Über die Assimilation der Kohlensäure.

Von

ARTHUR STOLL.

Vortrag über die Untersuchungen von R. Willstätter und A. Stoll, gehalten in der Sitzung der Zürcherischen Botanischen Gesellschaft, am 19. Februar 1918, zu der die Naturforschende Gesellschaft in Zürich eingeladen war.

Im Jahre 1913 waren die Untersuchungen über den Blattfarbstoff im Willstätterschen Laboratorium zu einem gewissen Abschluss gelangt. Das Chlorophyll war auf einfache Weise in reiner Form erhältlich und chemisch und physikalisch ausreichend gekennzeichnet, dass man an das Studium seiner wichtigen Funktion im lebenden Blatte herantreten konnte.

Es gehört zu den reizvollsten Aufgaben des Chemikers, sich mit der Untersuchung von Stoffen und Vorgängen der Natur zu beschäftigen, die mit dem Zelleben der Organismen in direktem Zusammenhang stehen. Es ist bekannt, welche Bedeutung unter den Lebensvorgängen nun gerade dem Assimilationsvorgang zukommt. Er vermittelt den Übergang von anorganischer zu organischer Materie in der Natur und er liefert den weitüberwiegenden Teil der chemischen Energie für die gesamte Lebewelt. So ist es heute bei den niedrigen, einzelligen grünen Gewächsen bis zu den höchst entwickelten Phanerogamen, und so war es schon in jenen frühen geologischen Epochen, als die in ihrer Gesamtheit noch weniger hoch entwickelten Pflanzen wuchsen, deren organische Reste uns in der fossilen Kohle als nützliche Energiequelle bis heute erhalten geblieben sind.

Bekanntlich vermag die grüne Pflanze im Lichte die in der Luft nur äusserst verdünnte anorganische Kohlenstoffverbindung, die Kohlensäure aufzunehmen und daraus unter Entbindung von Sauerstoff Kohlehydrat zu bilden, das der Pflanze als Zellbaustein und als Energiequelle zu weiteren chemischen Umsetzungen der Zelle dient. Die Gleichung

$$(H_2CO_3)_x \xrightarrow{+\text{ Licht}} (CH_2O)_x + (O_2)_x$$

representiert diese Stoff- und Energieversorgung des Assimilationsvorganges. Das Blattgrün fängt dank seiner grossen Lichtabsorp-

tionsfähigkeit in energiereichen Spektralbezirken des Himmelslichtes Lichtenergie auf und überträgt sie auf die Kohlensäure, die reduziert oder besser desoxydiert wird. In Form des primären Assimilationsproduktes wird die transformierte Lichtenergie als chemische Energie gebunden. Die chemischen Vorgänge der Zellen bedürfen einer weiteren äusseren Energiezufuhr nicht mehr. Schon die Kondensation z. B. des Formaldehyds zum Traubenzucker:

$$6\,CH_2O \longrightarrow C_6H_{12}O_6$$

verläuft unter Energieabgabe.

Allgemein bekannt ist vom Assimilationsprozess schon seit Ingenhouss' und Senebiers Arbeiten und den klassischen Untersuchungen von Th. de Saussure das Ausgangsmaterial, die Kohlensäure, die aus der Umgebung belichteter Blätter verschwindet, von diesen aufgenommen wird, ebensolang das Freiwerden von Sauerstoff aus belichteten Blättern und seit langer Zeit kennt man in den Chlorophyllkörnern gebildete Assimilationsprodukte wie Zucker und Stärke. Man wusste auch, dass Chlorophyll und als Energiequelle Licht zu dem Vorgang nötig sind. Doch blieb man bei der Erklärung des eigentlichen Assimilationsvorgangs, d. h. der lichtenergieverbrauchenden Desoxydation der Kohlensäure fast durchwegs bei blossen Vermutungen und Hypothesen ohne ausreichende experimentelle Grundlage stehen.

In welcher Weise gelangt die Kohlensäure im Blatt zu den Reduktionsorten? Wie tritt sie in Reaktion, damit die Lichtenergie auf sie übertragen werden kann, sodass der Sauerstoff aus seiner festhaftenden Bindung an Kohlenstoff abgespalten wird? Welches ist das primär aus der Reaktion hervorgehende Assimilationsprodukt? Nimmt das Chlorophyll an der Assimilationsreaktion nur physikalisch als Lichtsensibilisator oder aber auch chemisch aktiv teil? Vermag der Blattfarbstoff in der Zelle die Abspaltung des Sauerstoffs aus der Kohlensäure allein zu bewirken oder sind dabei andere, farblose Stoffe der Chloroplasten unentbehrlich? Solche Fragen sind hervorgetreten bei den Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure, die im Herbst 1913 im Kaiser Wilhelm-Institut für Chemie in Berlin-Dahlem mit ausgezeichneten Hilfsmitteln begonnen und vom Frühling 1916 bis Anfang 1917 im Chemischen Laboratorium der Kgl. Bayr. Akademie der Wissenschaften in München unter einfacheren Verhältnissen beendigt wurden.

Die Untersuchungsmethode im allgemeinen war die der Baeyerschen Schule. R. Willstätter hat diese Methode in seiner Antrittsrede in der Berliner Akademie der Wissenschaften am 1. Juli 1915

mit folgenden Worten gekennzeichnet: „Dem grossen Lehrer“ — nämlich Adolf von Baeyer — „verdanke ich Vertrauen auf das Experiment und Freiheit in der Anpassung der Hypothese an den Versuch, des Versuches an die Hypothese. Sein Beispiel lehrt, der Natur nicht zu kommandieren, sondern an ihr zu horchen.“

Das Endziel der Untersuchungen war, alle Komponenten des natürlichen Assimilationsapparates in ihren Funktionen kennen zu lernen, um dann mit dem künstlichen, dem natürlichen nachgebildeten System ausserhalb der lebenden Zelle die Desoxydation der Kohlensäure zu einem niedrigeren Oxydationsprodukt des Kohlenstoffs unter Mitwirkung von Chlorophyll durchzuführen. Dieses Ziel wurde weder von frühern Forschern noch von uns erreicht. Aber es ist gelungen, Stücke beizutragen zur Kenntnis des Systems, das im belichteten Chloroplasten die Kohlensäurereduktion besorgt und wesentliche Unterschiede aufzudecken, die das natürliche System vom künstlich reproduzierbaren noch trennen, um Richtlinien anzugeben, in denen zukünftige Forschung schreiten kann. Die Arbeit späterer Forscher wird die erkannten Unterschiede beseitigen und das künstliche dem natürlichen Assimilationssystem so ähnlich gestalten, dass die Kohlensäureassimilation ausserhalb der lebenden Zelle sich verwirklichen lässt.

Die Beiträge zur Kenntnis der chemischen Einrichtungen des natürlichen Assimilationsapparates, welche die neuen Untersuchungen zutage gefördert haben, bilden den Gegenstand des vorliegenden Referates, das sich auf die wichtigsten Ergebnisse beschränkt und besonders die experimentelle Seite der Arbeiten nur knapp berücksichtigen darf. Die sehr umfangreiche Literatur kann nur da Erwähnung finden, wo sie mit den eigenen Untersuchungen in engem Zusammenhang steht. Das vollständige Material der Arbeiten mit ausführlicheren Literaturangaben ist soeben in Buchform zusammengefasst, betitelt „Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure“, bei Julius Springer (Berlin 1918) erschienen. Vorläufige Mitteilungen finden sich in den Sitzungsberichten der Preussischen Akademie der Wissenschaften (1915) und in den Berichten der Deutschen Chemischen Gesellschaft (1915 u. 1917).

Die älteren Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure, die mit quantitativen Methoden ausgeführt wurden und mit denen wir die neuen, ausschliesslich mit exakten Messungen durchgeführten Untersuchungen direkt vergleichen können, stammen hauptsächlich von U. Kreusler, von H. T. Brown und F. Escombe, von F. F. Blackman mit G. L. C. Matthaei und anderen Mitarbeitern. Diese

Arbeiten behandeln überwiegend die Abhängigkeit des Assimilationsvorganges von äusseren Faktoren, von der Temperatur, von der Belichtung und vom Teildruck der Kohlensäure.

Während Kreuslers Messungen noch auf die Bestimmung der Optima einzelner Faktoren für jede Pflanze hinzielten, so hat Blackman in seiner verdienstvollen Abhandlung „Optima and Limiting Factors" für die Abhängigkeit der Assimilation von den äusseren Bedingungen eine tiefere und vollkommenere Erklärung gegeben. Es existieren innerhalb weiter Grenzen nicht Optima der verschiedenen Faktoren, sondern die Leistung der Blätter wird jeweils von dem im Minimum vorhandenen Faktor limitiert. Wenn beispielsweise die Belichtung schwach ist, während die übrigen Umstände günstig sind, so ist der Betrag der Photosynthese begrenzt durch das Licht; ähnlich limitierend wirken die Kohlensäure und die Temperatur, wenn sie gegenüber den anderen äusseren Faktoren im Minimum vorhanden sind.

Es wird von Blackman die Kohlensäureassimilation als das klarste Beispiel von Wechselwirkung der bedingenden Verhältnisse von dem Standpunkte aus beschrieben, dass es sich hier — anders als bei den Wachstumserscheinungen — in überwiegendem Masse um Abhängigkeiten von äusseren Faktoren handle. Eine Abhängigkeit der Assimilation von inneren Faktoren z. B. von dem Betrag an vorhandenem Chlorophyll wurde zwar von Blackman vermutet, doch ist davon weder in der erwähnten Abhandlung, noch in den späteren Arbeiten der Blackmanschen Reihe, noch in anderen eingehenden Untersuchungen weiter die Rede gewesen.

Damit war der Punkt bezeichnet, an dem die eigene Untersuchung einsetzen konnte, um sowohl den Einfluss der Chlorophyllmenge wie die Bedeutung eines mit dem Chlorophyll zusammenwirkenden zweiten inneren Faktors, eines farblosen, protoplasmatischen Bestandteils zu erfassen.

Vor der experimentellen Bearbeitung dieser Fragestellung war es nötig, mit quantitativen Methoden zu untersuchen, ob Menge und Zusammensetzung des Blattfarbstoffs während der Assimilation sich ändern oder ob eine allgemein beobachtete Konstanz die Ermittelung des Verhältnisses von Pigmentgehalt zu assimilatorischer Leistung der Blätter einfach gestalte.

Chlorophyll ist erst seit einigen Jahren als Substanz bekannt. Während es früher zweifelhaft war, ob es ein Chlorophyll gäbe oder mehrere ähnliche Pigmente oder eine grosse Anzahl von grünen Blattfarbstoffen, sind erst in letzter Zeit Methoden geschaffen worden, um

die Blattfarbstoffe beliebiger Herkunft vergleichend zu untersuchen. Der Vergleich hat sich auf mehr als zweihundert Pflanzen aus vielen Klassen der Kryptogamen und Phanerogamen erstreckt. Das Ergebnis war die Identität des Chlorophylls in allen untersuchten Pflanzen.

Das Chlorophyll ist hinsichtlich seiner Zusammensetzung, seiner chemischen Eigenschaften und der wesentlichen Züge seiner Struktur erforscht worden; es wurde in reinem Zustand zugänglich und man erkannte es als ein Gemisch zweier Farbstoffe, der Komponenten a und b, die sich trennen liessen. Das blaugrüne Chlorophyll a und das gelbgrüne Chlorophyll b sind komplexe Magnesiumverbindungen von ähnlicher Zusammensetzung:

Chlorophyll a $[Mg\,N_4\,C_{32}\,H_{30}\,O]\,CO_2 \cdot CH_3 \cdot CO_2\,C_{20}\,H_{39}$,
Chlorophyll b $[Mg\,N_4\,C_{32}\,H_{28}\,O_2]\,CO_2 \cdot CH_3 \cdot CO_2\,C_{20}\,H_{39}$.

In den Chloroplasten werden die Chlorophyllfarbstoffe stets von gelben Pigmenten begleitet, von dem Kohlenwasserstoff Carotin, dessen Zusammensetzung $C_{40}\,H_{56}$ ist und von der Sauerstoffverbindung Xanthophyll von der Zusammensetzung $C_{40}\,H_{56}\,O_2$.

Die Isolierung der einzelnen Blattfarbstoffe bot die Grundlage für die Methoden ihrer quantitativen Bestimmung und der Bestimmung ihres Verhältnisses untereinander.

Der Pigmentgehalt normalgrüner Blätter schwankt nur innerhalb ziemlich enger Grenzen:

100 g frische Blätter enthalten 0,15 bis 0,35 g Chlorophyll;

1 qm Blattfläche enthält 0,3 bis 0,7 g Chlorophyll und 0,03 bis 0,07 g gelbe Pigmente.

Das molekulare Verhältnis der beiden grünen und der beiden gelben Farbstoffe schwankt bei normal lebenden Blättern noch weniger, es beträgt für die Chlorophyllkomponenten $\frac{Q_a}{b}$ etwa 3 mit Schwankungen von $\pm$ 0,5 und für die Carotinoide $\frac{Q_c}{x}$ etwa 0,6, mit Abweichungen von $\pm$ 0,1.

Diese Konstanz der Verhältnisse und die nahe Verwandtschaft je zweier Komponenten, deren Zusammensetzung sich je um O_2 unterscheidet — Chlorophyll b enthält nur ein Atom Sauerstoff mehr aber zwei Atome Wasserstoff weniger als a, was O_2 gleichkommt — hatten früher zu der Hypothese[1]) Anlass gegeben, dass die Komponenten am Assimilationsstoffwechsel chemisch aktiv teilnehmen, indem sie durch Aufnahme von Sauerstoff aus der Kohlensäure und Wiederentbindung

[1]) R. Willstätter, „Über Chlorophyll", Vortrag, gehalten in der Hauptversammlung der Naturforschenden Gesellschaft Zürich am 3. Juni 1912, diese Vierteljahrsschrift Jahrgang 1912.

desselben unter der Lichtwirkung in einander übergehen. Eine regulierende Einrichtung sollte den Gleichgewichtszustand herstellen, der im normal lebenden Blatt zu der Konstanz der Komponentenverhältnisse führt. Die Untersuchung an einem umfangreichen Material hat aber ergeben, dass unter beliebigen in der Natur oder im Experiment gebotenen Bedingungen das Verhältnis der beiden Chlorophyllkomponenten nicht, das der Carotinoide nicht entschieden beeinflusst werden kann. Ob man die Komponentenverhältnisse des Blattfarbstoffs am frühen Morgen und am Abend nach der Assimilationszeit oder bei sommerlichen und herbstlich vergilbenden, also absterbenden Blättern oder vor und nach künstlich bis auf das zehnfache gesteigerter Assimilation oder nach der Einwirkung von narkotischen Mitteln oder von hoher Temperatur untersucht: die Komponentenverhältnisse lassen sich durch die Assimilationstätigkeit nicht wesentlich und keinesfalls eindeutig beeinflussen.

Das Verhältnis der beiden Chlorophyllkomponenten a : b betrug z. B. bei Blättern von Prunus Laurocerasus vor der Assimilation 3,3; nach 22-stündiger höchstgesteigerter Assimilationstätigkeit, die am Ende infolge Übermüdung der Chloroplasten auf $^1/_4$ des Anfangswertes herabsank, war das Verhältnis 3,1. Primelblätter zeigten frisch gesammelt $\frac{Q_a}{b} = 2{,}6$, nach starker Äthernarkose während der Assimilation 2,7.

Diese und andere ähnliche Versuche widerlegen aber auch die viel weiter gehende wichtige Anschauung anderer Forscher, dass im Assimilationsvorgang das Chlorophyll zerstört werde. G. G. Stokes hat in einer kurzen Erörterung über das herbstliche Vergilben der Blätter angenommen, das während des ganzen Lebens der Pflanze immerwährende Bildung und immerwährende Zersetzung des Blattfarbstoffs unter dem Einfluss des Lichts erfolge.

Auch W. Pfeffer hat in seiner „Pflanzenphysiologie" ausgesprochen: „Wie aber das Lebendige sich überhaupt nur im Wechsel erhält, so dürfte sich, besonders bei intensiverem Licht, Zerstörung und Neubildung des Chlorophylls dauernd abspielen, wofür in der Tat eine Reihe von Beobachtungen sprechen."

Ähnliche Annahmen machten noch in den letzten Jahren andere Forscher, z. B. F. Czapek und 1914 gründet H. Wager darauf sogar eine Assimilationshypothese, indem er annimmt, die Assimilate z. B. die Kohlehydrate seien nichts anderes als Zerfallprodukte des durch Photooxydation zerstörten Chlorophyllmoleküls. Die vom Blatt aufgenommene Kohlensäure soll dann zum Wiederaufbau von neuem

Chlorophyll dienen. Wenn die von Wager und anderen Forschern vertretene Annahme des Chlorophyllzerfalls in der Photosynthese berechtigt ist, so muss sich der Chlorophyllgehalt grüner Blätter unter Bedingungen, an die das Blatt nicht angepasst ist, z. B. bei höchstgesteigerter und langdauernder Assimilationstätigkeit messbar verändern. Dies wurde in einer Reihe von Versuchen geprüft bei Belichtung der Blätter von mehr als Sonnenstärke, Temperatur von 30 und 40°, Kohlensäure von hohem Teildruck, ununterbrochene Assimilationszeiten von 6 bis 22 Stunden. In der Tabelle 1 sind einige Versuchsresultate zusammengestellt. So enthielten z. B. 10 g Blätter von Prunus Laurocerasus 9,4 mg Chlorophyll, nach 22-stündiger Assimilation in 5 proz. Kohlendioxyd bei Belichtung von $1^1/_2$ facher Sonnenstärke bei 30° enthielten 10 g gleiche Blätter 9,5 mg Chlorophyll.

Tabelle 1.

Chlorophyll in 10 g Blättern vor und nach der Assimilation.
5 proz. CO_2, ungefähr 75000 Lux.

Pflanze	Temperatur und Assimilationszeit	Chlorophyll (mg) vor der Assimilation	Chlorophyll (mg) nach der Assimilation
Prunus Laurocerasus . .	30°, 6 Stunden	12,2	12,4
„ „	30°, 22 „	9,4	9,5
Hydrangea opulodes . .	30°, 6 „	9,2	9,1
Pelargonium zonale . .	40°, 6 „	12,5	12,8

Durch diese Versuche ist die Hypothese von der Zersetzung und Neubildung des Chlorophylls bei der Assimilation widerlegt. Chlorophyllmenge und -zusammensetzung bleiben während der Assimilation konstant.

In der Beständigkeit des Chlorophylls während der Assimilation und in der Konstanz des Verhältnisses der Chlorophyllkomponenten ist die Grundlage gefunden worden für die Arbeit, bei der die Beziehungen zwischen Chlorophyllgehalt der Blätter und ihrer assimilatorischen Leistungfähigkeit untersucht worden sind.

Die Versuchsbedingungen sind solche maximaler Assimilationsleistung für eine gewählte günstige Temperatur zumeist 25°. Den Blättern wird mit Hilfe von elektrischen Halbwattlampen von 2000 bis 4000 Kerzenstärken in 20 bis 25 cm Abstand starke künstliche Belichtung, die der Sonnenstärke ungefähr gleichkommt, und Kohlensäure von hohem Teildruck, nämlich ein genügend rascher Strom von 5-vol. proz. Kohlendioxyd, d. i. etwa das 200 fache des atmosphä-

rischen, bei konstanter Temperatur geboten. Dadurch ist erreicht, dass die äusseren Faktoren, deren Bedeutung aus den früheren Untersuchungen anderer Autoren hinreichend bekannt ist, den Vergleich der assimilatorischen Leistung nicht stören und es wird dadurch möglich, den Einflüssen der inneren Faktoren nachzugehen.

Die aufgestellten Bedingungen sind also derart, dass die Leistung des am besten assimilierenden Blattes weder durch Erhöhung der Kohlensäurekonzentration noch durch Vermehrung des Lichtes bei der gewählten Temperatur gesteigert werden könnte.

Bei geringerem Kohlendioxydgehalt könnte der Fall eintreten, dass besser oder schlechter assimilierende Blätter die gleiche assimilatorische Leistung zeigen, dadurch, dass es den ersteren an Kohlensäure fehlte. Auch die gewählte Belichtung hat in den meisten Fällen für die maximale Leistung hingereicht.

Nach dieser Festsetzung der Bedingungen war erst in zweiter Linie die Wahl der analytischen Methode von Wichtigkeit. Wir folgten im Prinzip der Arbeitsweise von Kreusler, die darin besteht, dass die Kohlensäure in einem zu den Blättern geleiteten und im abgeleiteten Gasstrom ermittelt wird. Wie Brown sowie Blackman und andere arbeiteten wir ausschliesslich mit von der Pflanze losgelösten Blättern, die unter besonderen Vorsichtsmassregeln und schonender gleichmässiger Behandlung gesammelt und zur Assimilation gebracht wurden. Vor jedem Assimilationsversuch liessen wir die Blätter im Dunkeln atmen. Die Atmungskohlensäure vermehrt den Kohlendioxydgehalt des angewandten Gasstroms um einen bestimmten kleinen Betrag. Da die Blätter natürlich auch im Lichte Kohlensäure bilden, die zwar sogleich wieder assimiliert wird, so ergibt sich der Betrag des im ganzen assimilierten Kohlendioxyds durch den Vergleich des Kohlensäuregehaltes von dem über die Blätter im Dunkeln und des über die Blätter im Lichte geleiteten Gasstroms ohne Einfluss der Atmung. Im einzelnen wurde die Kreuslersche Methode an unsere Versuchsbedingungen angepasst, sodass der Verlauf der Assimilation sich auch in sehr kleinen Zeitintervallen beobachten liess.

Bei fast jedem Assimilationsversuch wurde ausser dem Frischgewicht und dem Chlorophyllgehalt der Blätter noch ihre Fläche und ihr Trockengewicht bestimmt und die assimilatorische Leistung auf Frischgewicht, Trockengewicht und Fläche berechnet, damit die Ergebnisse auch in anderem Zusammenhang verwertet und mit den Angaben anderer Autoren verglichen werden können. Nur ein Bei-

spiel möge das zeigen: Es wurde bei der Sonnenblume bei 25° eine stündliche Assimilationsleistung von 8,0 g Kohlendioxyd, bei Kürbis von 6,3 g auf den Quadratmeter Blattfläche gefunden; das entspricht der Bildung von 5,4 g und 4,3 g Hexose in der Stunde. Der Zuwachs beträgt nach diesen Beobachtungen 9 und 11,2 g Hexose für 100 g angewandtes Trockengewicht der Blätter von Helianthus und Curcubita. In etwa zehn Stunden würde sich also bei diesen Blättern unter maximalen Versuchsbedingungen bei gleichbleibender Assimilationstüchtigkeit das Trockengewicht verdoppeln. Die Kohlehydratbildung, bezogen auf die Blattfläche, ist ungefähr das zehnfache der in atmosphärischer Luft von Brown und Escombe gemessenen, welche in einer Stunde bei 19° 0,55 g Kohlehydrat auf den Quadratmeter Blatt von Helianthus betrug.

Weitere Schlussfolgerungen aus den nebenbei gewonnenen Versuchsergebnissen müssen an dieser Stelle übergangen werden; wir kehren zurück zu der Untersuchung über das Verhältnis von Chlorophyllgehalt der Blätter zu ihrer assimilatorischen Leistung unter maximalen Bedingungen. Dieses Verhältnis wurde bezogen auf das in einer Stunde assimilierte Kohlendioxyd und „Assimilationszahl" genannt:

$$\text{Assimilationszahl} = \frac{\text{stündl. assimil. } CO_2 \text{ (g)}}{\text{Chlorophyll (g)}}.$$

Damit wird also die Menge von Kohlendioxyd ausgedrückt, die bei einer gewählten günstigen Temperatur unter den Bedingungen maximaler Leistung von der 1 g Chlorophyll enthaltenden Blattmenge assimiliert worden ist. Abgekürzt ausgedrückt hat die Assimilationszahl die Bedeutung: „Stündliche Leistung, bezogen auf 1 Gramm Chlorophyll".

Die Brauchbarkeit der Assimilationszahl für theoretische Folgerungen beruht darauf, dass die Leistung der Blätter für die gewählte Temperatur die grösstmögliche ist.

Wäre die Assimilationszahl konstant, d. h. entspräche gleichen Chlorophyllmengen verschiedener Blätter immer etwa die gleiche Menge assimilierter Kohlensäure, so dürfte angenommen werden, dass das Chlorophyll im Blatte die Kohlensäure ohne Mitwirkung anderer innerer Faktoren zu desoxydieren vermag. Die Disproportionalität von Leistung und Chlorophyllgehalt weist auf einen oder mehrere mit dem Chlorophyll zusammenwirkende innere Faktoren hin. Es wurden in den Versuchen einerseits Blätter mit sehr verschiedenem Chlorophyllgehalt miteinander verglichen, z. B. Blätter der Aurea-

varietäten mit solchen der grünen Stammformen, dann im Dunkeln gebildete, etiolierte Blätter mit am Licht gewachsenen, und andererseits Blätter mit etwa gleichbleibendem Chlorophyllgehalt in verschiedenen Lebensaltern auf ihre Assimilationstüchtigkeit geprüft. Aus dem umfangreichen Versuchsmaterial können an dieser Stelle nur die wichtigsten Gruppen zusammenfassend hervorgehoben werden.

Die Versuche mit normalgrünen Laubblättern haben ergeben, dass die stündlichen Leistungen, bezogen auf 1 g Chlorophyll, einander ähnlich sind; sie betragen 6 bis 9 g CO_2, die Assimilationszahlen schwanken also nur zwischen 6 und 9.

Über ähnlich gleichmässige Assimilationsleistungen hat vor Jahrzehnten G. Haberlandt, gestützt auf C. Webers Untersuchungen, berichtet. Haberlandt fand beim Vergleich der Chloroplastenzahl mit der Assimilationsenergie der Blätter, dass „bei ähnlich gebauten Laubblättern die spezifischen Assimilationsenergien annähernd proportional sind den Gesamtmengen der Chlorophyllkörner in den betreffenden Blattflächeneinheiten", sodass er weiter den Schluss ziehen durfte: „Die spezifischen Assimilationsenergien werden sich also höchst wahrscheinlich in allen Fällen aus der Grösse des Chlorophyllgehaltes und aus dem anatomischen Bau der Assimilationsorgane in genügender Weise erklären lassen." Haberlandts Ansicht war also damals, dass es zur Assimilation ausser Chlorophyll keines spezifischen zweiten inneren Faktors bedürfe.

Es wäre jedoch verfrüht, aus dem Verhalten der gleichartig gebauten, normal grünen Laubblätter auf eine einfache quantitative Beziehung zwischen Chlorophyllmenge und Assimilationsbetrag zu schliessen. Schon normal grüne Blätter von Pflanzen, die sich durch rasches Wachstum auszeichnen, wie Helianthus, Curcubita, Pelargonium und also für energische Assimilation organisiert sind, zeigen Assimilationszahlen bis zu 17.

Noch deutlicher spricht für die verschiedene Ausnützung des Chlorophylls im Blatte der Vergleich zwischen den jungen Blättern von der Spitze eines Zweiges und den alten ausgewachsenen. Wenn auch der absolute Betrag des assimilierten Kohlendioxyds bei jüngeren Blättern geringer ist, als bei den alten, so ist doch die stündliche Leistung der jüngeren Blätter bezogen auf ihren Chlorophyllgehalt, also die Assimilationszahl etwa doppelt so gross als bei den chlorophyllreichen alten.

Ein etwas anderes Verhalten zeigen die Blätter in der Frühjahrsentwicklung. Die eben erst aus den Knospen tretenden Blätter zeigen gegenüber ausgewachsenen sommerlichen eine nur mässig erhöhte

Assimilationszahl, die dann steigt, in etwa acht Tagen das Maximum erreicht, um schon drei Wochen später den Normalwert von 6 bis 9 zu erreichen und ihn bis zum Herbst zu behalten.

Ein viel mannigfaltigeres Bild geben die Blätter im Herbst. Es gibt Blätter, die im Herbste abfallen, während sie noch hohen Chlorophyllgehalt besitzen und nach tagelangem Liegen auf dem Erdboden noch grosse Assimilationsenergie zeigen.

Anders bei vergilbendem Laub; der Chlorophyllgehalt geht zurück, ähnlich die Assimilationstüchtigkeit, die Assimisationszahl ändert sich wenig. Es kommt auch vor, dass das Chlorophyll rascher abnimmt, die Assimilationsenergie langsamer. Die Assimilationszahl steigt, mitunter über die hohen Frühlingswerte hinaus.

Endlich gelangten Blätter zur Untersuchung mit nur wenig abnehmendem Chlorophyllgehalt und rasch sinkender Leistung. Hier fällt die Assimilationszahl zu ganz tiefen Werten. Werden solche Blätter in warmem, feuchtem Raume gehalten, so wird die Assimilation wieder belebt und steigt zu ansehnlichen Beträgen.

Überraschend ist das Verhalten der Blätter von Aureavarietäten, z. B. von Holunder, Ulme, Eiche, Ahorn. Trotz ihres geringen Chlorophyllgehaltes von nur $^1/_{10}$ oder gar $^1/_{30}$ von dem grüner Blätter stehen ihre absoluten Leistungen unter den Bedingungen maximaler Assimilation, bezogen auf Frischgewicht und Blattfläche, hinter denen von normal grünem Laube nicht oder nur wenig zurück. Die Assimilationszahlen sind daher ausserordentlich hoch, 10 bis 15 mal grösser als bei chlorophyllreichen Blättern.

Ähnlich verhalten sich etiolierte Blätter, sie zeigen relativ sehr grosse Assimilationsfähigkeit. Mit der raschen Chlorophyllbildung von ans Licht gebrachten etiolierten Blättern sinkt die Assimilationszahl von über 130 auf beinahe 10.

Von den untersuchten Beispielen sind einige in der Tabelle 2 zusammengestellt.

Trotz des grossen Unterschiedes im Chlorophyllgehalt zwischen normal grünen und gelben Blättern sind die Mengen assimilierten Kohlendioxyds nur wenig verschieden; das hat die grossen Unterschiede in den Assimilationszahlen zur Folge.

Besonders interessant ist der Vergleich von zu gleicher Zeit im Herbst gesammelten jungen und alten Blättern des wilden Weins: Gleiche Chlorophyllgehalte, stark verschiedene assimilatorische Leistungen und Assimilationszahlen.

Die Schlussfolgerungen, die aus der Variabilität der Assimilationszahlen gezogen werden sollen, finden sich an verschiedenen Stellen

Tabelle 2.

Assimilation

in 5 proz. CO_2, bei 25° und Licht von Sonnenstärke.

Pflanzenart	Beschreibung	Chlorophyllgehalt von 10 g frischem Blatt (mg)	Stündlich assimiliertes CO_2 (g)		Assimilationszahl (stündl. Assimilation [g] von 1 g Chlorophyll
			von 10 g Blatt	von 1 qdm Blatt	
Ulmus	normal grün	16,2	0,111	0,021	**6,9**
Sambucus nigra	„ „	22,2	0,146	0,034	**6,6**
Sambucus nigra	gelbblätterig	0,81	0,097	0,021	**120**
Ulmus	„	1,2	0,098	0,024	**82**
Phaseolus vulgaris	etioliert	0,7	0,091	—	**133**
Tilia cordata	im Frühjahr	11,5	0,183	0,024	**16,0**
„ „	junge Blätter	6,5	0,092	0,018	**14,2**
Ampelopsis quinquefolia . . .	Herbst, jüngere Blätter	12,7	0,100	0,015	**7,9**
Ampelopsis quinquefolia . . .	Herbst, ältere Blätter	12,9	0,012	0,0024	**0,9**

von älteren mit anderen Methoden ausgeführten Untersuchungen bereits angedeutet. So haben W. Pfeffer, gestützt auf A. J. Ewarts Untersuchungen, ferner E. Pantanelli und wiederum in Pfeffers Institut O. Treboux, dann Fräulein A. A. Irving im Blackmanschen Laboratorium die Teilnahme farbloser Protoplasmabestandteile am Assimilationsvorgang als wesentlich erachtet, wenn auch die experimentellen Grundlagen nicht immer einwandfrei waren. Der experimentelle Befund von Irving an etiolierten Gewächsen z. B. wurde durch Kontrollversuche widerlegt.

Die Erklärung für die beobachteten Differenzen in den Assimilationszahlen beantwortet die eingangs gestellte Frage, ob das Chlorophyll den einzigen inneren Faktor der Assimilation darstelle. Diese Möglichkeit wird durch die Disproportionalität zwischen Chlorophyll und Leistung ausgeschlossen. Daraus folgt, dass ausser dem Chlorophyll und mit demselben ein zweites chemisches Agens der Chloroplasten für die Kohlensäureassimilation notwendig ist. Seine Funktion kann entweder mit oberflächlicher Betrachtung dem gesamten Protoplasma zugeschrieben werden oder, indem man näher auf die gegebene chemische Aufgabe und auf die Leistung derselben eingeht, einem spezifischen Bestandteil des Protoplasmas. Sehr wahrscheinlich handelt es sich um ein im Stroma enthaltenes bestimmtes Agens von enzymatischer Natur. Die Beobachtungen lassen sich mit dieser Annahme sämtlich gut erklären. So lässt sich z. B. die hohe Ausnützung des Chlorophylls in den Frühlingsblättern und besonders bei etiolierten Blättern verstehen, wenn man annimmt, dass im Dunkeln die Bildung des Enzyms der Bildung des Chlorophylls, zu der bekanntlich Licht nötig ist, voraneilt. Das nach kurzer Belichtung erst in geringer Menge gebildete Chlorophyll wird durch das schon im Dunkeln reichlich vorgebildete Enzym voll ausgenützt, wie es die hohe Assimilationszahl (133) zeigt.

Die auffälligen Erscheinungen bei den herbstlichen Veränderungen des Laubes werden darauf zurückgeführt, dass entweder mehr das Chlorophyll leidet als das Enzym, es erfolgt Steigerung der Assimilationszahlen, oder dass umgekehrt die enzymatische Komponente in höherem Masse geschädigt wird als das Chlorophyll, was sinkende Assimilationszahlen zur Folge hat. Die Wiederbelebung der zur Assimilation annähernd unfähig gewordenen Blätter beim Verweilen in warmem feuchtem Raume zeigt die Neubildung des Enzyms oder die Beseitigung von Hemmungen des enzymatischen Vorganges an.

Sehr wahrscheinlich gemacht wurde die Annahme eines spezifischen assimilatorischen Enzyms auch durch besondere vergleichende

Messungen der Assimilation von gelben und grünen Blättern derselben Art bei verschiedenen Temperaturen und Belichtungen, deren Ergebnis hier nur kurz erwähnt werden kann. Die gelben Blätter ergeben bei Temperaturerhöhung z. B. von 20 auf 30° nur eine sehr geringe Erhöhung der assimilatorischen Leistung. Die von der Temperatur abhängige Funktionstüchtigkeit des Enzyms reicht bei 20° bereits aus, um die von dem spärlich vorhandenen Chlorophyll absorbierte Lichtenergie voll auszunützen, das Chlorophyll wirkt limitierend. Erst Steigerung der Lichtzufuhr über die Sonnenstärke hinaus erhöht die Leistungsfähigkeit. Bei grünen Blättern dagegen reicht $^1/_4$ Sonnenstärke aus, um das vorhandene Enzym ganz auszunützen, dessen Leistungsfähigkeit erst bei Erhöhung der Temperatur eine Steigerung der Assimilationsleistung gestattet.

Die Annahme eines spezifischen assimilatorischen Enzyms wurde weiterhin gestützt durch eine besondere Untersuchung über die Assimilation grüner Blätter in sauerstoffarmer und sauerstofffreier Atmosphäre. Es zeigte sich dabei, dass selbst empfindliche Blätter unter den maximalen Assimilationsbedingungen noch ungeschwächt Kohlendioxyd verarbeiten, nachdem man sie im Dunkeln stundenlang in einer Atmosphäre leben liess, die nur $^1/_{100}$ des Gehaltes an Sauerstoff von atmosphärischer Luft, also etwa 0,2 Vol. Proz. enthielt. Wurde der Sauerstoff ganz entfernt, so waren z. B. Blätter von Pelargonienarten nicht mehr imstande zu assimilieren, sie gingen rasch zugrunde. Blätter widerstandsfähigerer Pflanzen, z. B. von Cyclamen europaeum und von einem Laubmoose (Polytrichum juniperinum) vermochten die gänzliche Abwesenheit freien Sauerstoffs im Dunkeln während einiger Stunden zu ertragen und beim Belichten sofort kräftig zu assimilieren. Entzog man ihnen die letzten Spuren von Sauerstoff während 12 und mehr Stunden, so trat die Assimilation beim Belichten in den ersten Minuten nicht in messbarem Betrage ein, um dann schwach einzusetzen und schon in $^1/_2$ Stunde einen beträchtlichen Wert zu erreichen.

Diese Beobachtung führte zu der Annahme, dass unter den gewöhnlichen Verhältnissen ein beim Assimilationsvorgang direkt beteiligtes Agens, wahrscheinlich das assimilatorische Enzym mit chemisch locker gebundenem Sauerstoff beladen sei. Bei langem Aufenthalt in sauerstofffreiem Medium wurde ihm dieser Sauerstoff nach und nach, schliesslich vollständig entzogen und es verlor seine Aktivität. Die bei dem winzig kleinen Rest von Assimilationsfähigkeit auftretende erste Spur freiwerdenden Sauerstoffs genügt dann, um das assimilatorische Enzym wieder zu beleben und zu reaktivieren.

Eine allgemeine Lähmung und Wiederbelebung des Gesamtplasmas ist unwahrscheinlich, da beim Assimilationsbeginn viel zu wenig Sauerstoff für die Gesamtatmung frei wird. Die Protoplasmaatmung braucht auch einen viel höheren Sauerstoffpartialdruck. Man kann nämlich die nach dem Assimilationsbeginn aus der Kohlensäure abgespaltene geringe Menge Sauerstoff bis auf einen nur sehr kleinen Fehlbetrag im abziehenden Gasstrom quantitativ nachweisen. Ein durch Sauerstoffmangel gelähmtes Protoplasma braucht übrigens nach Untersuchungen von A. J. Ewart und andern tagelange Erholungszeit.

Aus dem Gesamtbilde vom Zusammenwirken der inneren Faktoren wird also gefolgert, dass eine Teilreaktion der Kohlensäureassimilation ein enzymatischer Prozess ist. Auf die bestimmte Aufgabe des Enzyms wird weiter unten eingegangen.

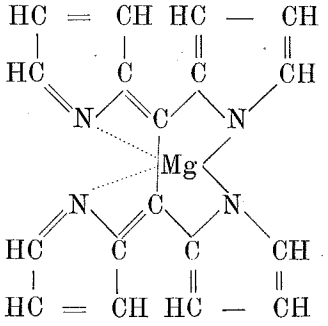
Der andere, bekannte innere Faktor, das Chlorophyll, ist freilich ebenso unentbehrlich und unersetzlich wie der farblose, enzymatische.

Wählt man unter den Aureablättern solche mit nur noch verschwindend kleinem, kaum nachweisbarem Chlorophyllgehalt aus, so sinkt die Assimilationsfähigkeit auf beinahe Null herab.

8 g hellgelbe Blätter der Aureavarietät von Sambucus nigra mit weniger als $^1/_{10}$ mg Chlorophyll assimilierten unter maximalen Bedingungen bei 25° in der Stunde nur noch 9 mg Kohlendioxyd, d. i. etwa $^1/_{10}$ der Menge, welche die gewöhnlichen Aureablätter verarbeiteten. Mit den letzten Spuren des Chlorophylls verschwindet also das Assimilationsvermögen. Die gelben Pigmente, weder die wasserlöslichen noch unbekannten, noch die steten Begleiter des Chlorophylls im Chloroplasten, die Carotinoide vermögen in den anatomisch normal ausgebildeten Blättern die Rolle des Chlorophylls zu übernehmen.

Die Notwendigkeit von Chlorophyll zur Assimilation ist übrigens von jeher angenommen, sie ist durch unsere Versuche mit den Grenzwerten von Chlorophyllgehalt und Leistung der Blätter nur neu bestätigt worden. Aus der Unersetzlichkeit des Chlorophylls durch andere Blattfarbstoffe, die doch auch Lichtenergie absorbieren und mit dem grünen Pigment übereinstimmen in der klar zutage tretenden Eigenschaft des Chlorophylls, bei der Assimilation physikalisch, nämlich als Lichtabsorbens, zu wirken, ergibt sich die Frage, ob dem Chlorophyll noch eine zweite, spezifische Aufgabe zukomme, vielleicht eine chemische, die durch den Aufbau seines Moleküls bedingt ist.

Chlorophyll beliebiger Herkunft enthält als wesentlichen Bestandteil seines Moleküls Magnesium in komplexer Bindung. Die Haupteigenschaft der magnesiumhaltigen Gruppe ist ihre grosse Empfindlichkeit gegenüber Säure und ihre Beständigkeit gegen Alkalien. Schon sehr schwache Säuren spalten das Metall aus dem Chlorophyll ab, seine schön grüne Farbe geht dabei über in Olivbraun, Alkalien hingegen lassen den Magnesiumkomplex unversehrt, selbst wenn sie bei tiefgreifender Zersetzung die Estergruppen verseifen und eine Carboxylgruppe nach der andern abspalten, sodass die Stammsubstanz des Chlorophylls das Ätiophyllin entsteht. Es hat die Zusammensetzung $C_{31}H_{34}N_4Mg$, besitzt also 24 Kohlenstoffatome weniger als Chlorophyll, ist diesem aber noch in vielen chemischen und physikalischen Eigenschaften ähnlich. Die Isolierung des Ätiophyllins durch R. Willstätter und M. Fischer, das keinen Sauerstoff mehr enthält, bestätigte die schon viel früher gemachte Annahme Willstätters, dass das Magnesium an Stickstoff gebunden sei. Die Untersuchungen über die Oxydation und die Reduktion der Chlorophyllderivate, die zu farblosen, niedrig molekularen Substanzen führten, nötigen zu der Vorstellung von zwei Pyrrolkernen und zwei pyrrolartigen Ringen als Hauptbausteinen des Chlorophyllmoleküls. Lässt man aus der Ätiophyllinformel noch 13 Kohlenstoffatome, die in substituierenden Seitenketten stehen, weg, so kommt man etwa zu der folgenden Atomgruppierung:



Das Magnesium substituiert den Wasserstoff der Iminogruppen zweier Pyrrolkerne und es steht wahrscheinlich zugleich durch Partialaffinitäten in Verbindung mit den Stickstoffatomen der pyrrolartigen Kerne.

Der Anteil, welchen das Magnesium an dem Bau des Chlorophyllmoleküls hat und die Eigenart, welche die komplexe Magnesiumgruppe dem Chlorophyll in seinem physikalischen und chemischen Verhalten gibt, präzisieren die oben gestellte Frage über die

chemische Mitwirkung des Chlorophylls bei der Assimilation zu der Frage, ob eine chemische Funktion auf den Magnesiumgehalt zurückzuführen ist.

Die erkannte grosse Empfindlichkeit des Magnesiumkomplexes gegen Säure führte dazu, zu untersuchen, ob Chlorophyll mit der sehr schwachen Säure Kohlensäure zu reagieren imstande sei und ob es dazu unter den besondern Bedingungen, welche für den Assimilationsvorgang gegeben sind, befähigt ist.

An den Lösungen des Chlorophylls in organischen Solventien wie Aether und Alkohol, beobachtet man bei tagelanger Einwirkung von Kohlendioxyd keine Reaktion. In den indifferenten Lösungen ist das Kohlensäureanhydrid ohne Wirkung.

In überraschender Weise unterscheidet sich das Verhalten der kolloiden Lösung des Chlorophylls in Wasser von jenem molekularer Lösungen. Beim Einleiten von Kohlendioxyd in Wasser bildet sich Kohlensäure und diese vermag selbst in der Verdünnung, wie sie in der Luft vorkommt mit dem in Wasser kolloid gelösten Chlorophyll zu reagieren. Diese Beobachtung ist umso wichtiger, da der Nachweis erbracht worden ist, dass das Chlorophyll im Chloroplasten ebenfalls in kolloider Verteilung vorhanden ist.

Die Absorptionsspektren von Chlorophyll in molekularer und in kolloider Lösung weichen in der Lage und Intensität der Absorptionsbänder charakteristisch von einander ab. D. Iwanowski sowie A. Herlitzka und andere haben die Absorptionsspektren von Blättern und von kolloiden Chlorophyllösungen vergleichen und sie wenig verschieden gefunden. Sie haben daraus, wenn auch nicht auf die Identität, so doch auf die Ähnlichkeit des Zustandes von Chlorophyll im Blattgewebe und in der kolloiden Lösung geschlossen. Die noch bestehenden Unterschiede verschwinden beinahe ganz, wenn man das Spektrum des unversehrten reinen Chlorophylls in kolloider, rein wässeriger Lösung mit dem Blattspektrum vergleicht. Nur ist die Lichtabsorption der Blätter grösser, z. B. doppelt und vierfach im Vergleich zum Hydrosol von der nämlichen Flächenkonzentration, weil die Lichtstrahlen das aus optisch verschiedenen Medien zusammengesetzte Blattgewebe vielfach gebrochen und reflektiert durchlaufen. Aus dem Vergleich, der zwischen der künstlich bereiteten reinen kolloiden Chlorophyllösung und dem Chlorophyll im Chloroplasten angestellt wurde, sei an dieser Stelle nur noch angeführt, dass auch in dem charakteristischen Verhalten der Pigmente gegenüber Lösungsmitteln weitgehende Übereinstimmung herrscht. Man ist daher berechtigt, aus dem Verhalten der kolloiden Lösung

des reinen Chlorophylls gegen Kohlensäure Schlussfolgerungen auf das Verhalten des Chlorophylls im lebenden Blatte zu ziehen.

Eine kolloide Chlorophyllösung wird bereitet, indem man die molekulare Lösung des Farbstoffs in Alkohol oder Aceton sehr rasch mit viel Wasser verdünnt und das organische Solvens im Vakuum bei gewöhnlicher Temperatur verjagt. Die grüne Farbe bleibt, sie wird nur etwas gelblicher, aber die prachtvolle rote Fluoreszenz der molekularen Lösung weicht der graugrünen Opaleszenz des Hydrosols.

Leitet man in eine kolloide Chlorophyllösung Kohlendioxyd ein, so wird wie bei der Einwirkung irgend einer Säure durch die Kohlensäure das Magnesium abgespalten und durch Wasserstoff ersetzt. Es entsteht das olivbraune Phaeophytin, für die Komponente a nach der Gleichung:

$$C_{55}H_{72}O_5N_4Mg + H_2CO_3 = C_{55}H_{74}O_5N_4 + MgCO_3.$$

Es hat sich aber gezeigt, dass diese Zersetzung des Chlorophylls keine einfache Reaktion ist. Um sie genauer kennen zu lernen, war es nötig, die Aufnahme von Kohlensäure durch das kolloide Chlorophyll mit quantitativen Methoden zu verfolgen. Mit besonders ausgearbeiteten Methoden, die an dieser Stelle nicht beschrieben werden können, wurde die Löslichkeit von Kohlendioxyd in reinem Wasser für eine bestimmte Temperatur festgestellt und diese verglichen mit der Löslichkeit von Kohlendioxyd in einer gleichen Menge von kolloider Chlorophyllösung. Der bedeutende und mit der Zeit zunehmende Löslichkeitsunterschied zwischen Kohlendioxyd in Wasser und in Chlorophyllösung ist auf das Chlorophyll zurückzuführen. Arbeitet man bei 15° und verwendet man die gegen Säure empfindsichere Chlorophyllkomponente a, so kommt die Aufnahme von Kohlendioxyd erst zum Stillstand, wenn die ganze Menge des Magnesiums aus dem Chlorophyll abgespalten ist. Das Magnesium ist dann natürlich als Magnesiumbicarbonat vorhanden und die Kohlensäureaufnahme gegenüber reinem Wasser entspricht zwei Molekülen CO_2, bezogen auf das angewandte Chlorophyll, das nun vollständig entmagnesiert und olivbraun geworden ist.

Von grösserem physiologischen Interesse ist jedoch das Ergebnis unter Versuchsbedingungen, bei denen das Chlorophyll wie im natürlichen Assimilationsvorgang unversehrt bleibt.

Verwendet man nämlich zu den Versuchen die säurebeständigere Chlorophyllkomponente b oder Gemische von a und b im natürlichen

Verhältnis 3:1 und arbeitet man bei 0°, so ist die Löslichkeitserhöhung des Kohlendioxyds durch das Chlorophyll anfangs weniger gross, sie erreicht aber bald einen erheblichen Bruchteil eines Moleküls und zwar ohne dass Magnesium aus dem Chlorophyll abgespalten wird; dieses hat seine grüne Farbe behalten. Durch Einfliessenlassen der mit Kohlendioxyd gesättigten Chlorophyllösung in Alkohol und durch Erniedrigung des Partialdruckes des Kohlendioxyds gelingt es schliesslich, das Kohlendioxyd in seiner ganzen Menge wieder zu gewinnen und das Chlorophyll unversehrt zu behalten. Das Chlorophyll hatte also mit Kohlensäure eine dissoziable Verbindung eingegangen.

Wird die Chlorophyll-Kohlensäureverbindung einer langsamen Zersetzung in wässeriger Lösung überlassen, so zerfällt sie grösstenteils namentlich bei höherer Temperatur in anderm Sinne, nämlich unter Abspaltung des Magnesiums also unter Zerstörung des Chlorophylls. Die Kohlensäureverbindung des säurebeständigeren Chlorophylls b zeigt immer eine gemischte Spaltung, teilweise Regenerierung des Chlorophylls, teilweise Zersetzung. Nur unter den besonderen Bedingungen der Dissoziation in Alkohol bei niedriger Temperatur gelingt auch bei der Komponente a nach kurzer Kohlensäureeinwirkung die Rückbildung des gesamten Chlorophylls.

Von den Versuchen sind in der Tabelle 3 nur 4 Beispiele mit reinen Chlorophyllkomponenten zusammengestellt.

Tabelle 3.

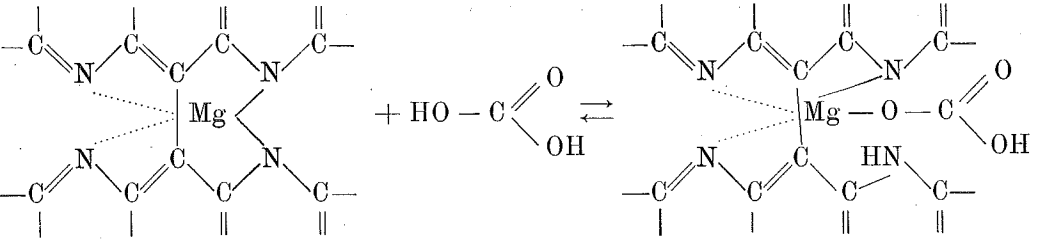
Aufnahme und Wiederabgabe von Kohlendioxyd durch kolloides Chlorophyll bei 0°.

Versuchsdauer	Präparat	Prozente eines Moleküls:	
		Absorbiertes CO_2	Freiwillig entbund. CO_2
50 Min.	Chlorophyll a	23	23
5 Std.	Chlorophyll a	46	12
18 Std.	Chlorophyll b	25	23
71 Std.	Chlorophyll b	40	38

Auch das sehr empfindliche Chlorophyll a bleibt bei einer Kohlensäureabsorption von 23 % eines Moleküls in 50 Minuten noch intakt, denn ebensoviel Kohlendioxyd kann wieder entbunden werden. Sein Magnesiumgehalt erwies sich übrigens bei der Aschebestimmung mit 2,6 % als unverändert. Die fünfstündige Kohlensäureeinwirkung vermochte dagegen schon stark zersetzend zu wirken. 34 % eines Moleküls von aufgenommenem Kohlendioxyd blieben als Magnesiumcarbonat gebunden. Chlorophyll b dagegen gibt sogar nach drei Tage langer

Einwirkung von Kohlensäure bei 0° beinahe das gesamte aufgenommene Kohlendioxyd wieder ab und bleibt intakt.

Chlorophyll ist die sekundäre Magnesiumverbindung des Phaeophytins. Bei der Abspaltung des Metalls durch Kohlensäure oder andere Säuren werden beide Valenzen gelöst, mit welchen das Magnesium an Stickstoffatome gebunden ist. Das Zwischenprodukt der Einwirkung ist daher entsprechend der abgekürzten Gleichung



Chlorophyll Kohlensäureverbindung des Chlorophylls

als primäre Magnesiumverbindung des Phaeophytins zu betrachten, in welcher eine Valenz des Magnesiums an Stickstoff gebunden, die zweite mit Kohlensäure abgesättigt ist. Aus der unversehrten Farbe der Kohlensäureverbindung ist zu schliessen, dass in dem durch Partialvalenzen gebildeten chromophoren Komplex keine Veränderung durch die Kohlensäure erfolgt ist.

Aus dem Ergebnis, dass das Chlorophyll in kolloidem Zustand also in ähnlicher Dispersität wie in den Chloroplasten, befähigt ist, mit der Kohlensäure eine leicht dissoziierbare Verbindung von der Art der Bicarbonate zu bilden, ist zu folgern, dass das Chlorophyll auch im Assimilationsvorgang eine chemische Funktion ausübt, indem es mit der Kohlensäure chemisch reagiert. Aber die Form, in welcher die Kohlensäure mit dem Chlorophyll in Reaktion tritt, ist damit noch nicht bestimmt. Es wurden nämlich Unterschiede zwischen der Reaktion der Kohlensäure mit dem Chlorophyll des Blattes und mit dem reinen Chlorophyll bemerkt. Im Blatt wird das Chlorophyll durch die Kohlensäure viel schwieriger zersetzt als in der reinen kolloiden Lösung. Die Blätter vertragen noch Kohlendioxyd bis zu etwa 20 bis 25 Vol. Prozent und assimilieren in solcher Atmosphäre ausgezeichnet, während die Spaltung des reinen Hydrosols von Chlorophyll in diesem Medium schon mit grosser Geschwindigkeit verläuft. Das Chlorophyll geniesst also in den Chloroplasten einen Schutz gegen die Spaltung durch Kohlensäure.

Ferner ist die Geschwindigkeit der Aufnahme von Kohlensäure in den belichteten Chloroplasten eine viel grössere als bei der Ab-

sorption durch die reine kolloide Lösung. In den günstigsten Fällen die beobachtet worden sind, nämlich bei den chlorophyllarmen Blättern der Aureavarietäten und von etiolierten Pflanzen, erfolgt der Umsatz eines Kohlensäuremoleküls durch ein Chlorophyllmolekül, d. h. Aufnahme und Reduktion in $1^1/_2$ Sekunden. Es ist nicht erreicht worden, eine damit vergleichbare Geschwindigkeit bei der Bildung der dissoziierbaren Kohlensäureverbindung des Chlorophylls mit Hilfe von viel konzentrierterer Kohlensäure zu verwirklichen.

Diese Unterschiede zwischen dem Chlorophyll im Blatte und in der Form des reinen Hydrosols machen weitere analytische Untersuchung erforderlich. Es sind Zusätze zum Hydrosol des Chlorophylls zu suchen, welche die Addition der Kohlensäure an Chlorophyll nicht stören, welche sie sogar beschleunigen und welche die Zersetzung des Chlorophylls hintanhalten.

Besonders deutlich tritt die intensive Kohlensäureabsorption von assimilierenden Blättern in einer wohlbekannten Untersuchung von H. T. Brown und F. Escombe zutage. Diese Forscher zeigten, dass ein in atmosphärischer Luft assimilierendes Blatt mehr als die Hälfte von Kohlendioxyd aufzunehmen vermag wie eine gleiche Fläche bewegter starker Kalilauge. Sie fanden ferner, dass die Epidermis mit ihren Spaltöffnungen den Gasaustausch nicht hindert, trotzdem sie nur $^1/_{100}$ der Blattfläche darstellen. Es zeigte sich nämlich, dass sich die Diffusion von Gasen durch eine durchlöcherte Scheidewand ebenso vollzieht, wie wenn keine Scheidewand vorhanden wäre, insofern nur die zahlreichen Sieblöcher genügend weit auseinander liegen, um sich in ihrer Wirkung nicht gegenseitig zu beeinträchtigen. Der Eintritt der kohlendioxydhaltigen Luft in die Intercellularen wird also durch die Epidermis des Laubblattes nicht erschwert und die rasche Aufnahme des Kohlendioxyds könnte bei der grossen absorbierenden Oberfläche der Intercellularräume verständlich sein, nicht aber die rasche Verarbeitung im photochemischen Assimilationsprozess bei der äusserst niedrigen Konzentration des atmosphärischen Kohlendioxyds.

In einer besonderen Untersuchung, deren Ergebnisse an dieser Stelle nur kurz erwähnt werden können, wurde eine chemische Vorrichtung des Blattes aufgefunden, die für die rasche Aufnahme und für die rasche Verarbeitung des Kohlendioxyds im Blatte mitverantwortlich erscheint.

Bringt man Blätter im Dunkeln aus einer kohlendioxydfreien Umgebung in eine kohlendioxydhaltige, so nehmen sie einen erheblichen Betrag von Kohlendioxyd auf. Beim Zurückbringen der Blät-

ter in kohlendioxydfreie Luft geben sie den ganzen Betrag an zuvor aufgenommener Kohlensäure wieder ab.

Diese Absorptionserscheinung ist nicht etwa auf das Chlorophyll im Blatte zurückzuführen, sie ist dafür zu bedeutend und entspricht z. B. bei den chlorophyllarmen Aureablättern berechnet auf 1 Chlorophyllmolekül nicht weniger als 70 bis 170 Molekülen CO_2. Die Menge des von der Blattsubstanz dissoziabel gebundenen Kohlendioxyds ist in 5-prozentigem Kohlendioxyd etwa das vierfache von der Menge, die das Wasser des Blattes allein zu lösen vermag; in 1-prozentigem Kohlendioxyd beträgt die Absorption das sechsfache und in 0,1-prozentigem bereits das zwölffache des im Wasser der Blattsubstanz unter dem entsprechenden Partialdruck löslichen Kohlendioxyds.

Die Absorptionserscheinung wird also desto bedeutender, je niedriger die Kohlensäurekonzentration ist, das heisst, je mehr sich die Versuchsbedingungen den Lebensbedingungen der Pflanzen in der Atmosphäre nähern.

Eine Beziehung dieser Kohlensäureabsorption des unbelichteten Blattes zum Assimilationsvorgang ist noch nicht bewiesen. Aber es ist wahrscheinlich, dass die Affinität der Blattsubstanz zur Kohlensäure auch das Verhalten des Blattes im Lichte beeinflussen wird, dadurch dass die Kohlensäureabsorption beschleunigt, die Konzentration der Kohlensäure erhöht und die Form, in welcher die Kohlensäure vorliegt, verändert wird.

Auf die Parallelität der Kohlensäureabsorptionserscheinung des Blattes und der bereits bekannten Funktion von Kohlensäureträgern des Blutes, die den Abtransport vom Entstehungsort des Kohlendioxyds zur Lunge besorgen, kann an dieser Stelle nur hingewiesen werden. Im Blatte wie im Blut sind Stoffe vorhanden, die Kohlensäure in bedeutenden Mengen dissoziabel zu binden vermögen, offenbar so, wie sie M. Siegfried in Form der Carbaminoverbindungen und Kohlenestersäuren wahrscheinlich gemacht hat.

Es ist wohl möglich, dass sich die Kohlensäure im Blatte in der Form eines solchen Kohlensäurederivates mit dem Chlorophyll verbindet anstatt als freie Säure selbst. Jedenfalls muss die natürliche Einrichtung, welche die Kohlensäure in die Wirkungssphäre des Chlorophylls bringt, in einem System bestehen, das die Addition beschleunigt, die Zerstörung des assimilatorischen Farbstoffs dagegen verhindert.

In einigen älteren theoretischen Betrachtungen über den Assimilationsvorgang war schon vermutet worden, es könnte sich die Zerlegung der Kohlensäure nach einer Additionsreaktion an das Chloro-

phyll vollziehen. A. Baeyer hat im Jahre 1870 in der berühmten Abhandlung: „Über die Wasserentziehung und ihre Bedeutung für das Pflanzenleben und die Gärung", in der er seine Formaldehydhypothese ausgesprochen hat, freilich nicht Kohlendioxyd, sondern Kohlenoxyd als an Chlorophyll addiert angenommen.

Kohlenoxyd vermag bekanntlich, obschon es halb reduzierte Kohlensäure darstellt, das Kohlendioxyd in der Ernährung der Pflanze nicht zu ersetzen, was wohl seinen Grund darin haben wird, dass es sich mangels saurer Natur nicht an Chlorophyll zu addieren vermag.

F. Hoppe-Seyler scheint zuerst die Vermutung geäussert zu haben, dass die Kohlensäure selbst sich mit dem Chlorophyll verbindet, nämlich, „dass das Chlorophyll zunächst die Kohlensäure in eine lockere Verbindung aufnimmt, die dann durch Einwirkung des Sonnenlichts unter Regeneration des Chlorophylls zerlegt wird."

In neuester Zeit haben namentlich E. Abderhalden in seinem „Lehrbuch der physiologischen Chemie" und H. Euler in seinen „Grundlagen und Ergebnissen der Pflanzenchemie" die Frage einer chemischen Funktion des Chlorophylls kritischer Betrachtung unterworfen. Euler schreibt z. B.: „Dass besonders ein an aktiven Atomgruppen so reicher Stoff wie Chlorophyll imstande ist, Kohlensäure in sich aufzunehmen, muss von vornherein als recht wahrscheinlich bezeichnet werden" und ferner: „Wenn wir also das Chlorophyll als einen Sensibilisator bezeichnen, so gewinnen wir einstweilen dadurch noch keine konkretere Vorstellung von dessen Wirkungsweise. Insbesondere ist man darüber im unklaren, ob und in welchem Grade der Sensibilisator, hier speziell das Chlorophyll, chemisch mit dem Stoff reagiert, dessen Reaktion er beschleunigt; mit anderen Worten, ob die Kohlensäure vor ihrer Reduktion eine Verbindung mit dem Chlorophyll eingeht."

Noch im Jahre 1911 hat M. Tswett in seiner Abhandlung: „Eine Hypothese über den Mechanismus der photosynthetischen Energieübertragung" dem Chlorophyll eine rein physikalische Rolle zugeschrieben. Er nimmt an, dass das Chlorophyll lediglich dazu da sei, Licht zu absorbieren und die aufgenommene Energie als Fluoreszenzlicht wieder auszustrahlen. In dieser Lichtemission erblickt Tswett die unmittelbare Quelle derjenigen Energie, die bei der Assimilation die chemische Arbeit leistet. Tswett macht dabei die sonderbare Annahme, dass die roten Lumineszenzstrahlen des Chlorophylls von der Kohlensäure spezifisch absorbiert werden, was bei der Farblosigkeit der Kohlensäure natürlich ausgeschlossen ist.

Die Vorstellung von Tswett, dass das Sonnenlicht zuerst absorbiert, dann in Form der Lumineszenz wieder ausgestrahlt und endlich

von der farblosen Kohlensäure aufgenommen werde, ist unwahrscheinlich. Sie wird nun ersetzt durch die einfachere Annahme, dass das absorbierte Licht im Chlorophyllmolekül selbst chemische Arbeit leiste. Durch die Bindung an den chromophoren Magnesiumkomplex des Chlorophylls ist die Kohlensäure oder ein Kohlensäurederivat Bestandteil des Farbstoffs geworden. In diese Atomgruppe strömt die Energie der absorbierten Strahlung und die Kohlensäure wird dadurch so umgelagert, dass sie für die Abspaltung des Sauerstoffs vorbereitet ist.

Um sich eine Vorstellung von der Desoxydation der dem Chlorophyllkomplex einverleibten Kohlensäure zu bilden, war es von grundlegender Bedeutung, die Stufe der Reduktion, in die der Kohlenstoff bei der Assimilation zunächst übergeht, mit andern Worten, das primäre Assimilationsprodukt zu kennen.

Die Annahme, dass der Formaldehyd in den chlorophyllhaltigen Pflanzenteilen als erstes Reduktionsprodukt der Kohlensäure auftrete, hat bekanntlich Baeyer in der oben erwähnten Abhandlung ausgesprochen. Es ist seither, namentlich in den Untersuchungen von Th. Curtius und seinen Mitarbeitern oft versucht worden, die Formaldehydhypothese durch den Nachweis von Formaldehydspuren in grünen Pflanzenteilen zu bestätigen. Aber wenn der Nachweis von Formaldehyd gelänge, so hätte er keine Bedeutung für die Beurteilung des Assimilationsvorganges. Der Formaldehyd kann innerhalb der Pflanze durch Umwandlungen entstehen, die keinen Zusammenhang mit der Desoxydation der Kohlensäure haben, beispielsweise, wie H. A. Spoehr gezeigt hat, durch Photolyse von Glykolsäure, Äpfelsäure und andern Pflanzensäuren.

Auch die Versuche anderer Forscher, mit Hilfe von strahlender Energie z. B. der stillen elektrischen Entladung, von ultravioletten Strahlen oder von Radium-Emanation bei Abwesenheit von Chlorophyll die Kohlensäure zu spalten, wobei manchmal Spuren von Aldehyd auftraten, lassen keine sichern Schlüsse ziehen auf den natürlichen Vorgang. Dasselbe gilt von den Versuchen zahlreicher Autoren, die unter Anwendung von meist sehr unreinen Chlorophyllpräparaten die Kohlensäureassimilation ausserhalb der Zelle anstrebten und dabei Spuren von Aldehyd nachweisen konnten. H. Wager sowie Ch. H. Warner, zwei englische Forscher, haben vor kurzem gezeigt, dass der Aldehyd nur bei Gegenwart von Sauerstoff entsteht und von der Photooxydation, also der Zersetzung des Chlorophylls oder seiner Begleitstoffe herrührt.

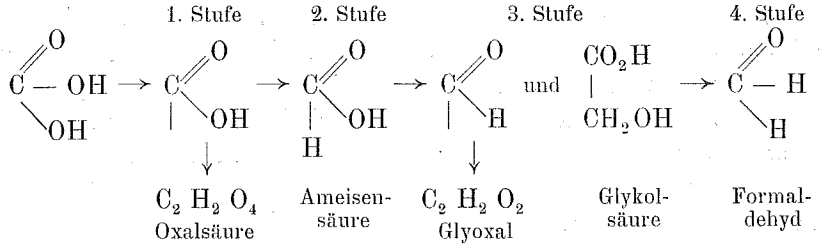
Neue Versuche ähnlicher Art aber mit reinem Chlorophyll in der reaktionsfähigen kolloiden Form liessen nach tagelanger Belichtung im kohlendioxydhaltigen Gasstrom bei Gegenwart von Sauerstoff Photooxydation des Chlorophylls beobachten, beim Fehlen des Sauerstoffs keine Reaktion ausser der langsamen Abspaltung des Magnesiums durch das verdünnte Kohlendioxyd. Nie trat eine Spur von Formaldehyd auf, der nach besonders ausprobierten Methoden doch noch in einer Verdünnung von 1 : 1000000 nachweisbar gewesen wäre.

Die Annahme des Formaldehyds als erstes frei auftretendes Assimilationsprodukt ist noch nicht bewiesen und viel umstritten. In den letzten Jahren haben vor allem physikalische Chemiker, namentlich E. Baur, ferner G. Bredig sowie K. A. Hofmann eine weniger weitgehende Reduktion der Kohlensäure im Assimilationsvorgang angenommen. Der Energieanstieg beim direkten Übergang der Kohlensäure zur Formaldehydstufe, der die Abspaltung von zwei Atomen Sauerstoff voraussetzt, schien diesen Forschern zu gewaltig, um in einem Hub überwunden zu werden. Als primäre Assimilationsprodukte sollten z. B. Oxalsäure oder Ameisensäure entstehen, die dann durch freiwilligen Zerfall einerseits wieder Kohlensäure und andererseits Produkte der Kohlehydratstufe liefern sollten.

Bei der grossen Mannigfaltigkeit der chemischen Stoffe in der Zelle und besonders auch der Pflanzensäuren, die bekanntlich in bedeutenden Mengen bei der Pflanzenatmung intermediär entstehen, wird sich aber nur schwer jemals beweisen lassen, dass eine im Blatte aufgefundene Säure mit der Assimilation überhaupt im Zusammenhang steht. Von einem Stoffwechselprodukt wissen wir jedoch, dass es nur bei der photochemischen Spaltung der Kohlensäure entsteht, nämlich von dem entbundenen Sauerstoff. Seine Menge im Vergleich mit dem aufgenommenen Kohlendioxyd gibt uns zuverlässigen Aufschluss über die Desoxydationsstufe des Kohlenstoffs.

Der Gedanke der Untersuchung über das primäre Assimilationsprodukt war daher die Prüfung des Verhältnisses zwischen absorbiertem Kohlendioxyd zu entbundenem Sauerstoff, des „assimilatorischen Koeffizienten“: $\frac{CO_2}{O_2}$.

Zwischen Kohlensäure und Kohlehydrat gibt es, wenn man nur die einfachsten Möglichkeiten in Betracht zieht, mindestens drei Zwischenstufen gemäss den Formeln:



$\frac{CO_2}{O_2}$:	4	2	1,33 ...	1

Diesen Reduktionsstufen entsprechen die Quotienten aus Kohlendioxyd zu abgespaltenem Sauerstoff 4, 2, 1,33 ... und 1.

Ob die Assimilationsreaktion diese Zwischenstufen überspringt oder ob sie dieselben mit merklichen Geschwindigkeitsunterschieden stufenweise herabschreitet, kann die Bestimmung des assimilatorischen Koeffizienten entscheiden. Der Gasaustausch wird sich ändern, die Menge des freiwerdenden Sauerstoffs wird sinken und daher der assimilatorische Koeffizient steigen, falls Zwischenprodukte der Reduktion auftreten und sich anhäufen.

Wenn der assimilatorische Koeffizient genau 1 ist, so sagt er aus: Es wird der gesamte Sauerstoff aus Kohlendioxyd abgespalten, das Kohlendioxyd wird reduziert zum Kohlenstoff, der natürlich als Hydrat auftritt; das einzige Hydrat des Kohlenstoffs mit nur einem C-atom im Molekül ist der Formaldehyd.

Bekanntlich setzt sich der Gesamtgaswechsel der Blätter aus zwei entgegengesetzten Vorgängen zusammen, aus der im Lichte stark überwiegenden Assimilation, bei der Kohlendioxyd verbraucht und Sauerstoff frei wird und dem namentlich bei höherer Temperatur immerhin beträchtlichen Gaswechsel der Atmung, die Sauerstoff verbraucht und Kohlendioxyd bildet. Der Atmungsvorgang ist aber keine einfache chemische Reaktion, er setzt sich aus vielen verschiedenen Reaktionen zusammen, von denen manche lebenswichtige Synthesen sind und andere der Umformung und Beseitigung von Abfallstoffen dienen. Die Einatmung des Sauerstoffs und die Abgabe der Kohlensäure sind durch viele Zwischenreaktionen getrennt, sodass sie kein konstantes Verhältnis bilden.

So ist es erklärlich, dass die Resultante des Assimilationsgaswechsels und der Atmung in den älteren Arbeiten stark schwankend gefunden wurde z. B. in den Versuchen von J. B. Boussingault von 0,81 bis 1,17.

Erst viel später haben G. Bonnier und L. Mangin mit vier verschiedenen Verfahren versucht, „à séparer l'action chlorophyllienne de la respiration". Es scheint jedoch nicht, dass es ihnen gelungen ist, den Einfluss der Atmung auf den assimilatorischen Koeffizienten auszuschalten, dessen Werte von 1 stark abweichen, sodass, namentlich wenn man die den Autoren unterlaufenen Rechenfehler korrigiert und mit den Versuchsdaten rechnet, z. B. bei Ilex aquifolium die anderthalbfache Menge von entbundenem Sauerstoff als für aufgenommene Kohlensäure erhalten wird. Arbeiten aus den letzten Jahren haben den reinen assimilatorischen Koeffizienten wiederum nur indirekt zu bestimmen versucht und man war daher bis jetzt fast allein auf die zahlenmässig ungenaue Untersuchung von Bonnier und Mangin angewiesen. Und doch ist die genaue Kenntnis des assimilatorischen Gasaustausches von grundlegender Bedeutung. Während die Resultante aus der Assimilation und der Atmung gar nichts über die photosynthetische Reaktion aussagt und keine genügende Grundlage für die Formaldehydhypothese geboten hat, zeigt der rein assimilatorische Koeffizient eindeutig und ohne Hypothese die Reduktionsstufe des Kohlenstoffs an, in die das Kohlendioxyd unmittelbar in der Assimilationsreaktion umgeformt wird.

Auch in der Untersuchung über den assimilatorischen Koeffizienten sind abgeschnittene Blätter maximalen äusseren Assimilationsbedingungen unterworfen worden. Man erreichte damit, dass der Einfluss von Schwankungen im Atmungsvorgang praktisch verschwindet. Der Gaswechsel der Assimilation ist unter unsern Versuchsbedingungen etwa der 30fache von dem der Atmung. Die Anwendung von hohem Teildruck der Kohlensäure und starker Belichtung bietet aber auch am ehesten die Möglichkeit für ein Auftreten von Zwischenprodukten bei der Assimilationsreaktion; denn das Blatt ist angepasst an den etwa zehnmal kleineren Umsatz an Assimilationsprodukten unter natürlichen Bedingungen. Die stufenweise Desoxydation der Kohlensäure müsste sich kenntlich machen durch einen Fehlbetrag an abgegebenem Sauerstoff gegenüber dem verbrauchten Kohlendioxyd also durch Erhöhung des assimilatorischen Koeffizienten über 1 zu Beginn des Versuches oder nach sehr langer Dauer, wenn die Assimilationstätigkeit infolge Ermüdung der Chloroplasten beispielsweise bis auf die Hälfte gesunken ist oder bei Anwendung extremer Versuchstemperaturen oder nach Störungen der normalen Protoplasmafunktion durch Sauerstoffentzug.

Die gasanalytische Methode war so ausgearbeitet, dass die Fehler bei den Bestimmungen von aufgenommenem Kohlendioxyd und ab-

gegebenem Sauerstoff den assimilatorischen Koeffizienten in der zweiten Dezimale höchstens um ein bis zwei Einheiten beeinflussen konnten. Kohlendioxyd und Sauerstoff wurden mit einer für den besonderen Zweck etwas modifizierten Bürette nach H. Drehschmidt mit einer Genauigkeit von ± 0,005 Vol. Prozent bestimmt. Die in jeder Gasanalyse ermittelten Beträge an verbrauchtem CO_2 und abgegebenem O_2 stellen den assimilatorischen Gaswechsel dar von gewöhnlich etwa 10 g Laubblättern in einem Intervall von nur drei bis vier Minuten.

Aus dem Versuchsmaterial sind charakteristische Beispiele in der Tabelle 4 zusammengestellt.

10 g Holunderblätter assimilierten in 5 prozentigem Kohlendioxyd bei 25° und Belichtung mit Sonnenintensität in der ersten Stunde 0,124 g CO_2, in der zehnten Stunde noch 0,088 g; der assimilatorische Koeffizient ist dann 1,00. Ähnliches gilt für die Versuche bei 35° und bei 10°, ungeachtet des raschen Rückgangs der Leistung in dem Versuch bei hoher Temperatur auf beinahe die Hälfte vom Anfangswert. Ilex aquifolium wurde gewählt als ein Beispiel von Pflanzen, die bei den Messungen von Bonnier und Mangin sehr grosse Abweichungen des assimilatorischen Koeffizienten von der Zahl 1 ergeben haben; Stechpalme bildet jedoch nach den neuen Messungen keine Ausnahme. Auch ein Laubmoos (Leucobryum glaucum) mit nur sehr schwacher assimilatorischer Leistung ergab denselbeu Koeffizienten wie die hochentwickelten Pflanzen. Blätter von Cyclamen hatten schon vor der Belichtung stundenlang in sauerstofffreiem Medium geweilt, der assimilatorische Koeffizient war dennoch 1.

Bei der Assimilation der Sukkulenten werden bekanntlich zu tiefe Werte von $\frac{CO_2}{O_2}$ gefunden, weil diese Pflanzen in der nächtlichen Atmung statt der flüchtigen Kohlensäure einen bedeutenden Vorrat an organischen Säuren bilden, um denselben am Tageslicht aufzuzehren. Die Sukkulenten sind eingerichtet, möglichst wenig Wasser durch Transpiration zu verlieren. Die Fläche der oberirdischen Organe ist verkleinert, die Spaltöffnungen sind wenig zahlreich. Dadurch wird andererseits der Eintritt des Kohlendioxyds in die pflanzlichen Gewebe erschwert und die Pflanze ist darauf angewiesen, Atmungskohlensäure einzusparen. Die tagsüber erfolgende Verarbeitung der nicht flüchtigen Säuren am Lichte bedingt ein Plus von Sauerstoff im Verhältnis zu der von aussen aufgenommenen Kohlensäure. Das findet seinen Ausdruck in dem sehr niedrigen Koeffizienten 0,44 (Tab. 4) zu Anfang der Belichtung nach tagelangem Aufenthalt der Opuntia im Dunkeln. Bei lange dauernder Belichtung versiegt diese Quelle der innern Kohlensäureversorgung

Tabelle 4.

Assimilation

in 5 vol. proz. CO_2, 1/2 bis 1 Sonnenstärke

Pflanze	Medium	Temperatur	Vers. Dauer Stunden	Von 10 g Blatt in 1 Std. assim. CO_2 (g)		Assimilator. Koeff.: $\frac{CO_2}{O_2}$	
				am Anfang des Vers.	am Ende des Vers.	am Anfang des Vers.	am Ende des Vers.
Sambucus nigra . .	CO_2—Luft	25°	10	0,124	0,088	—	**1,00**
„ „	„ „	35°	4 1/2	0,164	0,090	**0,99**	**1,00**
Aesculus Hipp. . .	„ „	10°	3 1/2	0,038	0,048	**0,98**	**1,00**
Ilex aquifolium . .	„ „	25°	3	0,074	0,055	**1,00**	**1,00**
Leucobryum glauc. .	„ „	25°	1	0,006	—	**0,99**	—
Cyclamen europ. .	CO_2—N.	25°	2 1/2	0,064	0,053	**1,01**	**1,00**
Opuntia	CO_2—Luft	30°	6	0,004	0,002	**0,44**	**0,85**

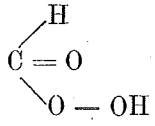
mehr und mehr, die Menge des abgegebenen Sauerstoffs nähert sich der Menge von aufgenommenem Kohlendioxyd, der assimilatorische Koeffizient nähert sich 1. Nach sechsstündiger Belichtung betrug er 0,85. Der assimilatorische Koeffizient der Sukkulenten, dieser ausgesprochenen Säurepflanzen weicht im entgegengesetzten Sinn von 1 ab, als es bei der Bildung von Pflanzensäuren während der Assimilation der Fall wäre.

Eine Anomalie des assimilatorischen Gaswechsels im Sinne einer zu geringen Sauerstoffentbindung liess sich unter all diesen variablen Versuchsbedingungen, die dafür günstig gewesen wären, nicht erzwingen. Es ist daher nicht möglich, dass ein Zwischenglied der Desoxydation frei vorkommt.

Freilich lässt sich durch die Bestimmnng des assimilatorischen Koeffizienten nicht entscheiden, ob am Chlorophyll selbst in einem Hube die Umwandlung der Kohlensäure unter Energieaufnahme erfolgt oder in mehreren Stufen. Die Menge eines Zwischenproduktes am Chlorophyll ist zu klein, um einen messbaren Ausschlag im Gasaustausch zu geben. Aber es ist zu schliessen, dass erst dann, wenn aus einem Molekül Kohlendioxyd der gesamte Sauerstoff entbunden worden ist, das Chlorophyll für die Aufnahme und Umformung eines neuen Moleküls Kohlensäure frei wird.[1])

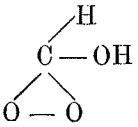
Damit eine Entbindung von molekularem Sauerstoff aus der Kohlensäure möglich ist, muss diese übergehen in ein Isomeres von Peroxydkonstitution. Sehr wahrscheinlich ist diese peroxydische Umlagerung der Kohlensäure, die Umgruppierung der Valenzen des dem Chlorophyll eingefügten Kohlensäuremoleküls die Reaktion, welche die vom Chlorophyll aufgenommene Lichtenergie verbraucht.

Ein peroxydisches Isomeres der Kohlensäure ist aus den Arbeiten von d'Ans in der Perameisensäure von der Formel



bekannt und manche Beobachtung der Literatur und aus eigenen Versuchen spricht für die Existenz eines zweiten Isomeren, nämlich von Formaldehydperoxyd:

[1]) Die geringste Menge einer frei auftretenden stärker sauren Verbindung als Kohlensäure wie Oxalsäure oder Ameisensäure im Chloroplasten würde übrigens den Chlorophyllfarbstoff zerstören. Schon 25-vol. proz. Kohlensäure genügt, um dem Chlorophyll lebender Blätter selbst im Licht das Magnesium zu entziehen; die Blätter bekommen sehr bald braune Flecken.

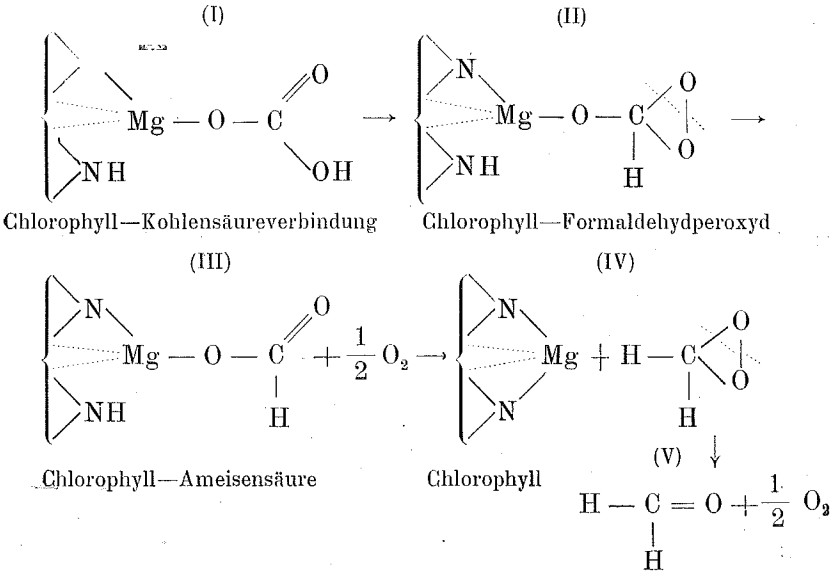


Es sind also in den beiden Isomeren zwei verschiedene Formen umgelagerter Kohlensäure möglich, die sich zum freiwilligen Zerfall unter Sauerstoffabgabe eignen, aber die Isomerisation zu einem Peroxyde muss nicht in einem Additionsprodukt von Kohlensäure selbst an Chlorophyll stattfinden, es ist auch möglich, dass es das Additionsprodukt eines Kohlensäure derivates an Chlorophyll ist, in welchem sich die Umlagerung abspielt. Für die im Folgenden aufgezeichneten Formeln ist die einfachere Möglichkeit der Addition von Kohlensäure allein gewählt (I).

Nach dem Wert des assimilatorischen Koeffizienten, der unverrückbar und genau 1 beträgt, entbindet die Kohlensäure im Assimilationsvorgang glatt die molekulare Menge Sauerstoff. Die Umlagerung der Kohlensäure kann man sich so erfolgend denken, dass zwei Atome Sauerstoff auf einmal abgespalten werden oder wahrscheinlicher so, wie es das in den Formeln gewählte Beispiel ausdrückt, dass zunächst nur die Gelegenheit zur Abspaltung von einem Atom Sauerstoff gegeben ist (II) und dass eine Wiederholung des Vorgangs erfolgt. Es entspricht also die in der Formel angenommene Umlagerung nicht dem vollen Potentialhub, der von der Lichtenergie zu leisten ist. An der Zwischenstufe der Desoxydation, die der Ameisensäure (III) entspricht, wiederholt sich die Umlagerung durch Energieaufnahme zu einer peroxydischen Verbindung (IV), die wiederum ein halbes Molekül Sauerstoff abspaltet, sodass als erstes vom Chlorophyll losgelöstes und existenzfähiges Assimilationsprodukt, die Formaldehydstufe erreicht wird (V), so wie es der Wert des assimilatorischen Koeffizienten verlangt.

Aus der Disproportionalität zwischen der assimilatorischen Leistung der Blätter und ihrem Chlorophyllgehalt und einer Reihe anderer Beobachtungen wurde der Schluss gezogen, dass sehr wahrscheinlich eine Teilreaktion des assimilatorischen Vorgangs durch ein Enzym katalytisch beschleunigt werde. Das muss ein Vorgang sein, der ohne Energiezufuhr erfolgt, denn Katalysatoren vermögen keine Energie zu liefern. Es ist daher wahrscheinlich, dass das Enzym die Sauerstoffentbindung aus der Peroxydstufe der Kohlensäure, die sich für freiwilligen Zerfall eignet, katalytisch beschleunigt.

Der gebildete Formaldehyd bedarf zu seiner Kondensation zu Zucker keiner Energiezufuhr mehr, er braucht daher mit dem Chloro-



phyll nicht mehr verbunden zu sein. Es wurde denn auch gefunden dass Formaldehyd zu kolloidem Chlorophyll keine chemische Affinität besitzt.

Zusammenfassend kommt man etwa zu der folgenden Vorstellung des Assimilationsprozesses:

Das Kohlendioxyd diffundiert aus den Intercellularräumen durch die Zellwände, wird durch eine chemische Vorrichtung der Zelle i, höhere Konzentration gebracht und dem Chlorophyll in besonders reaktionsfähiger Form zugeleitet. Die Kohlensäure als solche oder ein Kohlensäurederivat wird dann vom Chlorophyll addiert. Diesen dem Chlorophyllmolekül eingefügten Kohlensäure strömt das absorbierte Licht als chemisches Potential zu und lagert sie peroxydisch um, sodass unter Mitwirkung eines spezifischen Enzyms die molekulare Menge von Sauerstoff abgespalten werden kann. Als erstes freiauftretendes Assimilationsprodukt wird die Kohlehydratstufe erreicht, deren einfachster Representant der Formaldehyd ist.