

Die Atmungspigmente der Pflanzen.

Von
W. Palladin.

(Pflanzenphysiologisches Institut der Universität St. Petersburg.)

(Der Redaktion zugegangen am 22. Februar 1908.)

Den Anlaß zu der vorliegenden Arbeit gab folgender Versuch: Weizenkeime ¹⁾ wurden im Verlauf von einem Tage unter einer dünnen Wasserschicht eingeweicht, dann mit Wasser und Chloroform in Überschuß versetzt und bei Zimmertemperatur behufs Selbstverdauung belassen. In den ersten Tagen wurden keine Veränderungen wahrgenommen; nach Ablauf von 10 Tagen ist die Oberfläche der Flüssigkeit dunkelbraun geworden; diese dunkle Färbung verschwand bei Umrühren. Die oxydierte Schicht der Flüssigkeit wurde also durch die Keime wieder reduziert. Nach einigem Stehenlassen färbte sich aber die oberste Flüssigkeitsschicht wieder dunkelbraun; ihre Dicke nahm allmählich zu, die unterste Schicht und die Keime selbst blieben dagegen farblos. Nach Ablauf von einem Monate wurden die Keime abfiltriert; das dunkelgelbe Filtrat ist bei Umrühren und Luftzutritt erst dunkelrot, dann schwarzbraun geworden. Die abfiltrierten und in einer dünnen Schicht ausgebreiteten Keime oxydierten sich bei Luftzutritt und nahmen erst eine violette, dann dunkelbraune Färbung an. Es hat sich also bei der Selbstverdauung der Keime unter anderen Spaltungsprodukten der Eiweißkörper eine (oder mehrere?) Substanz gebildet, die bei allmählicher Oxydation verschiedenartig gefärbte Pigmente liefert. Diese Oxydation kommt unter Mitwirkung der in den Keimen vorhandenen Peroxydase zustande. In Weizenkeimen bildet sich also die chromogene Substanz erst nach erfolgter Selbst-

¹⁾ Bezogen von Maggi, Stadtmühle, Zürich.

verdauung, in vielen anderen Pflanzen ist dieselbe in mehr oder weniger bedeutender Menge zu jeder Zeit vorhanden. Es genügt, auf die interessanten Untersuchungen Bertrands¹⁾ über die Laccase hinzuweisen. Dieser Forscher hat nachgewiesen, daß sich im Saft des Lackbaumes ein oxydierendes Enzym, die sogenannte Laccase, vorfindet. Laccol wird durch Laccase in ein schwarzes Pigment oxydiert. Bei den Pilzen wird Tyrosin, nach den Untersuchungen von Bourquelot und Bertrand,²⁾ durch Tyrosinase in ein dunkelbraunes Pigment oxydiert. Tyrosinase wurde ferner durch Harlay,³⁾ Bourquelot und Hérissé,⁴⁾ Gessart,⁵⁾ Epstein⁶⁾ u. a. untersucht. Gonnermann,⁷⁾ Bertel⁸⁾ und Czapek⁹⁾ nehmen an, daß bei dieser Oxydation Homogentisinsäure als Zwischenprodukt auftritt. Bertrand¹⁰⁾ behauptet, daß die rote bzw. schwarze Farbe des Runkelrübensaftes ebenfalls eine Folge der enzymatischen Oxydation des Tyrosins ist.

Neuerdings haben Bertrand und Muttermilch¹¹⁾ Tyrosinase in Weizenkleie gefunden; diese Forscher¹²⁾ haben dargestellt, daß die Färbung des Schwarzbrottes (pain bis) von den-

¹⁾ G. Bertrand, *Annales de chimie et de physique*, série 7, Bd. XII, S. 115 (1897).

²⁾ Bourquelot et G. Bertrand, *Journ. de pharm. et de chim.* (6), Bd. III, S. 177 (1896); *Bull. de la soc. mycolog. de France*, S. 18, 27 (1896); Bourquelot, ebenda, S. 65 (1897); *Comptes rendus de la société de biologie*, S. 811 (1896).

³⁾ Harlay, *Journ. de pharm. et de chim.* (6), Bd. IX, S. 225, 424 (1899), Bd. XI, S. 172 (1900).

⁴⁾ Bourquelot et Hérissé, ebenda (6), Bd. VIII, S. 1898 (1898).

⁵⁾ Gessart, *Ann. de l'Institut Pasteur*, Bd. XV, S. 593, 817 (1901); *Comptes rendus de la soc. de biologie* (1904).

⁶⁾ Epstein, *Archiv für Hygiene*, Bd. XXXVI, S. 1490.

⁷⁾ Gonnermann, *Pflügers Archiv*, Bd. LXXXII, S. 289 (1900).

⁸⁾ Bertel, *Ber. d. Deutsch. botan. Gesellsch.*, S. 454 (1902).

⁹⁾ Czapek, *Ber. d. Deutsch. botan. Gesellsch.*, S. 464 (1902).

¹⁰⁾ G. Bertrand, *Comptes rendus*, Bd. CXXII, S. 1215 (1896).

¹¹⁾ G. Bertrand et Muttermilch, *Comptes rendus*, Bd. CXLIV, S. 1285 (1907).

¹²⁾ G. Bertrand et Muttermilch, *Comptes rendus*, Bd. CXLIV, S. 1444 (1907).

selben beiden Prozessen herrührt, die ich bei der Selbstverdauung der Weizenkeime beobachtete: zuerst werden Eiweißstoffe durch proteolytisches Enzym gespalten, dann wird ein Spaltungsprodukt, Tyrosin, durch Tyrosinase oxydiert unter Bildung von einem dunkelbraunen Pigment. Chodat und Staub¹⁾ untersuchten die Einwirkung der Tyrosinase auf verschiedene Spaltungsprodukte der Eiweißstoffe und auf einige von E. Fischer synthetisch dargestellte Polypeptide. Soeben sind auch Versuche von E. Abderhalden und M. Guggenheim²⁾ über die Wirkung der Tyrosinase aus *Russula delica* auf Tyrosin, tyrosinhaltige Polypeptide und einige andere Verbindungen unter verschiedenen Bedingungen publiziert worden. Die gegenwärtig verbreitete Ansicht, daß Schwarzwerden der Pflanzensäfte auf einer Oxydation des Tyrosins beruht, wird jedoch von E. Schulze³⁾ in Abrede gestellt; dieser Forscher hat im Runkelrübensafte weder Tyrosin, noch Homogentisinsäure gefunden. Auf Grund dieser genauen Arbeit glaube ich, daß das Vorhandensein schwarzer und roter Pigmente in Pflanzensäften wohl nicht immer auf eine Oxydation des Tyrosins zurückzuführen ist.

Welche Bedeutung wird den genannten Pigmenten im Pflanzenleben zuteil? Darüber finden wir in der einschlägigen Literatur meistens keine bestimmten Hinweise. Viele Forscher sind geneigt, die genannten Pigmente schlechthin als Abfallprodukte zu qualifizieren. Pfeffer behauptet, daß es sich hier um eine postmortale Erscheinung handelt. «Die lebende Zelle darf aber nicht nach den Reaktionen beurteilt werden, die mit dem Tode und in den ausgepreßten Säften eintreten. Denn so gut wie die enzymatische Zerlegung der Glukoside kommen mit solcher Mischung auch z. B. erst die Oxydationen zustande, durch welche u. a. die Säfte von *Monotropa*, *Faba* usw. sich dunkel färben. Diese postmortalen Oxydationen scheinen allgemein durch bestimmte Stoffe vermittelt zu werden, die man

¹⁾ Chodat et Staub, Archives des sciences phys. et naturelles (4), Bd. XXIII (1907); Bd. XXIV (1907).

²⁾ E. Abderhalden u. M. Guggenheim, Diese Zeitschrift, Bd. LIV, S. 331, 1908.

³⁾ E. Schulze, Diese Zeitschrift, Bd. L, S. 508 (1907).

vorläufig als Oxydasen zusammenfassen kann. Nach anderweitigen Erfahrungen kann es nicht überraschen, daß bestimmte Körper vielleicht nur produziert werden, um erst nach dem Tode zu wirken.»¹⁾ Nur Reinke²⁾ hat schon längst die große physiologische Bedeutung der uns interessierenden Pigmente berücksichtigt. Reinke bezeichnet diese Stoffe als «Autoxydatoren» und schreibt ihnen große Bedeutung im Atmungsprozesse zu: «Daß derartige Stoffe, die, wenn sie auch nur in geringer Menge im Protoplasma gebildet werden, durch ihre eigene Oxydation auch die Verbrennung schwieriger oxydierbarer Stoffe einleiten können, hat Moritz Traube hervorgehoben, und es bildet diese Tatsache die Grundlage der von ihm aufgestellten Theorie der Atmung.»³⁾ Im Anschluß daran habe ich die Vorstellung entwickelt, daß solche Stoffe, wie das Rhodogen, welche sich direkt mit dem Sauerstoff der Luft verbinden können, im Protoplasma entstehen und bei ihrer Oxydation, wie alle Autoxydatoren dies tun, zugleich atomistischen Sauerstoff erzeugen, der nun seinerseits imstande ist, Kohlenhydrate, Fette oder Säuren direkt zu verbrennen.»⁴⁾ Diese Ansicht muß nun auf Grund der gegenwärtig bekannt gewordenen Tatsachen in zwei Beziehungen modifiziert werden: erstens gehen diese Pigmente nicht direkt, sondern durch Vermittelung der Oxydase mit dem Sauerstoff der Luft Verbindungen ein, zweitens werden durch die genannten Pigmente nicht direkt Kohlenhydrate oxydiert, sondern deren Spaltungsprodukte, die ohne Eingriff des molekularen Sauerstoffs erzeugt werden. Der Atmungsprozeß ist also in Wirklichkeit bedeutend komplizierter, als es den Anschauungen Reinkes nach der Fall sein sollte.

Bei der Erforschung der physiologischen Bedeutung der genannten Pigmente muß in Betracht gezogen werden, daß diese sich in lebenden Pflanzen nicht auffinden lassen; meist erst nachdem die Pflanze ohne Zerstörung der oxydierenden Enzyme

¹⁾ Pfeffer, Pflanzenphysiologie, 2. Auflage, I., S. 553.

²⁾ Reinke, Diese Zeitschrift, Bd. VI, S. 263 (1882), und Botanische Zeitung, S. 65 (1883).

³⁾ M. Traube, Gesammelte Abhandlungen, S. 396 ff.

⁴⁾ Reinke, Einleitung in die theoretische Biologie, S. 281 (1901)

getötet wird (was sich entweder durch Zerreiben, oder durch Erfrieren¹⁾ bewerkstelligen läßt), kommen die Pigmente zum Vorschein. Dies ist die Ursache davon, daß diese Substanzen als Abfallsstoffe betrachtet wurden. Es liegt wohl die Annahme nahe, daß Pigmentbildungen als reversible Reaktionen aufzufassen sind, daß folglich ein in der lebenden Zelle gebildetes Pigment sofort wieder reduziert wird, indem es den gebundenen Sauerstoff auf andere Stoffe überträgt und auf diese Weise in einer lebenden Zelle niemals angehäuft werden kann. Wird aber mit dem Tode der Zelle die Tätigkeit der Oxydase verstärkt, oder diejenige reduzierender Stoffe gehemmt, so kommt dadurch eine rasche Anhäufung des Pigmentes zustande.²⁾

Die von mir ausgeführten Versuche zeigen, daß Atmungspigmente tatsächlich reduziert werden, wie dies schon Reinke³⁾ hervorhob. Weizenkeime wurden nach einer 2 Monate dauernden Selbstverdauung in Chloroformwasser, bei Luftzutritt, abfiltriert. Das dunkelbraune Filtrat konnte durch Ammoniumsulfid und durch schwellige Säure teilweise reduziert werden, besonders gut und schnell aber durch Zinkstaub in Gegenwart der Essigsäure; es wurde dabei eine strohgelbe Lösung erhalten, deren Oberfläche sich bei Luftzutritt wieder dunkel färbte. Behufs Lösung der Frage, ob man hier wirklich mit einem Autoxydatoren, d. h. mit einem den molekularen Sauerstoff selbständig absorbierenden Stoffe zu tun hat, wurde eine andere Portion des dunkeln Filtrates ausgekocht und der dabei entstandene Eiweißniederschlag abfiltriert. Das ausgekochte Pigment verhielt sich gegenüber Ammoniumsulfid, schwelliger Säure und Zinkstaub in essigsaurer Lösung ebenso wie das nicht ausgekochte. Ein wesentlicher Unterschied bestand aber darin, daß eine ausgekochte und durch atomistischen Wasserstoff reduzierte

¹⁾ Palladin, Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 407 (1906).

²⁾ Ich habe Gründe zugunsten der Annahme, daß mit dem Tode das Gleichgewicht der Enzymreaktionen hauptsächlich durch Verstärkung der Oxydasenwirkung, nicht aber durch Hemmung der Tätigkeit reduzierender Stoffe gestört wird. In einer bald zu erscheinenden Arbeit werde ich die Verstärkung postmortaler Oxydasenwirkung näher erläutern. In der lebenden Pflanze wird die Oxydasentätigkeit gemildert.

³⁾ Reinke, Diese Zeitschrift, Bd. VI, S. 270 (1882).

Lösung sich bei Luftzutritt nicht wieder oxydierte. Eine Oxydation erfolgte erst nach Zusatz der nach dem Verfahren von Chodat und Bach aus Meerrettig dargestellten Peroxydase und des Wasserstoffsperoxyds. Ich erhielt dabei eine rote Lösung; Schwarzwerden wurde nicht wahrgenommen. Das Atmungspigment der Weizenkeime wird also nicht unmittelbar durch molekularen Sauerstoff oxydiert; diese Oxydation kommt nur in Gegenwart einer Oxydase zustande.

Werden etiolierte Weizenkeimlinge mit Chloroformwasser versetzt und im Verlauf von einigen Tagen einer Selbstverdauung unterworfen, so färbt sich die Oberfläche der Flüssigkeit zuerst rosarot, dann violettbraun, die untere Masse bleibt dagegen farblos. Hier bildet sich also auch ein Chromogen, aus welchem bei Luftzutritt ein Pigment entsteht: letzteres wird durch atomistischen Wasserstoff ebenfalls reduziert. Wird der Kolben ausgekocht, so färbt sich das gelbe Filtrat bei Luftzutritt äußerst langsam, nimmt aber schnell eine rote Färbung nach Zusatz des Wasserstoffsperoxyds und der Meerrettigperoxydase. Braune Pigmente der Kartoffelknollen und des Pilzes *Agaricus campestris* werden ebenfalls durch Wasserstoff in statu nascendi reduziert. Kartoffelknollen und *Agaricus campestris* liefern nach Auskochen mit Wasser gelbe oder hellbraune Filtrate, die durch Wasserstoffsperoxyd und Meerrettigperoxydase sehr wenig oxydiert werden können; die oxydierenden Enzyme der genannten Objekte scheinen also von der Meerrettigperoxydase verschieden zu sein.

Die oben beschriebenen Atmungspigmente können nicht nur durch entsprechende Chemikalien, sondern auch durch die Pflanzen selbst reduziert werden. Die bei der Selbstverdauung der Weizenkeime entstehende braune Zone verschwindet bei Umrühren; die von den Weizenkeimen abfiltrierte dunkelbraune Flüssigkeit wird durch Weizenkeime bei Sauerstoffabschluß in eine hellgelbe Lösung reduziert. Die diesbezüglichen Versuche wurden folgendermaßen ausgeführt: in Wasser eingeweichte Weizenkeime wurden in geräumige Reagenzgläser hineingetan und mit einer dunkelbraunen Lösung des Atmungspigmentes

übergossen; dann wurden einige Tropfen Chloroform zugegeben und das Reagenzglas verschlossen. Damit keine Luftblase im Reagenzglas zurückbleibt, wird letzteres mit der Lösung bis zum Rande angefüllt, dann wird ein Zwirnfaden in die Flüssigkeit auf ein paar Zentimeter eingeführt und nun der Stöpsel eingesetzt. Der Überschuß der Flüssigkeit fließt dabei durch den Zwirn heraus; alsdann wird der Zwirnfaden herausgezogen und das Reagenzglas bleibt verschlossen, ohne daß eine einzige Luftblase unter dem Stöpsel bleibt. Nach Ablauf von einigen Tagen wird das Pigment durch die mit Chloroform getöteten Keime reduziert und die Lösung entfärbt. Die Flüssigkeit bleibt so lange farblos, bis die Selbstverdauung der Weizenkeime nur in Gegenwart des Chloroformwassers erfolgt. Nach dem Öffnen des Reagenzglases werden erst die Oberfläche, dann aber auch die unteren Schichten der Flüssigkeit rot gefärbt.

Aus obigen Versuchen ist ersichtlich, daß Atmungspigmente nicht nur durch verschiedene Chemikalien, sondern auch durch die mit Chloroform getöteten Pflanzen reduziert werden können. Es müssen also speziell dazu bestimmte Enzyme, die sogenannten Reduktasen, auch in Pflanzen vorkommen. Das Vorhandensein der genannten Enzyme in Tiergeweben ist eine durch die Arbeiten Ehrlichs¹⁾ und anderer Forscher bereits festgestellte Tatsache. Nicht so in betreff der Pflanzen, denn gegenwärtig wird die Aufmerksamkeit der Physiologen hauptsächlich auf Oxydasen gerichtet, denen größere Bedeutung bei den Oxydationsprozessen zugeschrieben wird, als es in Wirklichkeit der Fall zu sein scheint. Nur die reduzierenden Eigenschaften der Bakterien wurden Gegenstand zahlreicher Untersuchungen.²⁾ M. Hahn hat eine Reduktase in der Hefe aufgefunden;³⁾ hinsichtlich der Samenpflanzen verfügen wir jedoch

¹⁾ Ehrlich, Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus. Eine farbenanalytische Studie (1885).

²⁾ Beyerinck, Archives Néerlandaises, série 2. Bd. IX, S. 131 (1904).

³⁾ E. Buchner, H. Buchner und M. Hahn, Zymasegärung, S. 341 (1903).

nur über spärliche Andeutungen; so hat z. B. Rey-Pailhade¹⁾ darauf hingewiesen, daß Pflanzenzellen unter Umständen reduzierendes Vermögen besitzen; Rey-Pailhades Philothion ist offenbar nichts anderes als eine Reduktase: zu derselben Kategorie der Erscheinungen ist auch die von Loew beobachtete Reduktion der Silbersalze durch Protoplasma beizuzählen.

Mit dem Zwecke, unsere lückenhaften Kenntnisse über die Reduktasen der Samenpflanzen etwas zu erweitern, habe ich einige Versuche ausgeführt, deren Beschreibung nunmehr folgt. Zum Nachweis der Reduktasen bediente ich mich einiger leicht zu reduzierender Stoffe, wie z. B. Methylenblau, Alizarinblau S,²⁾ Indigotin, Indigokarmin, indigschwefelsaures Natrium, Azolitmin, Hämatoxylin in alkalischer Lösung, Alkannin,³⁾ essigsäures Rosanilin,⁴⁾ selenigsäures Natrium.⁵⁾ In Wasser eingeweichte Weizenkeime wurden lebend oder erfroren mit einigen Tropfen Chloroform in große Reagenzgläser hineingetan und mit einem der genannten Reagenzien übergossen. Die Reagenzgläser wurden dann nach dem oben beschriebenen Verfahren luftdicht verschlossen. Nach Ablauf von 1—2 Tagen (je nach der Konzentration des betreffenden Farbstoffes) wurde die Lösung entfärbt; nach dem Öffnen der Reagenzgläser kam eine Oxydation zustande, und die Lösungen nahmen wieder ihre ursprüngliche Farbe an. Nach einer sehr lange dauernden Sauerstoffentziehung ging die Fähigkeit, sich bei Luftzutritt zu regenerieren, bei einigen Pigmenten (Methylenblau, Azolitmin, Hämatoxylin) verloren; andere (wie z. B. indigschwefelsaures Natrium) lieferten dagegen selbst nach einem sehr lange dauernden Sauerstoffabschluß wieder schön gefärbte Lösungen. Besonders schnell

¹⁾ Rey-Pailhade, Comptes rendus, Bd. CVI, S. 1683; Bd. CXVIII, S. 1201; Comptes rendus de la société de biologie, Bd. XLVIII, S. 479 (1896); Bd. XLIX, S. 334, 519, 670 (1897); Bd. L, S. 372, 1153 (1898).
Pozzi-Escot, État actuel de nos connaissances sur les oxydases et les reductases, Paris, 1902.

²⁾ Ehrlich, Sauerstoffbedürfnis usw.

³⁾ Reinke, Diese Zeitschrift, Bd. VI, S. 271 (1882).

⁴⁾ Müller, Zentralblatt für Bakteriologie, Bd. XXVI, S. 51, 801 (1899).

⁵⁾ Scheurlen, Zeitschrift für Hygiene, Bd. XXXIII, S. 135 (1900).
Klett, ebenda, S. 137.

wurden Methylenblau und Indigopigmente entfärbt. Essigsaures Rosanilin wird sehr wenig reduziert. Eine durch Bakterien reduzierte farblose Lösung des selenigsauren Natriums scheidet metallisches Selen als roten Niederschlag aus. Weizenkeime erzeugten ebenfalls eine orangerote Fällung in großer Menge.

Durch obige Versuche mit Farbstoffen wird die Anwesenheit der Reduktasen in Samenpflanzen festgestellt. Diese Enzyme reduzieren die Atmungspigmente und dürfen also bei dem Studium der Atmungs- und Gärungsprozesse nicht außer acht gelassen werden. Auch ist es ersichtlich, daß beide genannten Prozesse bedeutend komplizierter sind, als es auf Grund der bis heute bekannt gewordenen Tatsachen der Fall zu sein schien.

Bei dem Atmungsprozesse werden Oxydasen, Atmungspigmente, Reduktasen, Katalase und anaerobe Enzyme (Zymase) in Mitleidenschaft gezogen. Der primäre Grundprozeß, bei welchem freie Energie gelöst wird, ist bei Pflanzen, ebenso wie bei Tieren eine anaerobe Spaltung komplizierter organischer Verbindungen auf einfachere Körper. Dieser Prozeß wird durch besondere anaerobe Enzyme hervorgerufen. Von den anaeroben Prozessen ist bei Samenpflanzen die Alkoholgärung am meisten verbreitet und es liegt die Annahme nahe, daß die Alkoholgärung selbst nicht eine einfache, sondern komplizierte Erscheinung ist. E. Buchner¹⁾ und Stoklasa²⁾ nehmen an, daß bei der Alkoholgärung Milchsäure als Zwischenprodukt auftritt. In einer gemeinsam mit Kostytschew³⁾ publizierten Arbeit haben wir darauf hingewiesen, daß getötete Pflanzen in sauerstofffreien Medien unter Umständen eine Kohlensäureproduktion ohne Alkoholbildung bewirken. Ich halte es für wohl möglich, daß hier ein Anfangsstadium der Alkoholgärung vorliegt. Das CO₂-Produktion ohne Alkoholbildung bewirkende Enzym habe ich Carbonase benannt. Zugunsten dieser neuen Bezeichnung sprechen die Resultate letzterer Arbeiten Kostytschews.⁴⁾

¹⁾ E. Buchner und Meisenheimer, Chem. Berichte, Bd. XXXVII, S. 417 (1904) und Bd. XXXVIII, S. 620 (1905).

²⁾ Stoklasa, Diese Zeitschrift, Bd. L (1907) und frühere Arbeiten.

³⁾ Palladin und Kostytschew, Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 214 (1906).

⁴⁾ Kostytschew, Botanische Berichte, Bd. XXV, S. 188 (1907).

Dieser Forscher hat gefunden, daß lebende Fruchtkörper von *Agaricus campestris* und ebenso der aus denselben nach E. Buchners Methode dargestellte Preßsaft in sauerstofffreien Medien eine lebhafte CO_2 -Produktion ohne gleichzeitige Alkoholbildung bewirken. Auch in der Hefe wird Zuckerspaltung nicht durch Zymase allein bedingt, denn Reduktase und Katalase sind in der Hefe reichlich vorhanden und bleiben freilich nicht ohne Einfluß auf den anaeroben Spaltungsprozeß des Zuckers unter Bildung von Kohlensäure und Äthylalkohol. Nicht nur in lebender Hefe, sondern auch in käuflichem Zymin habe ich immer Reduktase und Katalase in großen Mengen gefunden. Reduktasen sind den anaeroben Enzymen beizuzählen, denn sie werden besonders häufig bei Organismen aufgefunden, die einen mehr oder weniger beträchtlichen Teil ihres Lebens bei Sauerstoffmangel verbringen, namentlich bei Hefe und Bakterien. Die Reduktasen bewirken nicht nur die Sauerstoffübertragung von einem Stoffe zu dem andern, sondern auch die intramolekulare Sauerstoffübertragung von Kohlenstoff zu Wasserstoff, wobei Freiwerden von Energie erfolgt.

Ebenso ist Katalase ein anaerobes Enzym, denn sie findet sich auch in sehr beträchtlicher Menge in anaeroben Organismen, wie z. B. in lebender Hefe und in den käuflichen Zyminpräparaten.

Der das Freiwerden der Energie bedingende Prozeß (wie z. B. Alkoholgärung) wird also bei dem anaeroben Pflanzenleben durch dreierlei Arten der Enzyme hervorgerufen: durch anaerobe Enzyme im engeren Sinne des Wortes (Zymase), durch die Reduktase und durch die Katalase. Bei Sauerstoffzutritt werden die Spaltungsprodukte des anaeroben Stoffwechsels weiter oxydiert. Es bleibt noch dahingestellt, ob nur fertige Spaltungsprodukte (wie z. B. Alkohol) der Oxydation anheimfallen, oder ob bei Sauerstoffzutritt überhaupt kein Alkohol gebildet wird, indem anderweitige Zwischenprodukte oxydiert werden. Diese Oxydation muß ebenfalls unter Mitwirkung der Reduktasen stattfinden. Den Zusammenhang der Oxydationsprozesse stelle ich mir folgendermaßen vor. Der molekulare Sauerstoff wird durch Oxydasen (Laccase, Tyrosinase, Peroxydase) nur auf Chromogen übertragen. Damit

ist die Rolle der Atmungsoxydasen erschöpft. Bertrand hat nachgewiesen,¹⁾ daß das Oxydationsvermögen der Pflanzenoxydasen sehr beschränkt ist. «Les corps nettement attaquables par la lacasse sont ceux, qui, appartenant à la série benzénique, possèdent au moins deux des groupements OH ou NH₂ dans leur noyau et dans lesquels ces groupements sont situés les uns par rapport aux autres soit en position ortho, soit surtout en position para». Die meta-Verbindungen wurden äußerst schwer oxydiert. So haben z. B. Hydrochinon, Pyrokatechin und Resorzin in Gegenwart der Laccase folgende Sauerstoffmengen konsumiert.²⁾

Hydrochinon (Paradiphenol)	32,0
Pyrokatechin (Orthodiphenol)	17,4
Resorzin (Metadiphenol)	0,6.

Es ist dabei bemerkenswert, daß auch solche Stoffe, deren Oxydation durch die Oxydase möglich ist, niemals zu CO₂ und H₂O verbrannt, sondern nur unvollständig oxydiert werden; das Endprodukt dieser Oxydation scheint immer ein gefärbter Körper, d. h. ein Pigment zu sein. So wird z. B. Hydrochinon nur zu rotem Chinon oxydiert, unter Sauerstoffabsorption und Wasserbildung: $C_6H_6O_2 + O = C_6H_4O_2 + H_2O$.

Pyrogallol wird nur zu rotem Purpurogallin unter Sauerstoffabsorption und Kohlensäureabscheidung oxydiert. Laccol wird zu schwarzem Lack oxydiert. Eine durch unvollständige Oxydation verschiedener organischer Verbindungen entstehende Pigmentbildung liegt allen Farbenreaktionen der Oxydasen zugrunde. Aus allen bis heute bekannt gewordenen Tatsachen ist also ersichtlich, daß das Oxydationsvermögen der Atmungsoxydasen sehr beschränkt und zwar nur auf Pigmentbildung zurückzuführen ist. Die Atmungsoxydasen sind als pigmentbildende Enzyme aufzufassen. Nach vergeblichen Versuchen, Traubenzucker durch Laccase zu oxydieren, kam Portier³⁾ sogar zu dem Schlusse, daß Oxydasen

¹⁾ G. Bertrand, Comptes rendus, Bd. CXXII, S. 1132 (1896).

²⁾ G. Bertrand, Annales de chimie et de physique, 7^e série, Bd. XII, S. 131 (1897).

³⁾ Portier, Les oxydases dans la série animale. Leur rôle physiologique. Paris, 1897.

nur als Schutzstoffe fungieren, indem sie bei Verwundungen Lackbildung bewirken behufs Heilung der Wunde.

Meine Untersuchungen über die Atmung erfrorener Pflanzen zeigen, daß die Oxydasen nicht imstande sind, Oxydationserscheinungen in Pflanzen zu bewirken. So produzieren z. B. erfrorene Weizenkeime dieselben Mengen CO_2 bei Sauerstoffzutritt wie bei Sauerstoffabschluß:¹⁾ die Gesamtmenge der in diesem Falle gebildeten CO_2 ist also anaerober Herkunft. In einer gemeinsam mit Kostytschew ausgeführten Arbeit²⁾ haben wir alsdann nachgewiesen, daß die genannte CO_2 -Produktion mit der Alkoholgärung identisch ist. Erfrorene Weizenkeime erzeugen also lebhaftere Alkoholgärung, sind aber nicht imstande, obschon sie über bedeutende Mengen der Peroxydase verfügen, Kohlensäure als Resultat der Sauerstoffabsorption zu bilden. Daß die Peroxydase durch Erfrieren der Keime nicht zerstört worden war, ist daraus ersichtlich, daß erfrorene Keime unter Zusatz von Pyrogallol und Wasserstoffsuperoxyd sehr bedeutende Mengen CO_2 bildeten; eine derartige CO_2 -Produktion ist aber keineswegs als Atmung aufzufassen, sie gibt nur über die relative Menge der vorhandenen Peroxydase Aufschluß. In derselben gemeinsam mit Kostytschew ausgeführten Arbeit haben wir dargetan, daß erfrorene Erbsensamen bei Luftzutritt anaerob bleiben und starke Alkoholgärung bewirken. Lebende Erbsensamen bilden dagegen Alkohol nur bei Sauerstoffabschluß. Dadurch wird es klar gemacht, daß der Atmungsprozeß nicht nur durch die Tätigkeit der Peroxydase hervorgerufen wird: es verfügen nämlich weder Weizenkeime noch Erbsensamen über vorrätiges Atmungspigment. Die über bedeutende Mengen des Atmungschromogens verfügenden etiolierten Bohnenblätter scheiden bei Sauerstoffabschluß viel Kohlensäure aus und bleiben dabei gelblich gefärbt. Nach dem Aufhören der anaeroben CO_2 -Produktion der Bohnenblätter leitete ich einen Luftstrom durch den Apparat; dabei erfolgte wiederum starke CO_2 -Produktion und zugleich eine Oxydation des Chromogens. Die

¹⁾ Palladin, Diese Zeitschrift, Bd. XLVII, S. 407 (1906).

²⁾ Palladin und Kostytschew, Diese Zeitschrift, Bd. XLVIII, S. 214 (1906); Berichte der botan. Gesellsch., S. 51 (1907).

Blätter färbten sich nach und nach und sind schließlich vollständig schwarz geworden; zu dieser Zeit war auch die CO_2 -Produktion zu Ende. Eine Reduktion des Pigmentes wurde bei erfrorenen Blättern nicht wahrgenommen. Die Sauerstoffatmung erfrorener Blätter wurde offenbar dadurch ermöglicht, daß ein Atmungschromogen vorrätig war. Die Oxydationsprozesse der Pflanzen scheinen also höchst komplizierte Erscheinungen zu sein, die von verschiedenen Faktoren abhängig sind.

Aus obiger Darlegung ist der Schluß zu ziehen, daß die Funktion der Atmungsoxydasen sich folgendermaßen präzisieren läßt: Die Oxydasen absorbieren molekularen Sauerstoff und übertragen ihn alsdann auf die Atmungschromogene. Einige Oxydasen machen es selbständig (Laccase), andere dagegen (Peroxydase) bedürfen der Anwesenheit eines Superoxyds (Oxygenase).

Die im Atmungsprozesse mit den Oxydasen zusammenwirkenden Atmungspigmente sind in lebenden Pflanzen als farblose Chromogene enthalten. Zum Nachweis der Atmungspigmente ist eine Steigerung der Oxydationsprozesse oder eine Hemmung der Reduktionsprozesse erforderlich. Als Objekte können benutzt werden: weiße Zuckerrübe, Kartoffelknollen, *Agaricus campestris*, Keimlinge von *Vicia Faba*. Der Saft dieser Pflanzen färbt sich erst rot, dann aber schwarz. Die Bildung des roten Atmungspigmentes kann bei diesen Pflanzen mikroskopisch beobachtet werden, indem man Schnitte mit Wasserstoffsuperoxyd bearbeitet. Da das fragliche Pigment ein Abbauprodukt der Eiweißkörper ist, so muß bei vielen zu untersuchenden Pflanzen eine weitgehende Eiweißspaltung stattfinden; dieselbe wird dadurch herbeigeführt, daß man die Versuchsobjekte bei antiseptischer Versuchsanstellung einer Selbstverdauung unterwirft. Zu derartigen Objekten gehören Weizenkeime und Weizenkeimlinge.

Es gibt noch eine Kategorie der Pflanzen, die selbst nach erfolgter Selbstverdauung beinahe farblose Säfte liefern, denn da die Oxydation der betreffenden Chromogene durch Peroxydase allein nicht möglich ist, so bedarf es dazu noch der Anwesenheit von einem Superoxyd. Nach Zusatz von Wasser-

stoffsperoxyd tritt Rotfärbung ein. Als Beispiel dieser Art mögen gewöhnliche Lauchzwiebeln dienen. Die Pigmentbildung wird unter Umständen durch schwach alkalische Reaktion der Flüssigkeit befördert.

Zu den Atmungspigmenten sind auch verschiedene in den Pflanzen vorkommende Farbstoffe zu zählen. Verschiedene Farbstoffe höherer Pilze¹⁾ gehören zweifellos zu den Atmungspigmenten: eine derartige Vermutung wurde z. B. von Nadson ausgesprochen, der die Annahme für möglich hielt, daß eine enzymartige Eiweißsubstanz den molekularen Sauerstoff auf das Chromogen überträgt.

Zu derselben Kategorie gehören auch die Flechtenfarbstoffe;²⁾ es genügt, nur auf die so leicht stattfindende Reduktion des Azolitmins hinzuweisen. Von den Samenpflanzen sind die sogenannten Indigopflanzen zu berücksichtigen.³⁾ Von *Isatis alpina* schreibt Breaudat⁴⁾ wohl zutreffend: « Cette plante contient une diastase hydratante (Indoxylase Beyerincks) et une oxydase. En présence de l'eau la première dédouble l'indican en indigo blanc et indigluçine, la deuxième oxyde l'indigo blanc et le transforme en indigo bleu, à la faveur d'un alcali. » Meine mit *Phajus maculata* ausgeführten Versuche zeigten, daß die Knollen eine scharfe Oxydasenreaktion mit Guajakol und Wasserstoffsperoxyd liefern. Werden Schnitte aus Knollen mit Wasserstoffsperoxyd behandelt, so erfolgt schnell ein Blauwerden der Schnitte. Eine derartige Behandlung der aus Wurzeln angefertigten Schnitte hatte kein Blauwerden zur Folge. Daß aber auch in Wurzeln nach erfolgter Selbstverdauung unter sterilen Bedingungen und bei Luftzutritt Indigo gebildet wird, ist aus folgendem Versuche ersichtlich. Die Wurzeln wurden mit Chloro-

¹⁾ Zopf, Schenks Handbuch der Botanik, Bd. IV, S. 418 (1890); Nadson, « Die Pigmente der Pilze », 1891 (russisch); Czapek, Biochemie der Pflanzen, Bd. II, S. 496 (1905).

²⁾ Czapek, Biochemie der Pflanzen, Bd. II, S. 501 (1905).

³⁾ Molisch, Wiesners Rohstoffe des Pflanzenreiches, 2. Aufl., Bd. I, S. 423 (1900); Czapek, Biochemie, Bd. II, S. 361; Behrens, Lafars Technische Mykologie, Bd. I, S. 647 (1907).

⁴⁾ Breaudat, Comptes rendus, Bd. CXXVII, S. 769 (1898).

form in einen Kolben hineingetan und der Kolben wurde zugestopft: am zweiten Tage hat sich in den oberflächlichen Zellen viel blaues Indigo gebildet; die Menge des Farbstoffes nahm allmählich zu. Molisch beobachtete, daß Indigobildung durch die Einwirkung von Alkoholdampf hervorgerufen wird.¹⁾ Es scheint mir kaum zweifelhaft zu sein, daß durch künftige Untersuchungen der Nachweis dafür erbracht werden wird, daß Aloin,²⁾ Hämatoxylin, der rote Farbstoff der Cinchonarinden,³⁾ Luteophyllin⁴⁾ und viele andere Pflanzenfarbstoffe als Atmungspigmente anzusehen sind. In der lebenden Pflanze sind diese als farblose Chromogene vorhanden; doch gibt es auch unter normalen Verhältnissen gefärbte Farbstoffe, wie z. B. die Farbstoffe der roten Rübe und des roten Kohls. Bei einer Selbstverdauung unter Sauerstoffmangel werden die genannten Farbstoffe bedeutend entfärbt, doch tritt bei Umrühren der Filtrate wieder Rotfärbung ein. Die beiden genannten Pigmente werden durch Zinkstaub in essigsaurer Lösung reduziert; die reduzierten Lösungen färben sich bei Luftzutritt wieder rot. Daraus ist der Schluß zu ziehen, daß die genannten Pigmente, denen vielleicht noch viele andere beizuzählen sind, als Sauerstoffspeicher anzusehen sind. Sollte dies wirklich der Fall sein, so muß bei Sauerstoffabschluß bzw. bei gesteigerter Lebenstätigkeit (bei Keimung) eine Entfärbung der roten Rübe stattfinden. Die Lösung dieser Frage bleibt zukünftigen Untersuchungen vorbehalten.

Sämtliche Atmungspigmente der Pflanzen schlage ich vor, ohne Rücksicht auf deren chemische Struktur, als Phytohämatine zu bezeichnen; dadurch wird die Identität ihrer physiologischen Bedeutung mit derjenigen des Bluthämamins hervorgehoben.

Auf Grund der oben entwickelten Anschauungen wird der Atmungsprozeß der Pflanzen durch folgendes Schema dargestellt:

¹⁾ Molisch, Sitzungsberichte Wiener Akad. I. Abt., Bd. CII, S. 272 (1893).

²⁾ Molisch, Studien über den Milchsaff und Schleimsaff der Pflanzen, S. 105 (1901).

³⁾ Tschirch, Schweiz. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm., Bd. XLVI, S. 501 (1905), (zitiert nach Lafar, Technische Mykologie, Bd. I, S. 683).

⁴⁾ Molisch, Studien über den Milchsaff usw., S. 94.

Demnächst beginnt zu erscheinen.

Zeitschrift für biologische Technik und Methodik.

Unter Mitwirkung von Fachgenossen

herausgegeben von

Dr. MARTIN GILDEMEISTER

Privatdozenten der Physiologie in Straßburg i. E.

Originalartikel des ersten Heftes:

- Prof. **J. Rich. Ewald** (Physiol. Inst. Straßburg): Über Verwendung rotierender Spiegel zu physiologischen Untersuchungen. I. Das Zykloskop. Mit 3 Figuren.
- Dr. **W. Berndt** (Zoolog. Inst. Berlin): Apparat zum Aufhängen und Aufbewahren von Wandtafeln. Mit 5 Figuren.
- Prof. **T. Thunberg** (Physiol. Inst. Lund): Über die Anwendung eines Platinbrenners zum Schreiben auf Glas und für ähnliche Zwecke. Mit 1 Figur.
- Prof. **Wilh. Roux** (Anatom. Inst. Halle): Eine Methode der Selbstkopulation von Tropfen. Mit 1 Figur.
- Prof. **H. Zwaardemaker** (Physiol. Inst. Utrecht): Die Herstellung von Mischgerüchen. Mit 2 Figuren.
- Prof. **O. Langendorff** (Physiol. Inst. Rostock): Ein Versuch zur allgemeinen Muskelphysiologie. Mit 2 Figuren.
- F. Mandel** (Physiol.-Chem. Inst. Straßburg): Ein neuer Apparat zur Durchblutung überlebender Organe. Mit 1 Figur.
- Prof. **J. K. A. Wertheim Salomonson** (Amsterdam): Anfertigung und Gebrauch dünner versilberter Quarztäden. Mit 6 Figuren.
- Dr. **Martin Gildemeister** (Physiol. Inst. Straßburg): Ein Vogelmuskel, der sich besonders gut zu physiologischen Versuchen eignet. Mit 1 Figur.
- Prof. **Otto Weiß** (Physiol. Inst. Königsberg): Die Seifenlamelle als schallregistrierende Membran im Phonoskop. Mit 3 Figuren.
- Dr. **Gerhard Joachim** (Med. Klinik und Physiol. Inst. Königsberg): Klinische Resultate der Weißschen Registriermethode.
- Erich Herrmann** (Physiol. Inst. Königsberg): Registrierung von Streichinstrumentklängen.

Das erste Heft wird von jeder Buchhandlung
zur Ansicht vorgelegt.

Die

„Zeitschrift für biologische Technik und Methodik“

wird in zwanglosen Heften erscheinen, die zu Bänden von etwa 30 Druckbogen Text vereinigt werden. Der Preis des Bandes wird M 15.— betragen. Der Inhalt soll sich gliedern in:

- I. Kurze **Originalartikel** (in deutscher Sprache, nötigenfalls ins Deutsche übersetzt).
- II. Mitteilungen aus Laboratorien und Instituten über die dort übliche **Arbeits- und Lehrpraxis**. (Näheres darüber siehe unten.)
- III. **Notizen aus der Industrie**.
- IV. **Sammelreferate**.
- V. **Referate**: a) aus den biologischen Wissenschaften;
b) aus den Nachbargebieten, besonders der Physik, Chemie und physikalischen Chemie.

Bei der Gründung der Zeitschrift sind folgende Erwägungen maßgebend gewesen:

Die Biologie im weiteren Sinne, d. h. die Gesamtheit aller Wissenschaften, die sich mit der Erforschung des Lebenden, seiner Funktionen und seiner Produkte beschäftigen, arbeitet vielfach mit einer sehr ausgebildeten Technik und Methodik, die teils den Nachbarwissenschaften entlehnt wird, besonders der Physik und Chemie, teils ihre eigenen Wege geht. *Sehr oft ist hier der wissenschaftliche Fortschritt an die Ausarbeitung neuer Methoden geknüpft.*

Für den Forscher ist die Kenntnis der technischen und methodischen Errungenschaften von größter Wichtigkeit. Je besser er darüber orientiert ist, desto leichter wird er jedesmal den zweckmäßigsten Weg finden.

Hier macht sich aber unangenehm der Umstand geltend, daß *das Methodische einer biologischen Arbeit nur selten*

gesondert mitgeteilt wird. Gewöhnlich ist es beschrieben in einem Kapitel der betreffenden Publikation und wird hier, da weder der Titel noch die Zusammenfassung darauf Bezug nehmen, nur von demjenigen gelesen, der sich für die behandelte wissenschaftliche Frage besonders interessiert, während es, in besser zu überschender Weise dargeboten, auch auf anderen Gebieten Nutzen stiften könnte.

Ferner *enthalten die Arbeiten der Nachbarwissenschaften oft technische Dinge*, die dem biologischen Arbeiter von großem Vorteil wären, wenn sie zu seiner Kenntnis kämen. Aber er ist so sehr belastet mit der Literatur seines eigenen Faches, daß er die angrenzenden Gebiete nur aus Referaten kennen lernen kann. Und in diesen ist das Technische gar nicht oder nur sehr oberflächlich behandelt.

Eine große Menge technischer und methodischer Kenntnisse und Fertigkeiten wird überhaupt niemals publiziert, sondern verbirgt sich, nur Wenigen bekannt, in Laboratorien und Hörsälen. Wohl jede Arbeitsstätte hat ihren eigentümlichen Geist, ihre besonderen Vorteile und Hilfen, deren Eigenart dem wissenschaftlichen Arbeiter erst dann zum Bewußtsein kommt, wenn er das ihm vertraute Laboratorium mit einem anderen vertauscht. Dazu gehören z. B. die Tierpflege, Einzelheiten der Operationstechnik u. a. m. Diese scheinbar unbedeutenden und doch so wichtigen Kenntnisse, auf denen das beruht, was man die „**Schule**“ nennt, pflanzen sich bis jetzt nur durch **Tradition** von Mund zu Mund fort. Könnte man sie der Allgemeinheit zugänglich machen, so wäre damit auch der Wissenschaft ein großer Dienst geleistet.

Der wissenschaftliche Arbeiter ist meistens auch akademischer Lehrer oder wenigstens am akademischen Unterricht beteiligt. *Die didaktischen Aufgaben haben eine besondere Art von Technik gezeitigt, die man Lehrpraxis nennen könnte:* Darin ist vielerlei inbegriffen: die Ausführung anschaulicher Vorlesungsversuche, der Betrieb der praktischen Schülerübungen u. a. m. Auch hiervon ist bisher wenig publiziert worden.

Schließlich macht wohl jeder gelegentlich *kleine praktische Erfindungen*, die unbekannt bleiben, weil sie zu einer Veröffentlichung in den wissenschaftlichen Zeitschriften der üblichen Art nicht geeignet sind.

Bei dieser Lage der Dinge läßt es sich wohl rechtfertigen, daß die große Anzahl der schon bestehenden biologischen Zeitschriften um eine neue vermehrt wird, die es sich zur Aufgabe macht, die Technik und Methodik in dem dargelegten Sinne in **Originalartikeln, kurzen Notizen und Referaten** zu berücksichtigen. *In den Referaten sollen nur solche Arbeiten besprochen werden, und zwar von technischen und methodischen Gesichtspunkten aus, die in dieser Hinsicht etwas Neues bieten.*

Hauptsächlich wird es sich dabei um die folgenden biologischen Spezialwissenschaften handeln:

Physiologie der Tiere und der Pflanzen.

Physiologische Chemie. Bakteriologie. Gärungschemie.

Pharmakologie. Experimentelle Pathologie. Serumlehre.

Experimentelle Psychologie.

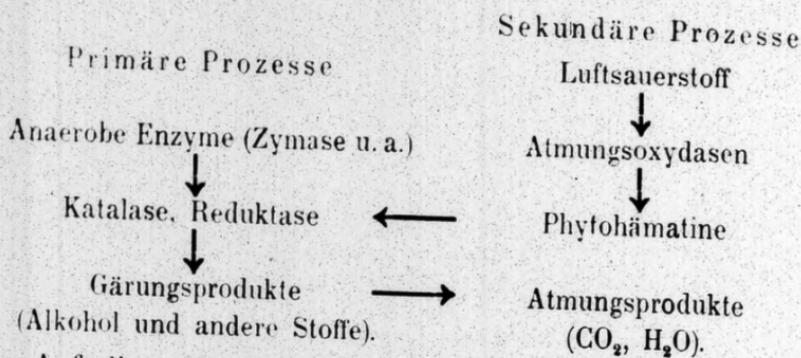
Experimentelle Morphologie. Entwicklungs- und Vererbungslehre.

Außerdem soll aus der **Physik, physikalischen Chemie und Chemie** das referiert werden, was den Biologen in technischer und methodischer Hinsicht von Nutzen sein könnte.

Die Verlagsbuchhandlung.

Der Herausgeber.

Straßburg i. E., Ende März 1908.



Auf diese Weise wird die Lehre von einheitlicher Atmung der Pflanzen und der Tiere aufgestellt. Es ist zwar bis heute die Ansicht vorherrschend, daß bei höheren Tieren der molekulare Sauerstoff unmittelbar durch das Hämochromogen des Hämoglobins absorbiert und zur Bildung des Hämatins verwendet wird: nachdem aber Oxydasen im Blute aufgefunden worden waren, scheint es wahrscheinlicher zu sein, daß der molekulare Sauerstoff durch Oxydasen auf das Hämochromogen übertragen wird. Bredig schreibt: «Das Oxyhämoglobin spielt also bei den Oxydationen im Blutlauf nicht die Rolle des Sauerstoffkatalysators, sondern nur die des Sauerstoffspeichers, wie etwa das Wasserstoffsuperoxyd bei der Oxydation des Indigos. Die eigentlichen Sauerstoffüberträger sind nach dem heutigen Stande der Forschung die neben dem Oxyhämoglobin vorhandenen Oxydationsfermente, welche im Stroma und in den Geweben enthalten sind und welche dieselbe Rolle spielen, wie das katalysierende Platin bei der Oxydation des Indigos.»¹⁾

Niedere Tiere stehen den Pflanzen noch näher;²⁾ das Blut der niederen Tiere ist an und für sich farblos, nur bei Luftzutritt wird es, gewiß unter Mitwirkung der Oxydasen, gefärbt. Auch sind die Blutfarbstoffe der niederen Tiere, ebenso wie diejenigen der Pflanzen verschiedenartig gefärbt und zusammengesetzt. Danach halte ich die Annahme für wohl berechtigt, daß der Zellsaft der Pflanzen als Pflanzenblut betrachtet werden kann.

¹⁾ Bredig, Anorganische Fermente, S. 87 (1901).

²⁾ Otto v. Fürth, Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere, S. 43, Jena 1903.