

Über die Chlorophyllassimilation.

Von

K. v. Kőrösy.

(Mitteilung aus dem physiologischen Institut der Universität Budapest.)

(Der Redaktion zugegangen am 17. Juni 1913.)

Unsere Kenntnisse über die quantitativen Verhältnisse der in den grünen Pflanzenteilen vor sich gehenden Kohlen-säureassimilation sind ziemlich spärlich. Sachs¹⁾ wies die Stärke nur qualitativ nach und rechnete in seinen quantitativen Untersuchungen den Gewinn an Trockensubstanz einfach als Stärke. Die Zunahme an Trockensubstanz wurde seit Sachs des öfteren untersucht. Brown und Morris²⁾ verfolgten in ihren grundlegenden Untersuchungen, in welchen relativen Verhältnissen in den assimilierenden Blättern unter verschiedenen Umständen die verschiedenen Kohlenhydrate vorkommen, ließen aber die absolute Größe der Trockensubstanzzunahme außer Achtung. Nur Menze³⁾ und Sapožnikov⁴⁾ untersuchten gleichzeitig die Zunahme der Kohlenhydrate und der Trockensubstanz.

Vom Standpunkte des Haushaltes der Natur aus aber ist eben die quantitative Seite der Chlorophyllassimilation, eigentlich nicht einmal so sehr die Menge der entstehenden Stoffe, als vielmehr der Gewinn an gebundener chemischer Energie, was uns in erster Reihe interessiert. Diese Frage wurde zuerst durch Detlefsen⁵⁾ im Institute von Sachs untersucht; er bestimmte mittels Thermoelemente, um wie vieles mehr von der strahlenden Energie der Sonne durch ein Blatt in CO₂-haltiger Atmosphäre absorbiert wird, als in CO₂-freier. Der

¹⁾ J. Sachs, Arb. bot. Inst. Würzburg, Bd. 3, S. 1 (1888).

²⁾ H. T. Brown und G. H. Morris, Journ. of the chem. soc. Trans., Bd. 63, S. 604 (1893).

³⁾ G. Menze, Justs Jahresber., 1888, Abt. 1, S. 34.

⁴⁾ N. V. Sapožnikov, Bot. Centralbl., Bd. 63, S. 246 (1895).

⁵⁾ E. Detlefsen, Arb. bot. Inst. Würzburg, Bd. 3, S. 534 (1888).

Wärmeaustausch assimilierender Blätter wurde durch Brown und Escombe¹⁾ einer äußerst gründlichen und sorgfältigen Untersuchung unterworfen. Sie untersuchten die im Blatte stattfindende Absorption der strahlenden Energie der Sonne, sowie die einzelnen Faktoren des Wärmeaustausches zwischen dem Blatte und seiner Umgebung; die zur Assimilation aufgewandte Energiemenge bestimmten sie aber nur aus der Menge der absorbierten Kohlensäure, in der Annahme, daß aus der Gesamtmenge der absorbierten Kohlensäure Kohlenhydrate gebildet werden.

Wenn wir die biochemischen Strahlenwirkungen in die zwei Hauptgruppen der mit Bindung chemischer Energie einhergehenden und der photokatalytischen Prozesse einteilen,²⁾ so muß es einstweilen als unbewiesen betrachtet werden, ob die Chlorophyllassimilation tatsächlich zur ersten dieser beiden Gruppen zu rechnen ist, als deren typischer Repräsentant sie angeführt zu werden pflegt, oder ob es sich nicht um einen endothermischen, auf Kosten der Wärme der Umgebung vor sich gehenden, aber auf photokatalytischem Wege beschleunigten Prozeß handelt. Es muß nämlich für möglich erachtet werden, daß zur Reduktion der Kohlensäure in den grünen Pflanzenteilen nicht die strahlende, sondern die Wärmenergie verbraucht wird. Der Gedanke, daß die Assimilation ein, durch die verschiedene Erwärmung der verschiedenen Teile der assimilierenden Zelle verursachter thermochemischer Prozeß sein könne, wurde übrigens schon von J. Fischer³⁾ aufgeworfen.

Andererseits ist es aber auch möglich, daß an die Kohlensäureassimilation, als einen endothermischen (Reduktions-) Prozeß irgend ein exothermischer (Oxydations-)Prozeß gekoppelt ist, d. h. daß vom Standpunkte der Energiebilanz aus

¹⁾ H. T. Brown und F. Escombe, Proc. Roy. Soc., Ser. B., Bd. 76, Nr. 507, S. 29 (1905).

²⁾ Eine derartige Einteilung läßt sich nach Ostwald (Grundriß d. allg. Chemie, IV. Aufl., Leipzig, Engelmann, 1909, S. 587) durchführen; s.: K. Körösy, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 137, S. 123 (1910).

³⁾ J. Fischer, Zeitschr. f. Elektrochemie, Bd. 12, S. 654 (1906); Die organ. Natur im Lichte d. Wärmelehre, Berlin, Friedländer, II. Aufl.; Die Lebensvorgänge in Pflanzen und Tieren, ebenda, 1908.

die chemische Energie der Assimilationsprodukte keinen reinen Gewinn bedeutet.

Auf Grund dieser Überlegungen erschien es nicht als aussichtslos, zu untersuchen: 1. Inwieweit die Assimilationsprodukte aus Stärke bzw. Zucker, oder eventuell aus Lipoidstoffen bestehen; 2. in welchem Verhältnisse der Gewinn an chemischer Energie (Verbrennungswärme) zum Gewinne an Trockensubstanz resp. Kohlenhydraten steht. In Verbindung mit der Untersuchung der Assimilation wurden übrigens bisher noch gar keine quantitativen Fettbestimmungen unternommen. Es war zu erwarten, daß diese Untersuchungen auch darüber Aufklärung bringen werden, ob an die Kohlensäureassimilation irgend ein Oxydationsprozeß gekoppelt ist. Auf das oben behandelte erste Problem, ob die Kohlensäurereduktion auf Kosten der strahlenden oder der Wärmeenergie geschieht, konnte aber selbstverständlich kaum eine Antwort erwartet werden. Einstweilen können wir uns auch gar keine Versuchsanordnung vorstellen, die hierzu geeignet wäre.

Die Versuche konnten nur an abgepflückten Blättern ausgeführt werden. Es wird allgemein behauptet,¹⁾ daß die Assimilation nur an, an Ort und Stelle gelassenen Blättern, durch Bestimmung der verbrauchten Kohlensäuremenge richtig untersucht werden kann. Diese letztere Methode gibt jedenfalls richtigere Resultate, insofern als die Stomata nach Brown und Escombe²⁾ am abgeschnittenen Blatte stärker geöffnet sind, als an dem am Stiele gelassenen, was die Assimilationsintensität wesentlich beeinflußt. Hingegen kann der Einwand, das abgepflückte Blatt könnte überhaupt nicht als normal betrachtet werden, weil es mit dem ganzen Organismus der Pflanze nicht im Zusammenhange steht, nicht für stichhaltig gelten, da dann ebenso gut gar kein physiologischer Prozeß an einem isolierten Organe analysierbar wäre. Die für einen Versuch am besten geeignete Methode hängt selbstverständlich von den Eigenheiten des Problemes ab; wenn wir die Menge der Assimilationspro-

¹⁾ z. B. Fr. Czapek, Biochemie der Pflanzen, Fischer, Jena, 1905, Bd. 1, S. 498.

²⁾ H. T. Brown und F. Escombe, l. c.

dukte bestimmen wollen, so müssen wir ihre Fortwanderung verhindern, können also nur mit abgepflückten Blättern arbeiten.

Ich mußte auch damit im vorhinein im klaren sein, daß das Vergleichen der Versuchssubstanz mit einer Kontrollsubstanz mit bedeutenden Fehlern behaftet ist, konnte aber dem Wesen des Problem es nach nicht mit einer und derselben Substanz arbeiten. Bei Benützung einer Differenzmethode kumuliert sich der gesamte Versuchsfehler auf die Differenz, deren verschiedene Eigenschaften wir eben untersuchen wollen. Ich mußte also im vorhinein erwarten, daß zwischen den Resultaten der einzelnen Versuchsreihen sich große Divergenzen zeigen werden, und konnte aus den Versuchsergebnissen Schlüsse nur dann ziehen, wenn die sich ergebenden Unterschiede sehr groß waren.

Ursprünglich versuchte ich mit den Blättern von *Helianthus annuus* L. zu arbeiten, aus denselben nach der Sachsschen¹⁾ Methode vor und nach der Assimilation mittels Blechformen gleich große symmetrisch gelegene Teile ausschneidend. Da ich aber die zu Anfang des Versuches abgeschnittenen stiellosen Blatthälften nicht ins Wasser stellen konnte, fand ich dann auf Grund einer Wahrscheinlichkeitsüberlegung folgende, übrigens auch leichter ausführbare Methode für praktischer.

Wenn man viele kleine, nach dem Augenmaß roh beurteilt, gleich große Blätter sammelt, eliminieren sich die Größenunterschiede der einzelnen Blätter und es kann erwartet werden, daß, wenn man genügend zahlreiche gleichzahlige Blätter gesammelt hat, die Trockengewichte dieser Blattmengen gleich sein werden. Bei zwei Gelegenheiten kopierte ich 24 bzw. 17 Akazienblättchen auf lichtempfindliches Papier. Ihre mittleren Oberflächen waren planimetrisch gemessen 9,6 bzw. 10,3 qcm. Die mittleren Abweichungen²⁾ der einzelnen Blattoberflächen vom Mittelwerte (nach oben und unten) waren das eine Mal 14,1, das andere Mal 17,2, also durchschnittlich 15,6%. Nehmen wir je 200 Blättchen, so wird der mittlere Fehler des Mittel-

¹⁾ J. Sachs, l. c.

²⁾ Fr. Kohlrausch, Lehrb. d. prakt. Physik, Bd. 11, Leipzig, Teubner, 1910, S. 2.

wertes 1,1% sein, was als genügende Genauigkeit gelten kann. So führte ich dann die Versuche mit je 200 Blättchen der *Robinia Pseudoacacia* L. *Umbraculifera* D. C. aus.¹⁾

Abgesehen hiervon, wollte ich mich auch experimentell davon überzeugen, ob das Trockengewicht von je 200 in der angeführten Weise gesammelten Blättchen das gleiche ist. Die Bestimmung des Trockengewichtes geschah in der später zu erwähnenden Weise, die gefundenen Unterschiede sind teilweise durch die zu erwähnende Ungenauigkeit der Trockengewichtsbestimmung verursacht. Die erste derartige Probe ergab eine bedeutende Abweichung, vielleicht infolge eines rohen Fehlers: das Trockengewicht der 200—200 Blättchen war 7,035 bzw. 6,367 g. Die Werte der zweiten, mit der II. Versuchsreihe gleichzeitig gesammelten Probe stimmten genügend überein: 7,395 bzw. 7,578 g. Die Brauchbarkeit der gewählten Methode zeigt sich des weiteren auch darin, daß in beiden Versuchsreihen die im geheizten dunkeln und ungeheizten dunkeln Zimmer gehaltenen 200—200 Blättchen ungefähr gleiche Trockengewichte hatten (7,607 bzw. 7,763 und 7,521 bzw. 7,734 g).

Die Versuche wurden im August des verhältnismäßig kühlen Sommers 1912 am Schwabenberge bei Budapest ausgeführt; die Blätter wurden gegen 9 Uhr morgens gesammelt. Die untersten Blättchen wurden abgepflückt, die Stiele in durchlöchernte Korkplatten gesteckt und die Korkplatten auf Leitungswasser, bzw. Sachs'sche²⁾ Nährsalzlösung gelegt.

¹⁾ Beim Sammeln der photographierten und planimetrierten Blätter wollte ich mich auch über den eventuellen Einfluß jenes psychologischen Momentes unterrichten, ob man, wenn gleich große Blättchen größerer Form zu suchen sind, gegen Ende des Sammelns, wenn nur mehr wenig Blätter vorhanden sind, nicht geneigt ist, kleinere Blättchen mit aufzunehmen. Zu diesem Ende ließ ich die Blättchen, als nicht mehr viel von ihnen vorhanden war, in 8—9er Gruppen mit dem Auftrage sammeln, daß die betreffende Person die Blättchen so lange sammeln soll, bis sie nur noch von der gewünschten Größe welche findet. Die durchschnittlichen Blattoberflächen waren das einermal der Reihe nach 9,5, 9,0, 10,4 qcm, das anderemal 10,7 und 9,9. Von einem wesentlichen Unterschied im erwähnten Sinne kann also keinesfalls die Rede sein.

²⁾ J. Sachs, s. Küster, *Anleit. z. Kultur d. Mikroorgan.*, Teubner, Leipzig 1907, S. 17.

30 Blätter kamen auf Wasser in die Sonne, ebenso viele daneben auf Nährsalzlösung («Sonne; Wasser» und «Sonne: Nährlösung»). Weitere 30—30 Blätter kamen in dunkle Zimmer, die einen in ein ungeheiztes, die anderen in ein geheiztes («dunkel: kalt» und «dunkel; warm»). Ich trachtete die Heizung so zu regulieren, daß die Temperatur des Zimmers die Außentemperatur übersteige. Die durchschnittlichen Temperaturen waren während der beiden Versuchsreihen: Sonne (unberußtes Thermometer) 26 bzw. 21, dunkles kaltes Zimmer 23 bzw. 18, dunkles warmes Zimmer 26 bzw. 31°. Beide Versuchsreihen dauerten von vorm. 10 Uhr 30 bis nachm. 6 Uhr 30. Sämtliche Blätter blieben vor Beginn des Versuches und nach Beendigung desselben, bis die Blättchen getrocknet wurden, nebeneinander in gleicher Belichtung stehen. Nach Beendigung des Versuches wurden von jeder der aus 30 Blättern bestehenden Gruppe 200 ungefähr gleich große Blättchen ausgewählt¹⁾ und dieselben nach 10—25 Minuten lang dauerndem Trocknen bei ca. 100° im Mörser gepulvert. Die Blattpulver blieben im Laboratorium unter einer etwas schief gestellten Glocke wochenlang unbedeckt stehen, damit sie lufttrocken werden.

Zuerst mußte bestimmt werden, wieviel Wasser noch in dieser lufttrockenen Substanz enthalten war. Die genaue Bestimmung des Trockenrückstandes war aber kaum ausführbar. Proben der Blattpulver wurden monatelang im 100°igen Luftbade gehalten, ohne Gewichtskonstanz erreichen zu können. Darum mußte ich mich entschließen, neue Proben 24 Stunden lang bei 100° zu trocknen, und betrachtete die so erhaltene Substanzmenge als Trockenrückstand, nachdem ich mich überzeugte, daß weiteres Trocknen während einer Stunde keinen weiteren Gewichtsverlust verursachte.

Ursprünglich wollte ich den Gehalt der Blätter an Stärke und Zuckerarten gesondert bestimmen. Zu diesem Ende bestimmte ich einige Male die Gesamtmenge der Zuckerarten

¹⁾ Nur von den in Nährlösung gehaltenen Blättern der zweiten Versuchsreihe pflückte ich 180 Blättchen; die Werte sind aber auch in diesem Falle nach Umrechnung auf 200 Blättchen angegeben.

nach Brown und Morris:¹⁾ das Blattpulver wurde erst mit Äther, dann mit Alkohol extrahiert, der alkoholische Extrakt mit 2%iger Salzsäure 1/2 Stunde lang hydrolysiert und der Zuckergehalt nach Bertrand²⁾ bestimmt. Die von Brown und Morris befolgte enzymatische Stärkebestimmung ist hauptsächlich dazu geeignet, die Stärke qualitativ von anderen ähnlichen Kohlenhydraten zu unterscheiden. Zur quantitativen Bestimmung sämtlicher stärkeartiger Produkte wollte ich nach Reinkes³⁾ Methode vorgehen; doch stellte es sich heraus, daß im Autoklaven durch die Milchsäurehydrolyse aus dem Rückstande des Alkoholextraktes umsomehr Zucker zu erhalten war, je länger die Hydrolyse dauerte. Unter diesen Bedingungen können auch aus reiner Zellulose erhebliche Zuckermengen erhalten werden. Nachdem es sich noch zeigte, daß auch aus dem Ätherextrakte durch Säurehydrolyse, obgleich sehr geringe Mengen einer reduzierenden Substanz zu erhalten sind, schien es richtiger, sämtliche Stärke- und Zuckerarten, d. h. die Gesamtmenge der nicht celluloseartigen Kohlenhydrate⁴⁾ in einem gemeinsamen Werte zu bestimmen, wie dies auch Sapožnikov⁵⁾ tat, der aber seine Methode nicht genug ausführlich beschreibt.

Mein Ziel war also, die Stärke, die dextrinartigen Körper und die Zuckerarten so in Lösung zu bringen, daß dadurch die Cellulose nicht angegriffen werde, und dann die in Lösung gebrachten Substanzen bis zu den einfachsten Zuckern zu spalten. Zu beiden Prozessen wählte ich das Kochen mit Salzsäure geeigneter Konzentration.

Es genügt bekanntlich das Kochen mit der verdünntesten Salzsäure, um die Stärke in wasserlösliche Form zu bringen; wichtig ist aber, daß die Salzsäure nicht so stark sei, um

¹⁾ H. T. Brown und G. H. Morris, l. c.

²⁾ G. Bertrand und P. Thomas, Guide p. l. manipul. de chim. biol., Paris, Dunod-Pinat, 1910, S. 67.

³⁾ J. König, Chem. d. menschl. Nahr.- u. Genußmittel, IV. Aufl., Bd. 3, 1. Teil, S. 439, Berlin, Springer, 1910.

⁴⁾ Unter Cellulose ist hier im allgemeinen die Gruppe der schwer hydrolysierbaren Kohlenhydrate zu verstehen.

⁵⁾ N. V. Sapožnikov, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. 9, S. 293 (1891); Faulenbachs Methode? s. ebenda, Bd. 8, S. 234 (1890).

auch die Cellulose zu hydrolysieren. Um die entsprechende Säurekonzentration zu finden, kochte ich je 1 g reiner Cellulose (schwedisches Filterpapier) 1 Stunde lang in 50 ccm verschieden konzentrierter Salzsäure am Rückflußkühler und bestimmte die erhaltene Zuckermenge als Glykose gerechnet nach Bertrand. Die Filtrate der beiden mittleren Versuche wurden vorher, um eventuell vorhandene Polysaccharide zu hydrolysieren, $\frac{1}{2}$ Stunde lang mit 2,5%iger HCl am Rückflußkühler gekocht. Das Ergebnis war wie folgt:

% HCl	0,3	0,6	1,25	2,5
Gebild. Zucker in % der Cellulose .	Spuren	0,4 ¹⁾	1,5	2,9

Um die Stärke in Lösung zu bringen, konnte ich also getrost mit 0,2% Salzsäure $\frac{1}{2}$ Stunde lang kochen.

Als ich den nach dieser Behandlung erhaltenen Rückstand von 0,6 g Blattpulver mit 50 ccm einer 2,5%igen Salzsäure auf dieselbe Weise kochte, erhielt ich 17,8 mg Zucker, d. h. 3,0%, also gerade ebensoviel, als aus der reinen Cellulose. Hiermit ist es also bewiesen, daß durch das zur Lösung der Stärke gewählte Verfahren alle stärkeartigen Substanzen extrahiert wurden, und daß die Kohlenhydrate des Rückstandes ruhig als Cellulose betrachtet werden konnten. Das befolgte Verfahren gab also eine scharfe Grenze zwischen Stärke und Cellulose: es störten keine Körper dazwischenliegenden Verhaltens.

Im zweiten Prozesse, bei der Hydrolyse der Stärke mußte nur darauf geachtet werden, daß die Salzsäure den Zucker nicht angreift. Eine besonders angestellte Versuchsreihe bewies, daß eine 0,33% Traubenzucker enthaltende Lösung mit verschieden konzentrierter Salzsäure 1 Stunde lang am Rückflußkühler gekocht, nur ganz kleine Zuckerverluste erlitt; so erhielt ich z. B.:

% HCl	0,7	1,4	2,7
Zurückerkhaltener Zucker in % . . .	97,8	98,1	97,6

Zur Hydrolyse der Stärke konnte also $2\frac{1}{2}$ Stunden lang mit Salzsäure gekocht werden.²⁾

Der ganze Gang der Bestimmung gestaltete sich dem-

¹⁾ Nach der Tabelle Bertrands extrapoliert.

²⁾ Siehe weiter: C. Sherman, Organic anal., New-York, Macmillan, 1912, II. Aufl., S. 61.

entsprechend folgendermaßen: 0,6 g Blattpulver wurden $1\frac{1}{2}$ Stunde lang in 50 ccm einer 0,2%igen Salzsäurelösung am Rückflußkühler gekocht, durch einen Gooch-Tiegel filtriert, das Filtrat am Wasserbade auf etwa 10 ccm eingeeengt, nach Zusatz einer 2,5%igen HCl entsprechenden Salzsäuremenge auf 50 ccm gebracht, $2\frac{1}{2}$ Stunden lang am Rückflußkühler gekocht, erst mit Natronlauge, dann mit Essigsäure neutralisiert, zur Klärung der Flüssigkeit 10 ccm dialysierter Eisenlösung¹⁾ zugesetzt, das ganze auf 200 ccm gebracht, filtriert und 180 ccm des Filtrates nach schwacher Ansäuerung mit Essigsäure am Wasserbade eingeeengt, bis damit die Zuckerbestimmung nach Bertrand ausgeführt werden konnte (als Glykose gerechnet). Die mitgeteilten Werte sind Mittelwerte zweier Parallelbestimmungen.

Die Verbrennungswärme der Blattpulver wurde an $1\frac{1}{2}$ g Substanz in einer, mit einem vergoldeten Einsatz versehenen Berthelotschen Bombe bestimmt. Die der Verbrennung des N-Gehaltes des verbrauchten Sauerstoffes zu Salpetersäure entsprechend anzubringende Korrektur wurde im Mittelwerte der bei den Wasserwertbestimmungen ermittelten Werte angebracht, da die bei Verbrennung des Blattpulvers erhaltenen höheren Werte durch die flüchtigen, sauren Verbrennungsprodukte der Blätter verursacht waren. Das Blattpulver erwies sich übrigens als eine ausgezeichnet zu Pastillen preßbare und vollständig verbrennbare Substanz.

Die Bestimmung des Fettgehaltes geschah durch 6stündiges Extrahieren im Soxhletschen Apparate. Im Verlaufe der erwähnten Zuckerbestimmungen nach Brown und Morris wurde einige Male auch das Gewicht des alkoholischen Extraktes ermittelt: es machte ungefähr 25% der Trockensubstanz aus.

Die in den beiden Versuchsreihen erhaltenen Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Die Tabelle zeigt in erster Reihe, daß zwischen den im dunkeln ungeheizten und den im dunkeln geheizten Zimmer gehaltenen Blättern, mit Rücksicht auf den bei der Trockengewichtsbestim-

¹⁾ Hoppe-Seyler-Thierfelder, Chem. Anal., VIII. Aufl., Berlin, Hirschwald, 1909, S. 656.

I. Versuchsreihe.

	Gesamtmenge der luft-trockenen Substanz g	Wassergehalt der luft-trockenen Substanz %	Gesamtmenge der Trocken-substanz g	Stärke- + Zuckergehalt der Trocken-substanz %	Gesamtmenge der Stärke + Zucker g	Fettgehalt der Trocken-substanz %	Gesamtmenge des Fettes g	Verbrennungswärme von 1 g Trocken-substanz Cal.	Verbrennungswärme der gesamten Trocken-substanz Cal.
«Dunkel; warm»	8,054	5,0	7,607	7,8	0,59	7,4	0,57	4,710	35,83
«Dunkel; kalt»	8,350	7,0	7,763	7,5	0,59	6,9	0,53	4,682	36,35
«Sonne; Wasser»	9,278	8,7	8,472	7,9	0,67	6,7	0,56	4,714	39,94
«Sonne; Nährlösung»	8,547	5,8	8,052	7,5	0,61	6,7	0,54	4,587	36,93

II. Versuchsreihe.

«Dunkel; warm»	8,066	6,8	7,521	9,1	0,69	6,8	0,51	4,847	36,46
«Dunkel; kalt»	8,349	7,4	7,734	9,6	0,74	5,6	0,43	4,739	36,65
«Sonne; Wasser»	9,626	7,0	8,952	9,7	0,87	6,2	0,56	{ 4,525 4,527	40,52
«Sonne; Nährlösung»	8,444	6,9	7,859	10,0	0,78	6,2	0,48	4,471	35,14

mung begangenen Fehler, kein in Betracht kommender Unterschied besteht. Die Verschiedenheit in der Atmungsintensität erwies sich also als so gering, daß sie innerhalb der bedeutenden Grenzen der Versuchsfehler bleibt.¹⁾ Hätte sich eine bedeutende Abweichung gezeigt, so hätte ich durch Interpolation den Grad der Atmungsintensität ermitteln können, welcher der Temperatur der in der Sonne gehaltenen Blätter entsprochen hätte.

Zur Grundlage der weiteren Vergleiche konnte getrost der Mittelwert, der im dunkeln geheizten und im dunkeln ungeheizten Zimmer erhaltenen Werte gewählt werden. Die in der Sonne und im dunkel gehaltenen Blätter haben im Verlaufe des Versuches durch die Atmung gleiche Substanzverluste erlitten, das sich in den Werten der ersteren gegenüber denen der letzteren zeigende Plus ergibt also das vollständige Ausmaß dessen, was die Blätter durch Assimilation gewonnen haben. Diese Vergleiche lassen sich aber selbstverständlich nicht auf Grund des perzentuellen Stärke- + Zuckergehaltes und der spezifischen Verbrennungswärme, sondern nur auf Grund der auf die gesamte Trockensubstanz berechneten Werte ausführen, da es sich ja eben um die Bestimmung dessen handelt, inwieweit der Trockensubstanzgewinn aus Stärke + Zucker besteht, und wie groß die durchschnittliche Verbrennungswärme dieses Trockensubstanzgewinnes ist. Der Übersichtlichkeit halber stelle ich die Ergebnisse des Vergleiches in folgender Tabelle zusammen

I. Versuchsreihe.

	Trocken- substanz g	Zucker + Stärke g	Ver- brennungs- wärme Cal.
Mittelwerte von «dunkel, kalt» und «dunkel, warm»	7,69	0,59	36,1
«Sonne, Wasser»	8,47	0,67	39,9
«Sonne, Nährlösung»	8,05	0,61	36,9
Überschuß bei «Sonne, Wasser» . . .	0,78	0,08	3,8
» » «Sonne, Nährlösung» . . .	0,36	0,02	0,8

¹⁾ Zum Vergleiche s. F. F. Blackmann und G. L. G. Matthaei, Proc. Roy. Soc., Ser. B., Bd. 76, Nr. 511, S. 402 (1905).

II. Versuchsreihe.

	Trocken- substanz g	Zucker + Stärke g	Ver- brennungs- wärme Cal.
Mittelwerte von «dunkel, kalt» und «dunkel, warm»	7,63	0,71	36,6
«Sonne, Wasser»	8,95	0,87	40,5
«Sonne, Nährlösung»	7,86	0,78	35,1
Überschuß bei «Sonne, Wasser» . . .	1,32	0,16	3,9
» » » «Sonne, Nährlösung» .	0,23	0,07	- 1,5

Die auf Wasser gesetzten assimilierenden Blätter betreffend fällt es in erster Reihe auf, daß die Zunahme an Stärke + Zucker nur ungefähr 11% (10 bzw. 12%) des Trockengewichtgewinnes ausmacht, was zu der allgemeinen Auffassung in direktem Widerspruche steht. Die Verbrennungswärme der gewonnenen Trockensubstanz beträgt auf 1 g berechnet bei der ersten Versuchsreihe 4,9, bei der zweiten 3,0, im Mittel 3,9 Cal., was also ungefähr der Verbrennungswärme der Kohlenhydrate entspricht. Die beobachtete Abweichung ist nicht überraschend, wenn wir bedenken, daß ganz kleine Abweichungen im absoluten Trockengewichte der Blattpulver in dem Werte der Verbrennungswärme des Trockensubstanzgewinnes sehr große Abweichungen zur Folge haben können; nun sind aber die absoluten Werte der Trockengewichte infolge des bei der Bestimmung des Wassergehaltes begangenen Fehlers recht unsicher. Wenn z. B. in der II. Versuchsreihe das mittlere Trockensubstanzgewicht der beiden Kontrollpulver nur um 2% seines Wertes kleiner, jenes der am Sonnenlichte im Wasser gehaltenen Blätter um ebensoviel größer wäre, so ergäbe sich die spezifische Verbrennungswärme der durch die Assimilation gewonnenen Substanz zu 3,4 Cal. anstatt 3,0, also um 13% größer. Derselbe Fehler hätte den Stärke- + Zuckergehalt des Trockensubstanzgewinnes von 12% nur auf 11% vermindert.

Laut den Ergebnissen der Haupttabelle hat der Fettgehalt der assimilierenden Blätter, ob in Wasser oder Salzlösung stehend, keine Zunahme erfahren.

Auf Grund der Werte der Verbrennungswärme können wir mit einem gewissen Grade von Wahrscheinlichkeit sagen, daß die während der Assimilation gewonnene Substanz ein Kohlenhydrat ist, und da es nur zum kleinsten Teile aus Stärke + Zucker besteht, müssen wir an eine celluloseartige Substanz denken, was mit den Erfahrungen von Menze¹⁾ und Sapožnikov²⁾ übereinstimmt. Es besäße ein großes Interesse zu erfahren, in welchen Teilen der Zelle diese Substanz zur Ablagerung gelangt.

Aus diesen, an abgepflückten Blättern ausgeführten Versuchen lassen sich, die bei normal verlaufender Assimilation sich bildenden Substanzen betreffend, keine sicheren Schlüsse ziehen, da ja ein großer Teil der gebildeten Substanzen aus den am Stiele sitzenden Blättern auswandert. Bekanntlich kann sich der Zucker in den assimilierenden Blättern nur bis zu einer gewissen Grenze anhäufen, über welche hinaus der Zucker sich dann in Stärke umwandelt. Für die Akazienblätter fand ich auf Grund der nach Brown und Morris ausgeführten Zuckerbestimmungen, daß der Zuckergehalt der Blätter, die ja, ob in Sonne oder nicht, schon vor Beginn des Versuches stark assimiliert hatten, ungefähr 3% der Trockensubstanz ausmacht. Es läßt sich denken, daß, so wie der Stärkegehalt eine gewisse Grenze überschreitet, die ersten Assimilationsprodukte sich in Cellulose umwandeln. Es ist jedenfalls eine sehr bedeutsame Tatsache, daß, so oft die Zunahme an Trockensubstanz und Stärke + Zucker gleichzeitig verfolgt wurde, die erstere Größe nie durch die letztere gedeckt war.

Das auffallendste Ergebnis im Verhalten der in Nährsalzlösung assimilierenden Blätter ist der viel geringere Trockensubstanzgewinn derselben.³⁾ Dieser besteht in ungefähr denselben Verhältnisse aus Stärke + Zucker (7 bzw. 30%), als bei

¹⁾ O. Menze, l. c., nach Beurteilung seiner Ergebnisse durch Sapožnikov, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. 8, S. 240 (1890).

²⁾ N. V. Sapožnikov, Bot. Centralbl., Bd. 63, S. 247; soweit aus dem mir zur Verfügung stehenden deutschen Auszuge des russischen Originalen ersichtlich.

³⁾ Dies scheint mit Sapožnikovs in der letzterwähnten Arbeit mitgeteilten Beobachtungen übereinzustimmen.

den in Wasser stehenden Blättern. Nachdem es sich hier um noch geringere Mengen handelt, können wir noch weniger weitere Schlüsse ziehen. Auffallend ist aber in beiden Versuchsreihen der geringe Wert der spezifischen Verbrennungswärme; dies verursachte in der zweiten Versuchsreihe, daß die gesamte Verbrennungswärme der in Nährsalzlösung gehaltenen Blätter kleiner wurde, als jene der Kontrollversuche. Die Assimilationsintensität der in Nährsalzlösung gehaltenen Blätter war vielleicht darum so gering, weil die Lösung keine äquilibrierte Salzlösung im Sinne Loeb's für die Blätter darstellte.

Für die Richtigkeit der Auffassung Sapožnikov's, daß das erste Produkt der Assimilation Eiweiß wäre, bieten meine Versuche gar keine Anhaltspunkte. Ich bestimmte auch den N-Gehalt der Blätter, und zwar nach Dumas, weil ich an eine Anwesenheit von Nitraten oder eventuell anderen Nitroverbindungen dachte. Der N-Gehalt der in der Nährsalzlösung gehaltenen Blättchen war nicht größer, als jener der übrigen. Ich prüfte auch auf Nitrate: 0,5 g Blattpulver wurden mit durch Essigsäure schwach angesäuertem Wasser gekocht, mit dialysierter Eisenlösung geklärt — ein Verfahren, dessen Richtigkeit durch besondere Kontrollversuche festgestellt wurde — und nach Busch's¹⁾ Methode mit Nitron geprüft. Weder in den in Wasser, noch in den in Nährsalzlösung gehaltenen Blättchen konnten auf diese Art wägbare Nitratmengen gefunden werden. Der Aschengehalt wurde nur annähernd durch Wägung des Rückstandes nach der kalorimetrischen Verbrennung bestimmt: er zeigte bei den in Nährsalzlösung gehaltenen Blättern sicher keine in Betracht kommende Zunahme.

Eingangs wurde des Problem's Erwähnung getan, ob an die Kohlensäureassimilation nicht irgend ein exothermischer Prozeß gekoppelt ist. Diese Frage ließe sich in zwei Fällen bejahend beantworten: 1. wenn der ganze Trockensubstanzgewinn aus Stärke + Zucker bestünde, der Gewinn an Verbrennungswärme aber bedeutend weniger wäre, als dem

¹⁾ M. Busch, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. 38, S. 863 (1905); Bd. 39, S. 1401 (1906).

Falle entspräche, wenn der gesamte Trockensubstanzgewinn als Kohlenhydrat in Rechnung gezogen wird; 2. wenn der Trockensubstanzgewinn, nur zum kleinen Teile durch Stärke + Zucker, zum größeren Teile aber durch das eine hohe spezifische Verbrennungswärme besitzende Fett gedeckt wäre, wobei der gleichzeitig verlaufende exothermische Prozeß die scheinbare Verbrennungswärme des Trockensubstanzgewinnes bis auf den Wert der Kohlenhydrate herabdrücken könnte. Da es sich aber herausstellte, daß nur ein kleiner Teil des Trockensubstanzgewinnes aus Stärke + Zucker besteht, und auch der Fettgehalt keine Zunahme erfuhr, die durchschnittliche Verbrennungswärme des Trockensubstanzgewinnes aber trotzdem jener der Kohlenhydrate entspricht, müssen wir es als wahrscheinlich annehmen, daß die durch Assimilation gewonnene Substanz größtenteils in die Gruppe der Cellulose gehört, und daß mit dem endothermischen Prozesse der Assimilation kein anderer exothermischer Prozeß verknüpft ist.

Schließlich läßt sich noch fragen, wie viel die pro Einheit der Blattoberfläche durch die Assimilation gewonnene Trockensubstanz, die seit Sachs im allgemeinen irrtümlich als Stärke betrachtet wird, ausmacht. Die durchschnittliche Blattoberfläche auf Grund der planimetrischen Bestimmungen zu 9,9 qcm genommen, häuften die Akazienblätter nach meinen Versuchen pro Stunde und Quadratmeter 0,50, bzw. 0,84 g Trockensubstanz an. Diese Werte bleiben beträchtlich hinter jenen von Sachs¹⁾ zurück, der für Helianthus- und Cucurbita-Blätter 1,5 bis 1,9 g bestimmte; meine Blätter hatten eben schon vor Beginn des Versuches stark assimiliert.

Das wesentliche Ergebnis dieser Untersuchungen ist also, daß die durch die Akazienblätter während der Assimilation gewonnene Substanz nur zu etwa 10% aus Stärke + Zucker besteht, auch der Fettgehalt der Blätter keine Zunahme erfährt, die Hauptmenge derselben aber auf Grund des durchschnittlichen Wertes der Verbrennungswärme wahrscheinlich als zur Cellulosegruppe gehörend zu betrachten ist.

¹⁾ a. a. O., S. 27.