 19,8 mg CO ₂ | | |

Nach 5 Monaten wurden wieder zwei Portionen Acetonkeime zu je 5 g untersucht. Die eine Portion wurde in 60 ccm destilliertes Wasser gebracht, die andere mit einer geringen Menge Wasser angefeuchtet und in dünner Schicht auf Watte in ein U-Rohr eingeführt.

| Versuchsdauer | Wasser | Luft |
|---------------|------------------------|------------------------|
| 20 Stunden | 6,8 mg CO ₂ | 8,8 mg CO ₂ |

Versuch 25.

Spitzen etiolierter Stengel von *Vicia Faba*, die mit Aceton behandelt waren. Verwendet wurden zwei Portionen, von denen die eine in der Reibschale zerrieben war. Beide Portionen wurden mit 50 ccm 10%iger Glykoselösung und 0,8 ccm Toluol in Erlenmeyer'sche Kolben gebracht. Temperatur 19,5°.

Mit Aceton behandelte Stengelspitzen.

| Versuchsdauer in Stunden | Unzerkleinert 3,3 g | | Zerkleinert 4,1 g | |
|-----------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| | Kohlensäuremenge | | Kohlensäuremenge | |
| | in Milli- grammen | auf 100 g berechnet | in Milli- grammen | auf 100 g berechnet |
| 46 | 36,6 | 1109 | 24,4 | 595 |

Aus den in der zweiten Hälfte dieser Arbeit beschriebenen Versuchen folgt, daß sich eine starke Kohlensäureausscheidung durch die Pflanzen nur dann beobachten läßt, wenn diese von Gas umgeben sind. Werden die Pflanzen in Wasser gesetzt, so wird dieses von einem starken Sinken der Kohlensäurebildung begleitet, wie aus folgender Tabelle sichtbar ist.

Abgetötete Keime.

| Nr. des Ver- suches | Ver- suchs- dauer in Stun- den | Pflanze | Toluol- menge in ccm | In Gas ausge- schiedene Kohlen- säure- menge in mg | In Wasser ausge- schiedene Kohlen- säure- menge in mg | Verhältnis der in Wasser ausgeschiedenen CO ₂ zu der in Gas ausgeschiedenen in Prozenten |
|------------------------------|---|---------------|----------------------------|--|---|---|
| 19 | 1 | Erfror. Keime | 1 | 17,7 | 5,8 | 32,7 |
| 20 | 21 | „ „ | 4 | 100,4 | 15,6 ¹⁾ | 15,6 |
| 21 | 6 | „ „ | 0 | 53,6 | 20,0 | 37,3 |
| 22 | 1 | „ „ | 0 | 9,4 | 4,0 | 42,6 |
| 23 | 51 | „ „ | 1 | 94,8 | 48,0 | 50,6 |
| 24 | 20 | Acetonkeime | 1 | 8,8 | 6,8 | 77,2 |

¹⁾ In diesem Versuch äußert sich die schädliche Wirkung eines zu großen Toluolzusatzes.

Eine ähnliche Erscheinung läßt sich, wenn auch nicht in so starkem Grade, gleichfalls an lebenden Pflanzen beobachten. (Versuch 18.)

Lebende Keime.

| Versuchsdauer in Stunden | In Luft ausgeschiedene CO ₂ in mg | In Wasserstoff ausgeschiedene CO ₂ in mg | Verhältnis der in Wasserstoff ausgeschiedenen CO ₂ zu der in Luft ausgeschiedenen in Prozenten | In Wasser ausgeschiedene CO ₂ in mg | Verhältnis der in Wasser ausgeschiedenen CO ₂ zu der in Luft ausgeschiedenen in Prozenten |
|--------------------------|--|---|---|--|--|
| 1 | 15,9 | 13,3 | 83,6 | 10,5 | 66,0 |

Ungeachtet der Übereinstimmung der Endresultate sind die Ursachen, die eine Verminderung der Kohlensäureausscheidung bei lebenden und bei abgetöteten, in Wasser gesetzte Pflanzen hervorrufen, wesentlich von einander verschieden. Lebende Keime verlangen Sauerstoff. Für abgetötete Keime ist der Mangel an Sauerstoff von keiner Bedeutung, da sie ja an der Luft die gleichen Mengen Kohlensäure ausscheiden wie in einer sauerstofffreien Atmosphäre. Vergleichen wir aber die Kohlensäuremengen, die einerseits lebende Keime in Wasserstoff (bei vollkommenem Fehlen von Sauerstoff) und andererseits in Wasser (also nur bei nicht genügendem Sauerstoffzutritt) ausscheiden, so ergibt es sich wider Erwarten, daß im letzteren Falle weniger Kohlensäure ausgeschieden wird. Folglich handelt es sich hier nicht allein um den Mangel an Sauerstoff; es müssen auch die physikalischen Eigenschaften des umgebenden Mediums in Betracht gezogen werden: für die normale Ausscheidung von Kohlensäure ist es notwendig, daß die Pflanze von Gas und nicht von Flüssigkeit umgeben ist. Diese Tatsache wird vollkommen durch die Versuche von Wiesner und Molisch¹⁾ erklärt, die nachwiesen, daß Gas durch eine Membran besser in Gas diffundiert als in Wasser. Aus demselben Grunde besitzen Wasserpflanzen, die ganz von Wasser bedeckt sind, viele innere Luftbehälter, in welche die durch die Pflanze eliminierten Gase

¹⁾ Wiesner und Molisch, Sitzungsber. d. Wiener Akad., math.-naturw. Klasse. Bd. XCVIII, 1890.

abgesondert werden. Wenn sich ferner Landpflanzen eine Zeitlang unter Wasser befunden haben, atmen sie danach an der Luft energischer, als in der Norm. Diese Tatsache wird gewöhnlich durch Anhäufung von Kohlensäure in den Geweben erklärt. Es ist aber auch noch eine andere Ursache möglich: wenn der Austritt der Kohlensäure erschwert ist, wird sie auch in geringerer Menge gebildet. Hansteen¹⁾ und Purjewitsch²⁾ haben gezeigt, daß sich gewisse Stoffe nur dann in den Pflanzen bilden, wenn sie entweder ausgeschieden werden können oder verbraucht werden. Es ist nun möglich, daß bei erschwerter Absonderung der sich bildenden Kohlensäure, die Oxydationsprozesse nur bis zur Bildung organischer Säuren gehen, wie das bei den Crassulaceen der Fall ist. Somit läßt sich die Verminderung der Kohlensäureausscheidung unter Wasser gesetzter Pflanzen vor allem durch das physikalische Gesetz erklären, daß Gase leichter in Gas als in Wasser diffundieren, ferner durch den Mangel an Sauerstoff und endlich, als Folge dieser beiden Gründe, durch den Umstand, daß die Oxydationsprozesse bei der Bildung organischer Säuren stehen bleiben.

Ganz andere Verhältnisse liegen bei abgetöteten Keimen vor. Das Wasser entzieht den Keimen gewisse lösliche Substanzen. Deshalb atmen abgetötete Keime, die sich unter Wasser befunden haben, an der Luft um so schwächer, je länger sie in Wasser geblieben sind. Z. B. (Versuch 21): 10 g erfrorener Keime schieden im Laufe von 6 Stunden in Luft 53,6 mg CO₂ aus; die gleiche Portion schied in Wasser nur 20,0 mg CO₂ aus; darauf an die Luft gebracht, schied sie in einer Stunde nur 2,0 mg CO₂ aus. 10 g erfrorene Keime scheiden eine Gesamtmenge von 102—128 mg Kohlensäure aus. Die gleiche Portion anderthalb Stunden unter Wasser gehaltener Keime schied dagegen nur 47,4 mg CO₂ aus. Was für Substanzen werden nun den Keimen durch Wasser entzogen? Entweder Enzyme oder Coenzyme oder Nährmaterial. Magnus³⁾ unterwarf

¹⁾ Hansteen, Flora, 1894, Ergänzungsband.

²⁾ Purjewitsch, Jahrbücher für wissenschaftl. Botanik, Bd. XXXI, S. 1, 1897.

³⁾ Magnus. Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 152, 1904.

eine Lösung aus Leber gewonnener Lipase der Dialyse und fand, daß sowohl das Innen- wie auch das Außenwasser für sich die Fähigkeit verloren hatte, Fette zu zerlegen. Wurde jedoch das Innen- und Außenwasser vermischt, so war diese Flüssigkeit wieder imstande, Fette zu spalten. Auf Grund dieses Versuches nennt er diejenigen Substanzen, die an der Arbeit der Enzyme teilnehmen, Cofermente oder Coenzyme. Nach den Untersuchungen von E. Buchner und Antoni¹⁾ dienen die Phosphate als Coenzym der Zymase. Zur Entscheidung der Frage über die Existenz eines Coenzym wurde ein ausgekochter Extrakt aus Weizenkeimen hergestellt. Es erwies sich nun, daß die Keime, welche in diesen Extrakt gelegt worden waren, beträchtlich mehr CO₂ ausschieden, als Keime, die sich in Wasser befanden: z. B. (Versuch 22).

| | | |
|-------------|------------------------|---------|
| An der Luft | 9,4 mg CO ₂ | |
| In Wasser | 4,0 » » | (42,6%) |
| Extrakt | 8,3 » » | (88,2%) |

Vorher anderthalb Stunden in Wasser geweichte Keime geben in Extrakt sogar beträchtlich mehr Kohlensäure ab, als in Luft (Versuch 23).

| | | |
|-------------------------|-------------------------|----------|
| In Luft | 94,8 mg CO ₂ | |
| » Wasser | 48,0 » » | (50,6%) |
| » Extrakt | 123,2 » » | (130,0%) |
| » 30%iger Glykoselösung | 92,8 » » | (97,6%) |

In Anbetracht dessen, daß auch durch Zuckerlösung die Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure stark vergrößert wird, bleibt die Frage offen, ob dem Extrakt nur die Bedeutung eines Nährmaterials (indem hierzu auch Phosphate gerechnet werden) zukommt, oder ob es auch ein stimulierendes Coenzym enthält. Zugunsten einer solchen Stimulation spricht die Tatsache, daß das Extrakt gleichfalls die Kohlensäureausscheidung lebender Pflanzen verstärkt (Versuch 18).

| | |
|-------------|------|
| Luft | 15,9 |
| Wasserstoff | 13,3 |
| Wasser | 10,5 |
| Extrakt | 14,3 |

¹⁾ E. Buchner und Antoni, Diese Zeitschrift, Bd. XLVI, 1905, S. 136.

E. Buchner und Antoni¹⁾ haben vor kurzem gezeigt, daß das Zerreiben des Zymins (durch Aceton abgetötete Hefe) eine Abschwächung der Gärkraft verursacht. Noch schärfer tritt dieses in meinen Versuchen hervor. Die folgende Tabelle zeigt, ein wie starkes Sinken der Kohlensäurebildung das Zerreiben erfrorener Pflanzen bewirkt.

Erfrorene Pflanzen.

| Nr. des Versuches | Pflanze | Umgebendes Medium | Menge CO ₂ durch unversehrte Pflanzen ausgeschieden in mg | Menge CO ₂ durch zerriebene Pflanzen ausgeschieden in mg | Verhältnis der durch zerriebene Pflanzen ausgeschied. CO ₂ -Menge zu der durch unversehrte ausgeschiedenen in % |
|-------------------|---------------|-------------------|--|---|--|
| 19 | Erfror. Keime | Wasser | 114,0 | 30,8 | 27,0 |
| 21 | „ | „ | 20,0 | 10,8 | 54,0 |
| 22 | „ | Luft | 187,2 | 54,8 | 29,2 |
| 24 | Acetonkeime | Wasser | 19,8 | 8,0 | 40,4 |
| 25 | Acetonstengel | Zuckerlösung | 110,9 | 59,5 | 53,6 |

Obgleich das Zerreiben nur 10 Minuten dauert, geht ein Teil der Kohlensäure natürlich verloren; ja ich habe sogar gute Veranlassung, zu vermuten, daß das Zerreiben von einer regeren Kohlensäureausscheidung begleitet wird. Trotzdem liegt kein Grund vor, die erhaltenen recht beträchtlichen Unterschiede einzig und allein dem Verlust während der Zerreibung zuzuschreiben. Um ähnlichen Einwänden vorzubeugen, wurde in einem Versuch (22) das Zerreiben der gefrorenen Keime in der Kälte vorgenommen; desungeachtet war der Unterschied ebenso ein sehr beträchtlicher.

Schon Jacobi²⁾ weist darauf hin, daß es zur Untersuchung der Tätigkeit proteolytischer Fermente keineswegs notwendig ist, die Gewebe zu zerstören. Auf Grund der vorliegenden Versuche folgt sogar, daß hierbei, wenn es nur irgendwie möglich ist, die Zerstörung der Zellen und Gewebe der abgetöteten Tiere und Pflanzen vermieden werden muß.

¹⁾ E. Buchner u. W. Antoni, Diese Zeitschrift. Bd. XLIV, S. 215.

²⁾ Jacobi, Diese Zeitschrift, Bd. XXX, 1900, S. 149.