

Mitteilungen.

231. Richard Willstätter und Arthur Stoll: Über die Baeyersche Assimilationshypothese.
(Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure, zweite¹⁾ vorläufige Mitteilung.)

[Aus dem Chem. Labor. der Königl. Akad. der Wissenschaften zu München.]
 (Eingegangen am 1. Oktober 1917.)

Über das Zwischenglied der Kohlehydrat-Bildung.

Die Annahme, daß der Formaldehyd in der chlorophyllhaltigen Pflanze als Zwischenglied der Umwandlung von Kohlensäure in Kohlehydrat auftritt, hat Adolf Baeyer²⁾, durch Butlerows Kondensation des Formaldehyds angeregt, in der Abhandlung ausgesprochen: »Über die Wasserentziehung und ihre Bedeutung für das Pflanzenleben und die Gärung«. Es ist oft versucht worden, diese Erklärung der Photosynthese durch den Nachweis von Formaldehyd-Spuren 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. Spoehr³⁾ gezeigt hat, durch Photolyse von Glykolsäure, Äpfelsäure und anderen Pflanzensäuren.

Die Annahme des Formaldehyds als Zwischenprodukt ist viel umstritten. In den letzten Jahren ist sie namentlich von E. Baur, ferner von G. Bredig und von K. A. Hofmann und K. Schumpelt angegriffen worden. In der Abhandlung⁴⁾ »Der Weg der Assimilation« wird von E. Baur »die Möglichkeit erörtert, daß bei der photochemischen Reduktion der Kohlensäure in den grünen Pflanzen Oxalsäure in erster Reaktionsstufe entsteht«. »Wenn das Licht die Kohlensäure auf einmal zu Formaldehyd reduzieren soll, so hat es

¹⁾ Die erste Mitteilung ist erschienen in diesen Berichten 48, 1540 [1915].

Die vorliegende Arbeit ist ein Auszug aus der V. Abhandlung unserer »Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure«, die in Buchform im Verlage von Julius Springer in Berlin demnächst erscheinen werden. An dieser Stelle ist die einschlägige Literatur genauer berücksichtigt und das Versuchsmaterial vollständig angeführt.

²⁾ B. 3, 63 [1870]. ³⁾ B.o. Z. 57, 95 [1913].

⁴⁾ Ph. Ch. 63, 683, 706 [1908]; 72, 323, 336 [1910].

einen ungeheuren Potentialhub zu leisten. Viel bequemer erreicht die Pflanze dasselbe Ziel, wenn das Licht nur bis zur Oxalsäure zu reduzieren braucht. Die weitere Reduktion zu Kohlenhydrat kann durch freiwilligen inneren Zerfall geschehen«.

Eine neuere Untersuchung von E. Baur¹⁾ »zeigt, wie man von der Oxalsäure, dem wahrscheinlich ersten Produkt der Assimilation zu den Kohlenhydraten übergehen kann, die in der Pflanze wohl an Stelle des Formaldehyds bei der Zerlegung der Glykolsäure auftreten . . . Insgesamt erkennen wir in den Pflanzensäuren, nämlich in der Oxalsäure, Ameisensäure, Glyoxalsäure, Glykolsäure, Äpfelsäure und Citronensäure, die Vorstufen der Kohlenhydrate, wie übrigens schon Justus von Liebig klar geworden war«.

Auch G. Bredig²⁾, sowie K. A. Hofmann und K. Schumpelt³⁾ äußern Bedenken gegen die Annahme, »daß der Assimilationsprozeß in den grünen Pflanzenteilen von der atmosphärischen Kohlensäure aus über den Formaldehyd seinen Weg nimmt zu den Kohlenhydraten«. Sie finden es unwahrscheinlich, daß die Kohlensäure unter dem Antrieb der Lichtenergie in Formaldehyd und Sauerstoff übergeben soll, »weil der Energieanstieg bei diesem Vorgang ein außergewöhnlich großer ist und etwa 120 Cal. beträgt«. Hofmann und Schumpelt, ähnlich wie zuvor Bredig, führen aus: »Uns will es bedünken, daß man auf Grund bekannter lichtelektrischer Versuche eher annehmen sollte, daß das Licht eine elektrolytische Spaltung des Wassers herbeiführt, von deren Produkten der Sauerstoff gasförmig entweicht, während der Wasserstoff die Kohlensäure zunächst zu Ameisensäure reduziert«.

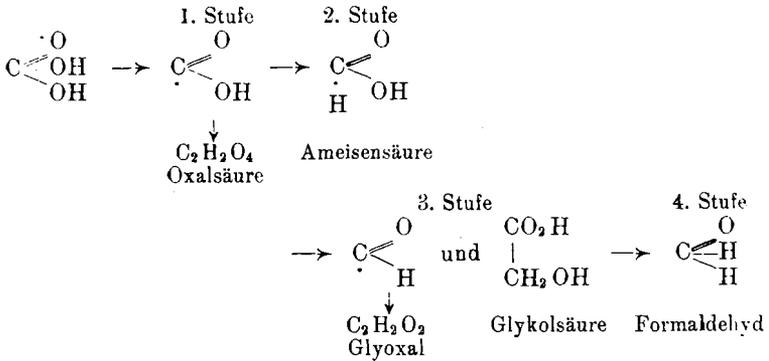
Diese Vorstellung erklärt indessen nicht das gesetzmäßige Hand-in-handgehen von Sauerstoff-Entbindung und Kohlensäure-Verbrauch. Die Annahme nicht allein von sauren, sondern von irgend welchen freivorkommenden und unter Umständen sich anhäufenden Zwischenprodukten, die sauerstoffreicher als Formaldehyd sind, steht im Widerspruch, wie gezeigt werden soll, mit den Verhältnissen des assimilatorischen Gaswechsels. Diese lassen erkennen, daß der von den chlorophyllhaltigen Gewächsen entbundene Sauerstoff nicht durch Zersetzung von Wasser entstanden ist, sondern aus der Kohlensäure stammt.

Der Gedanke der vorliegenden Untersuchung ist die Prüfung des assimilatorischen Koeffizienten, des Verhältnisses zwischen absorbiertem Kohlendioxyd und entbundenem Sauerstoff, bei gesteigerter Assimilation. Es soll untersucht werden, ob der Koeffizient bei der Assimilation unter hohem Teildruck der Kohlensäure und auch

¹⁾ B. 46, 852 [1913]. ²⁾ Umschau 18, 362 [1914]. ³⁾ B. 49, 303 [1916].

im übrigen günstigen Bedingungen bei sehr langer Dauer konstant bleibt. Der Gasaustausch wird sich ändern, die Menge des frei werdenden Sauerstoffs wird sinken, falls Zwischenprodukte der Reduktion auftreten und sich anhäufen, wofür die Voraussetzungen möglichst günstig gestaltet werden sollen.

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



Diesen Reduktionsprodukten entsprechen folgende Quotienten aus Kohlendioxyd und abgespaltenem Sauerstoff:

$$\begin{array}{l}
 \frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} \text{ für Oxalsäure} = 4 \\
 \text{» » Ameisensäure} = 2 \\
 \text{» » Glykolsäure} = 1.33 \dots
 \end{array}$$

Ob die Reaktion diese Zwischenstufen überspringt, oder ob sie dieselben mit merklichen Geschwindigkeitsunterschieden stufenweise herabschreitet, kann die Bestimmung des assimilatorischen Koeffizienten entscheiden, namentlich unter jenen Bedingungen, welche die Anhäufung eines Zwischenprodukts erwarten lassen.

Wenn die Konstante genau 1 ist, so sagt sie aus: die Kohlensäure wird reduziert zum Kohlenstoff, der natürlich als Hydrat auftritt; das einzige Hydrat des Kohlenstoffs mit nur einem Atom Kohlenstoff im Molekül ist der Formaldehyd.

Über die Geschichte und die Bedeutung des assimilatorischen Koeffizienten.

In den älteren Analysen des Gasaustausches assimilierender Pflanzen, namentlich in denjenigen von J. B. Boussingault¹⁾, war

¹⁾ Agronomie, Chimie agricole et Physiologie, 2. Aufl., [1864], III. Bd., S. 266 und besonders S. 378; ferner Bd. V, S. 1 [1874].

das Volumverhältnis der von den Blättern im Licht absorbierten Kohlensäure zu dem gleichzeitig von ihnen entbundenen Sauerstoff bestimmt worden. Da aber an dem Gaswechsel zwei entgegengesetzt gerichtete Vorgänge beteiligt sind, so war das gefundene Verhältnis eine Resultante aus dem Quotienten von Sauerstoff und Kohlensäure bei der Assimilation und der Atmung. Dieser Koeffizient des gesamten Gaswechsels bewegte sich in den Versuchen von Bous-singault zwischen 0.81 und 1.17.

Erst viel später, in den Arbeiten von G. Bonnier und L. Mangin¹⁾, sind Methoden aufgesucht worden, um die Assimilation und die Atmung getrennt zu beobachten und die Messung der beiden einander entgegen gerichteten Vorgänge auszuführen. Folgende vier Verfahren sollten dazu dienen »à séparer l'action chlorophyllienne de la respiration«.

1. Vergleich des Gaswechsels im Licht und im Dunkeln. Unter Lichtausschluß wird allein die Atmung und im Parallelversuch noch die Assimilation zusammen mit der Atmung beobachtet. Dafür ist Temperaturgleichheit erforderlich, die nur in diffusem Licht zu erzielen war. Aus der Differenz zwischen beiden Versuchen im Kohlendioxyd- und Sauerstoffgehalt der Gasräume wurde der assimilatorische Koeffizient abgeleitet. Die Bestimmung machte eine Korrektur nötig, da die Atmung im Dunkeln und bei Belichtung verschieden ist. Sie wird nach den Versuchen von Bonnier und Mangin im Lichte um 5 bis 33 % gehemmt. Diese Korrektur ist indessen nicht genügend genau und der Atmungsunterschied mit und ohne Licht von störendem Einfluß, da bei der Anordnung von Bonnier und Mangin Assimilation und Atmung Gasmengen von gleicher Größenordnung umsetzen.

2. Hemmung der Assimilation durch Narkose. Bonnier und Mangin machen davon Gebrauch, daß durch Äther-Narkose die Assimilation gelähmt oder wenigstens geschwächt wird, während die Atmung fort dauert. Die Differenz zwischen den Kohlendioxydmengen im Versuch mit Narkose und im Parallelversuch ohne Äther ergibt mit der zugleich gefundenen Sauerstoffdifferenz den Koeffizienten. Da aber die Assimilation nur abgeschwächt wird, so fallen die Differenzen der Gasmengen klein, die Quotienten daher wenig genau aus. Auch ist die Voraussetzung unwahrscheinlich, daß die Atmung mit und ohne Äther im Lichte gleich sei.

3. Schwächung der Assimilation durch Kohlensäure-Entziehung. Nach einem schon von Th. de Saussure²⁾ angewandten Prinzip

¹⁾ C. r. 100, 1303 [1885] und Ann. Sc. nat. (Bot.) [7] 3, 5 [1886].

²⁾ Recherches chimiques sur la végétation, S. 34, Paris 1804.

wird die Assimilation in einem geschlossenen Raume durch Beschikung mit Bariumhydroxyd herabgesetzt, das mit den Blättern in der Absorption der respiratorischen Kohlensäure konkurriert; im Vergleichsversuch wird wieder die Assimilation zusammen mit der Atmung gemessen. Da das assimilierende Blatt nach H. T. Brown und F. Escombe¹⁾ in der Kohlensäure-Absorption eine mehr als halb so große Leistungsfähigkeit wie konzentrierte Kalilauge besitzt, so kann auch diese Versuchsanordnung nur zu einer mäßigen Schwächung der Assimilation führen; die Differenzen werden also klein.

4. Vergleich von Blättern mit verschiedenem Chlorophyllgehalt. Die Differenzen im Gaswechsel werden der ungleichen assimilatorischen Leistung allein zugeschrieben. Es ist allerdings kaum möglich, hellgrüne und dunkelgrüne Blätter zu finden, die trotz ihres verschiedenen Entwicklungszustandes in der Atmung übereinstimmen.

Die nach diesen Methoden gefundenen assimilatorischen Koeffizienten $\frac{\text{Vol. O}}{\text{Vol. CO}_2}$ sind größer als 1 und bewegen sich im allgemeinen zwischen 1.1 und 1.3. Leider sind aber die Ergebnisse von Bonnier und Mangin durch Rechnungsfehler entstellt; in einigen Beispielen, in denen die Korrektur der Zahlen durch die Angabe der Versuchsdaten ermöglicht ist, zeigt es sich, daß die Werte von Bonnier und Mangin bedeutend von 1 abweichen. Für *Ilex aquifolium* beispielsweise berechnet sich aus ihren Angaben²⁾ der Koeffizient

$$\frac{\text{Vol. O}}{\text{Vol. CO}_2} = 1.31 \text{ bis } 1.58.$$

Seit der Arbeit von Bonnier und Mangin, die ein wichtiges Ziel anstrebte, scheint die Methodik der getrennten Messung des assimilatorischen und respiratorischen Gaswechsels keinen Fortschritt gemacht zu haben. Eine neue Untersuchung von L. Maquenne und E. Demoussy³⁾ greift auf die Möglichkeit zurück, durch Bestimmung des Atmungsquotienten, sowie des Koeffizienten des gesamten Gaswechsels indirekt den reinen assimilatorischen Koeffizienten abzuleiten. Aber wie im Prinzip der Methode, so ist auch in der Technik in gewisser Beziehung ein Rückschritt gegen Bonnier und Mangin vollzogen. Der Gaswechsel wird in Vergleichsversuchen im Dunkeln und bei Belichtung beobachtet, ohne daß die Schwierigkeit überwunden wird, Temperaturgleichheit einzuhalten.

Die Pflanzenphysiologie ist daher für den assimilatorischen Koeffizienten bis jetzt fast allein auf die Bestimmungen von Bonnier

¹⁾ Phil. Trans. Roy. Soc. Ser. B. 193, 223 [1900].

²⁾ anstatt 1.16 bis 1.28, wie angegeben.

³⁾ C. r. 156, 506 [1913].

und Mangin angewiesen, die methodisch interessant, aber zahlenmäßig sehr ungenau sind. Es scheint, daß die chemische Bedeutung dieser Zahl nicht hinreichend erkannt worden ist. Während die Resultante aus der Assimilation und Atmung, also die Zahl von Boussingault, gar nichts über die photosynthetische Reaktion aussagt und keine genügende Grundlage für die Formaldehyd-Hypothese geboten hat, zeigt der rein assimilatorische Koeffizient eindeutig und ohne Hypothese die niedrigere Oxydationsstufe des Kohlenstoffs an, in die das Kohlendioxyd unmittelbar in der Assimilationsreaktion umgeformt wird.

Ähnliches gilt nicht für den Atmungsquotienten, der keine einfache chemische Bedeutung hat. Dieser Koeffizient ist eine Resultante aus vielen verschiedenen Reaktionen, 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.

In der Methodik zur Bestimmung des assimilatorischen Gaswechsels war bisher ein Hauptfehler der zu bedeutende Einfluß, den man dem Atmungsvorgang neben dem Assimilationsvorgang gelassen hat. Jede Ungenauigkeit, die durch den Vergleich der Atmung im Assimilationsversuch und in den im Dunkeln oder mit Narkose im Licht oder mit chlorophyllarmen Pflanzenteilen ausgeführten Parallelversuchen entstand, mußte sich im assimilatorischen Koeffizienten geltend machen. Es ist deshalb auch, abgesehen von der besonderen Fragestellung unserer Arbeit, vorzuziehen, die Bestimmung mit derart vermehrter Assimilation auszuführen, daß unter keinen Umständen die Ungenauigkeiten, die durch den Einfluß der Atmung auf die Messung des assimilatorischen Gasaustausches entstehen, die Zahl des assimilatorischen Koeffizienten merkbar beeinflussen können.

Die Methode der Untersuchung.

Da die Blätter unter Bedingungen maximaler assimilatorischer Leistung bei konstanter Temperatur geprüft werden, so übt die Atmung, wenn sie auch im Licht und im Dunkeln nicht genau gleich ist, mit den möglichen Differenzen doch keinen Einfluß auf den assimilatorischen Koeffizienten aus. Einige Beispiele von Assimilationsversuchen unter solchen Bedingungen mit den zugehörigen Atmungsbestimmungen zeigen, daß bei gesteigerter Assimilation die Atmung nur $\frac{1}{20}$ — $\frac{1}{30}$ derselben ausmacht.

Vergleich des assimilatorischen und respiratorischen Kohlen-
säure-Umsatzes.

(10 g Blätter, 1 Stde.)

Pflanze	Temperatur	Atmung in reiner Luft (g CO ₂)	Assimilation in 5-proz. CO ₂ (g CO ₂)
Populus pyramidalis hort. . .	25°	0.010	0.198
Prunus Laurocerasus	30°	0.0035	0.110
Helianthus annuus	25°	0.011	0.250

Die Methode, den assimilatorischen Koeffizienten zu bestimmen, der durch die Formel $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ ausgedrückt werden soll¹⁾, unterscheidet sich von früheren Versuchen wesentlich dadurch, daß nicht im geschlossenen Raume, sondern im strömenden Gase das Verhältnis von Kohlendioxyd zum Sauerstoff gesucht wird. Es ist nur dadurch möglich, den Blättern konstante Bedingungen der Assimilation zu bieten. Die Unterschiede im Gasstrom sind allerdings kleiner als im geschlossenen Rezipienten, aber dieser Nachteil wird durch genauere Gasanalyse, nämlich durch Anwendung größerer Gasvolumina, kompensiert. Andererseits schließt man einen bei Versuchen mit geschlossenen Gasräumen unvermeidlichen Fehler aus, den die Eigenschaft auch der unbelichteten Blattsubstanz verursacht, Kohlensäure in Abhängigkeit vom Teildruck zu absorbieren²⁾.

Die in unserer früheren Mitteilung beschriebene Versuchsanordnung der quantitativen Assimilationsbestimmungen wird daher beibehalten, mit der man Atmung und Assimilation im Gasstrom von konstanter Geschwindigkeit beobachtet, und zur Bestimmung des Koeffizienten kommt hinzu, daß im Dunkelversuche und während der Belichtung Proben des Gasstromes für die volumetrische Bestimmung des Sauerstoff- und Kohlendioxyd-Gehalts entnommen werden.

In diesen Analysen ergibt:

1. Die Kohlendioxyd-Differenz in der Luft vor und nach dem Strömen über die Blätter im Dunkeln den Betrag der Atmung.

2. Die Kohlendioxyd-Differenz zwischen dem im Dunkeln und bei Belichtung über die Blätter geleiteten Gase die assimilatorische Leistung.

¹⁾ In Übereinstimmung mit Czapek in der »Biochemie der Pflanzen« und mit Kriep im Handwörterburch der Naturwissenschaften, während Bonnier und Mangin den reziproken Quotienten angeben.

²⁾ Vergl. R. Willstätter und A. Stoll, Sitzungsber. d. Preuß. Akad. d. Wiss. 1915, 322 und zwar S. 342.

3. Die Kohlensäure- und Sauerstoff-Differenz zwischen dem Versuchsgas und dem im Dunkeln über die Blätter geleiteten Gase den Atmungsquotienten.

4. Die Kohlensäure- und Sauerstoff-Differenz zwischen dem Gase im Dunkelversuch und bei Belichtung den Assimilationsquotienten ohne Einfluß der Atmungstätigkeit.

Unverändert gegenüber der Mitteilung über die assimilatorische Leistung der Blätter sind der Apparat und die Bedingungen der Assimilation. Die Kohlensäure-Differenz wird einerseits wie früher bestimmt durch Absorption von Kohlendioxyd in gewogenen Natronkalkröhren und Messung des zugehörigen Luftvolumens mit der Präzisionsgasuhr, und andererseits wird sie durch die volumetrische Analyse gefunden; beide Messungen sind nicht fortlaufend, sondern sie sind Proben, die sich kontrollieren und ergänzen. Die gravimetrische Bestimmung dient in diesem Falle, um die Strömungsgeschwindigkeit des Versuchsgases für die konstant gehaltene Quecksilberhöhe des Strömungsmanometers anzuzeigen. Dann läßt sich aus der volumetrisch bestimmten Kohlensäure-Differenz jeweils die stündliche Assimilationsleistung berechnen gemäß dem Verhältnis des kohlenstofffreien Luftvolumens der Bürette zur bekannten stündlich austretenden Luftmenge.

Das Verhältnis von Sauerstoff zu Kohlendioxyd bestimmen wir vor und während der Assimilation gasanalytisch mit Hilfe des Apparates von H. Drehschmidt¹⁾, den wir für diesen Zweck so modifiziert haben, daß er bei gleicher Genauigkeit der Ablesung für viel größere Volumina als üblich eingerichtet ist und daher relativ genauere Bestimmungen ermöglicht. Die Dimensionen des Apparats sind so vergrößert, daß die Bürette bis zur Öffnung der Capillare, die an die Pipetten angeschlossen wird, 200 ccm faßt. Da nur die Meßbereiche von 0—7 % für Kohlendioxyd und von etwa 17—27 % für Sauerstoff in Betracht kommen, so ist die zylindrische Röhre vom Nullpunkt an bis zu 14 ccm graduiert mit 1½ mm Abstand für 0.1 ccm; dann folgt eine kugelige Erweiterung der Bürette und darauf vom Teilstrich für 34—54 ccm wieder ein in 0.1 ccm graduiertes Stück von gleicher Weite wie unten. Von diesem Punkt an bis zur Ausgangscapillare ist die Bürette stark erweitert und ungraduiert. Die zur Ausschaltung des Temperatur- und Luftdruck-Einflusses während des Versuches dienende Kompensationsröhre hat ähnliches Volumen und ungefähr gleiche Masse, nur das weite Stück etwas tiefer.

¹⁾ B. 21, 324? [1888].

Im Arbeitsraum von annähernd konstanter Temperatur wird die Bestimmung auf ± 0.01 ccm genau; der Fehler beträgt daher bei dem großen Volumen der Bürette nur ± 0.005 ‰. In den Versuchen mit intensiver Assimilation macht die Kohlensäure-Differenz zwischen Dunkel- und Belichtungsversuch für den Raum der Gasbürette 3—4 ccm aus. Der Fehler in der Bestimmung beeinflusst daher den assimilatorischen Koeffizienten in der zweiten Dezimale nur um ein bis zwei Einheiten.

Der assimilatorische Koeffizient unter Bedingungen gesteigerter Assimilation bei verschiedenen Temperaturen.

Der erste Versuch mit *Sambucus nigra* bei 25° unter Bedingungen maximaler Leistung für diese Temperatur hat ohne Unterbrechung 10 Stdn. Dauer gehabt. Nach einer Ruhepause von 12 Stdn., während deren die Blätter bei 20—25° im Dunkeln lagen, ist der Belichtungsversuch weitere 5 Stdn. fortgeführt worden. Während der ganzen Versuchsdauer sind die Blätter schön frisch und grün geblieben. Trotz des bedeutenden Rückganges der Assimilation, die nach der langen Ruhepause keine merkliche Erholung erkennen ließ, ist der Koeffizient vom Anfang bis zum Ende nahezu konstant gefunden worden.

Der Koeffizient bei langdauernder intensiver Assimilation bei 25°.

(Mit 7.0 g Blättern von *Sambucus nigra*, 6½ Vol.-Proz. CO₂, ungefähr 45000 Lux.)

Belichtungs- dauer	CO ₂ -Diffe- renz (für 200.3 ccm Gas) ccm	O ₂ -Diffe- renz (für 200.3 ccm Gas) ccm	CO ₂ O ₂	Stündlich assimiliertes CO ₂ (g)	
				im Versuch	von 10 g Sambucus
1 Stde.	3.12	3.25	0.95 ¹⁾	0.087	0.124
3¼ Stdn.	3.24	3.29	0.99	0.091	0.130
4¼ »	3.00	3.04	0.99	0.084	0.120
6½ »	2.61	2.73	0.96	0.073	0.104
9 »	2.18	2.23	0.98	0.061	0.087
10 »	2.22	2.21	1.00	0.062	0.088
12 Stdn. Verdunkelung					
Wieder ½ Stde.	1.50	1.47	1.02	0.042 ²⁾	0.060
4 Stdn.	2.99	2.24	1.02	0.064	0.091
5¼ »	1.87	1.90	0.98	0.052	0.074

¹⁾ Die Abweichungen bei diesem ersten Versuch rühren noch zum Teil von Analysenmängeln her.

²⁾ Dieser tiefe Wert ist vom schädlichen Raum der Apparatur bedingt.

Zweiter Versuch; mit dem Laubmoos *Leucobryum glaucum* Schimp., einem schwach assimilierenden Objekt. Angewandt 30 g Sprosse mit dem geringen Trockengewicht 1.8 g. Versuchsbedingungen: 25°, 5 Vol.-Proz. CO₂, 22000 Lux.

Kohlensäure-Differenz 0.69 ccm, Sauerstoff-Differenz 0.70 ccm in 200.30 ccm Gas; assimilatorischer Koeffizient 0.99.

Dritter und vierter Versuch, mit *Pelargonium zonale*, unter denselben Bedingungen der Assimilation, indessen in sauerstoffarmem Medium. Das Versuchsgas enthielt im ersten Falle 7.40 % CO₂ und 1.35 % Sauerstoff.

Der Koeffizient bei langdauernder Assimilation in sauerstoffarmem Gase (25°).

(12 g Blätter von *Pelargonium zonale*, ungefähr 45000 Lux.)

Belichtungs- dauer	CO ₂ -Diffe- renz (für 166.30 ccm Gas) ccm	O ₂ -Diffe- renz (für 166.30 ccm Gas) ccm	CO ₂ O ₂	Stündlich assimiliertes CO ₂ (g)	
				im Versuch	von 10 g Pelargonium
¾ Stdn.	3.01	3.04	0.99	0.098	0.082
2 »	3.51	3.57	0.98	0.115	0.096
	¾ Stdn. Verdunkelung				
Wieder ¾ Stdn.	3.22	3.24	0.99	0.105	0.0875
2 »	2.94	2.97	0.99	0.096	0.080
	15 Stdn. Verdunkelung				
Wieder 1½ Stdn.	2.22	2.27	0.98	0.073	0.061
3 »	2.27	2.35	0.97	0.074	0.062
6 »	1.87	1.77	1.06	0.061	0.051

Der assimilatorische Koeffizient ist beim Rückgang der Leistung auf zwei Drittel unverändert geblieben. Erst als in der letzten Dunkelperiode der Gasstrom abgestellt wurde und der Kohlensäuregehalt des die Blätter umgebenden Gases sich stark erhöhte, begannen die Blätter zu leiden, sie bekamen braune Flecken; das Verderben des Versuchsobjektes in der letzten Beobachtungszeit störte schließlich die Bestimmung von $\frac{CO_2}{O_2}$.

Im vierten Versuch war das Gas noch sauerstoffärmer (0.23 % Sauerstoff).

Nach Belichtung von 1½ Stdn. war die CO₂-Differenz 3.34 ccm, die Sauerstoff-Differenz ebenfalls 3.34 ccm für 166.30 ccm Gas, der Koeffizient daher 1.00.

Fünfter und sechster Versuch, mit *Cyclamen europaeum*, einem gegen Sauerstoffmangel widerstandsfähigen Objekt. Angewandt 20 g Blätter, Versuchsbedingungen 25°, Beleuchtung 22000 Lux, 7 Vol.-Proz. CO₂ enthaltender Stickstoff. Nach einstündigem Durchströmen im Dunkeln enthielten 166.30 ccm Gas 12.77 ccm CO₂ und 0.01 ccm O₂, nach 1½ Stdn. der Belichtung 7.97 ccm CO₂ und 4.75 ccm O₂. Der assimilatorische Koeffizient war 1.01.

Im folgenden Versuche befand sich dieselbe Pflanze 2 Stdn. im sauerstoff-freien Gasraum, ehe die Belichtung von 1 Stde. begann. Nach der ersten volumetrischen Analyse ließen wir im Dunkeln weitere 4 Stdn. das sauerstoff-freie Gas durchströmen und belichteten abermals 1½ Stunden bis zur nächsten volumetrischen Bestimmung. Die stündliche Leistung in der ersten Periode war 0.064 g, in der zweiten 0.053 g CO₂ für 10 g Blätter. Der Koeffizient war nach der ersten Analyse 1.01, nach der zweiten 1.00.

Siebenter Versuch, bei 35° mit *Sambucus nigra*.

Der assimilatorische Koeffizient bei 35°.

(7 g Blätter von *Sambucus nigra*, 6½ Vol.-Proz. CO₂, ungefähr 45000 Lux.)

Belichtungs- dauer	CO ₂ -Diffe- renz (für 200.30 ccm Gas) ccm	O ₂ -Diffe- renz (für 200.30 ccm Gas) ccm	CO ₂ O ₂	Stündlich assimiliertes CO ₂ (g)	
				im Versuch	von 10 g Sambucus
1 Stde.	4.07	4.11	0.99	0.115	0.164
2 Stdn.	2.95	2.94	1.00	0.082	0.119
4½ »	2.23	2.24	1.00	0.063	0.090

Durch die hohe Versuchstemperatur war der assimilatorische Apparat des Blattes geschädigt, so daß die Leistung rasch zurückging; auch unter diesen Umständen ist der Koeffizient 1.00 geblieben.

Achter Versuch, bei 10° mit *Aesculus Hippocastanum*.

Die Herabsetzung der Assimilation durch die niedrige Temperatur bedingt keine Erhöhung des Koeffizienten.

Der Koeffizient bei niedriger Assimilationstemperatur (10°).

(6 g Blätter von *Aesculus Hippocastanum*, 5 Vol.-Proz. CO₂, ungefähr 45000 Lux.)

Belichtungs- dauer	CO ₂ -Diffe- renz (für 200.3 ccm Gas) ccm	O ₂ -Diffe- renz (für 200.3 ccm Gas) ccm	CO ₂ O ₂	Stündlich assimiliertes CO ₂ (g)	
				im Versuch	von 10 g Aesculus
½ Stde.	0.88	0.90	0.98	0.023	0.038
2 Stdn.	1.20	1.19	1.01	0.031	0.052
3¼ »	1.12	1.12	1.00	0.029	0.048

Neunter Versuch. Da die Messungen von Bonnier und Mangin bei einer Anzahl von Pflanzen, namentlich bei *Ilex aquifolium*, von der Zahl 1 bedeutend abweichende Koeffizienten ergeben haben, so ist ein Versuch unter den oben verzeichneten Bedingungen gerade mit dieser Pflanze ausgeführt worden, weil hinsichtlich des Stoffwechsels ihr lederartiges Blatt einen Über-

gang zwischen dem normalen Laubblatt und dem fleischigen Blatt der Succulenten darzubieten scheint¹⁾.

Die Blätter (im Juli) waren vorjährige und noch älter; angewandt wurden 13 g Frischgewicht mit 350 qcm Fläche und 5.33 g Trockengewicht. Die Assimilation wurde 3 Stdn. lang bis zu starkem Rückgang der Leistung gemessen.

Der assimilatorische Koeffizient (*Ilex aquifolium*, 25°).

(13 g Blätter, 5 Vol.-Proz. CO₂, ungefähr 45000 Lux.)

Belichtungs dauer	CO ₂ -Diffe- renz (für 200.3 ccm Gas) ccm	O ₂ -Diffe- renz (für 200.3 ccm Gas) ccm	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	Stündlich assimiliertes CO ₂ (g)	
				im Versuche	von 10 g Ilex
$\frac{3}{4}$ Stdn.	3.65	3.65	1.00	0.096	0.074
3 »	2.70	2.70	1.00	0.071	0.055

Der assimilatorische Koeffizient bei den Succulenten.

Bei der Assimilation der Succulenten werden bekanntlich zu tiefe Werte von $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ gefunden, weil diese Pflanzen in der nächtlichen Atmung einen bedeutenden Vorrat an organischen Säuren bilden, um denselben am Tageslicht aufzuzehren. Die Succulenten sind eingerichtet, möglichst wenig Wasser durch Transpiration zu verlieren; die Fläche der oberirdischen Organe ist verkleinert, die Spaltöffnungen wenig zahlreich. Dadurch wird andererseits der Eintritt des Kohlendioxyds (wie des Sauerstoffs) in die pflanzlichen Gewebe erschwert, und die Pflanze ist darauf angewiesen, Atmungskohlensäure einzusparen. Die Verarbeitung der nicht flüchtigen organischen Säuren am Lichte bedingt ein Plus von Sauerstoff im Verhältnis zu der von außen aufgenommenen Kohlensäure. Die Bestimmung des assimilatorischen Koeffizienten stößt also bei den Succulenten auf die Schwierigkeit, daß die assimilatorische Leistung unrichtig erfaßt wäre, wenn man sie nur gemäß der Absorption von Kohlensäure bestimmen würde. Es sollte nun versucht werden, mit unserer Methode für die Bestimmung des Koeffizienten bei gesteigerter und langdauernder Assimilation den Einfluß der inneren Kohlensäure-Zufuhr und der äußeren zu unterscheiden, ferner ersteren herabzumindern, um den Assimilationskoeffizienten wenigstens annähernd zu bestimmen.

¹⁾ Vergl. L. Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 3. Aufl., S. 260 [1913].

Die gesamte Assimilation der Succulenten ergibt sich in der beschriebenen Versuchsanordnung aus der Sauerstoff-Differenz des Gasstroms im Dunkelvorsch und im Licht, die Assimilation auf Kosten der äußeren Kohlensäure ergibt sich aus der entsprechenden Kohlendioxyd-Differenz und die Assimilation auf Rechnung innerer Kohlensäure-Versorgung aus dem Unterschied zwischen jenen beiden Assimilationswerten. Es gelingt bei stundenlanger Dauer des Versuchs dadurch, daß der Vorrat an Pflanzensäuren aufgebraucht wird, den Koeffizienten, der zu Anfang den Scheinwert $\frac{2}{3}$ oder sogar $\frac{1}{3}$ (wie wenn Kohlendioxyd zu Methan reduziert würde) hat, der theoretischen Zahl immer näher zu rücken, z. B. auf 0.85 und 0.89 und so zu zeigen, daß die Assimilationsreaktion bei den Succulenten keine Ausnahme darstellt. Wie bedeutend der Anteil der im Innern gebildeten Kohlensäure an der assimilatorischen Versorgung der Succulenten ist, zeigt folgende Tabelle, in der die innere und die äußere Kohlensäure-Zufuhr zu Anfang und im Verlaufe der Belichtung verglichen wird.

• Assimilation auf Rechnung äußerer und innerer Kohlensäure-Versorgung bei Succulenten.
(25—35°, 5 Vol.-Proz. CO₂, ungefähr 45000 Lux.)

Phyllocactus (60 g)			Opuntia (170 g)		
Belichtungs- dauer	Stündliche Assimilation		Belichtungs- dauer	Stündliche Assimilation	
	äußeres CO ₂ g	inneres CO ₂ g		äußeres CO ₂ g	inneres CO ₂ g
1/2 Stde.	0.037	0.019	1/2 Stde.	0.056	0.027
1 3/4 Stdn.	0.039	0.018	4 Stdn.	0.056	0.014
3 »	0.037	0.015	5 1/2 Stdn.	0.049	0.006
Von 25° auf 35° gesteigert			12 Stdn. verdunkelt, auf 30° gesteigert		
1/2 Stde.	0.042	0.017	1/2 Stde.	0.029	0.037
2 1/2 Stdn.	0.039	0.007	2 Stdn.	0.034	0.033
—	—	—	6 »	0.024	0.004

Da die Versuche mit verschiedenen Succulenten ein sehr ähnliches Bild geben, soll hier nur ein Beispiel angeführt werden.

Versuch mit Opuntia; die Cactee war zuvor anderthalb Tage unter Luftzutritt im Dunkeln in feuchtes Papier und Tuch eingehüllt. Die Belichtung begann, nachdem die Atmung 13 Stunden beobachtet war und die Analyse bestätigt hatte, daß zwischen der großen Menge Pflanzensubstanz und der angewandten Atmosphäre Gasausgleich eingetreten war. Die erste Belichtung bei 25° dauerte ununterbrochen

10 Stunden, nach einer Ruhepause von 17 Stunden im Dunkeln wurde abermals 6 Stunden belichtet, diesmal bei 30°.

In der ersten Belichtungszeit erhob sich der Koeffizient zu dem Wert 0.89. Nach der Pause und der Temperatursteigerung überwog der Verbrauch von aufgespeicherter Säure sogar die Absorption aus kohlenensäure-reicher Atmosphäre. Der scheinbar assimilatorische Koeffizient hat daher an diesem Punkt des Versuches den tiefsten Wert, von welchem das Verhältnis $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ in 6 Stunden infolge des Nachlassens der inneren Kohlenensäure-Versorgung wieder auf 0.85 anstieg.

Der assimilatorische Koeffizient bei *Opuntia*.

(170 g Sprosse, 25° und 30°, 5 Vol.-Proz. CO₂, ungefähr 45000 Lux.)

Belichtungs- dauer	CO ₂ - Differenz (für 200.30 ccm (Gas ccm	O ₂ - Differenz (für 200.3 ccm (Gas ccm	$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$	Stündlich assimiliertes CO ₂ (g) für 10 g Blatt		
				im Versuch aus der O ₂ - Differenz ber.	aus der CO ₂ - Differenz ber.	aus der O ₂ - Differenz ber.
1/2 Stde.	2.00	2.98	0.67	0.083	0.0033	0.0049
4 Stdn.	2.00	2.50	0.80	0.070	0.0033	0.0041
5 1/2 Stdn.	1.75	1.96	0.89	0.055	0.0029	0.0032
10 »	1.45	—	—	—	0.0024	—
12 Stdn. Verdunklung, Steigerung auf 30°, 5 Stdn. Atmungsvers.						
Wieder 1/2 Stde.	1.05	2.37	0.44	0.066	0.0017	0.0039
» 2 Stdn.	1.23	2.42	0.51	0.067	0.0020	0.0039
» 6 »	0.86	1.01	0.85	0.028	0.0014	0.0016

Ergebnis.

In gesteigerter und langdauernder Assimilation bei Temperaturen von 10—35° bleibt der Quotient $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ konstant, und er beträgt genau 1; der gesamte Sauerstoff des Kohlendioxyds wird also in der Assimilation entbunden. Das trifft auch für Fälle zu, die bisher für Ausnahmen galten. Auch wenn der assimilatorische Apparat der Blätter überanstrengt wird, so daß die Leistung scharf zurückgeht, sei es infolge der Anhäufung von Assimilaten oder durch Ermüdung des enzymatischen Systems, so wird dadurch doch im assimilatorischen Gaswechsel keine Anomalie herbeigeführt, und sie läßt sich auch nicht erzwingen. Es ist daher nicht möglich, daß ein Zwischenglied der Desoxydation frei vorkommt.

In der nachstehenden Untersuchung wird gezeigt, daß kolloides Chlorophyll mit Kohlendioxyd ein dissoziierendes Additionsprodukt bildet. Auf diese Beobachtung gründet sich eine Erklärung der Assimilation: das absorbierte Licht leistet im Chlorophyll-Molekül selbst, dessen Bestandteil die Kohlensäure durch ihre Anlagerung an den Magnesiumkomplex wird, seine chemische Arbeit, indem es durch eine Neugruppierung der Valenzen die Kohlensäure in eine für freiwilligen Zerfall geeignete Form isomerisiert.

Es läßt sich durch die Bestimmung des assimilatorischen Koeffizienten nicht entscheiden, ob am Chlorophyll selbst in einem Hube die Umwandlung der Kohlensäure unter Energieaufnahme erfolgt oder in mehreren Stufen, aber es ist zu schließen, daß das Chlorophyll erst dann, wenn aus einem Molekül Kohlendioxyd der gesamte Sauerstoff entbunden worden ist, für die Aufnahme und Umformung eines neuen Moleküls Kohlensäure frei wird.

232. Richard Willstätter und Arthur Stoll: Über das Verhalten des kolloiden Chlorophylls gegen Kohlensäure. (Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure, dritte vorläufige Mitteilung¹⁾).

[Aus dem Chem. Labor. der Kgl. Akademie der Wissenschaften zu München.]

(Eingegangen am 1. Oktober 1917.)

Bildung einer dissoziierbaren Kohlensäure-Verbindung des Chlorophylls²⁾.

Die Lösungen von Chlorophyll in organischen Solvenzien reagieren nicht mit Kohlensäureanhydrid; bei vergleichsweiser Bestimmung der Absorption des Gases in reinem Alkohol und in alkoholischen Chlorophyll-Lösungen zeigt sich keine Erhöhung der Löslichkeit

¹⁾ Die noch unvollständigen ersten Versuche über die Bildung der dissoziierbaren Kohlensäure-Verbindung des Chlorophylls sind in den Sitzungsberichten der Preuß. Akad. d. Wissensch. 1915, 322 und zwar S. 338 in Kürze beschrieben worden. Die vorliegende Mitteilung gibt auszugsweise, unter Verzicht auf die Beschreibung der Arbeitsmethode und andere experimentelle Einzelheiten, die Ergebnisse der Arbeit wieder, die in den »Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure« (Verlag von J. Springer, Berlin) als IV. Abhandlung (S. 226—314) veröffentlicht wird.

²⁾ Die Absorption von Kohlensäure durch kolloides Chlorophyll wurde vor kurzem ohne Berücksichtigung unserer in den Sitzungsberichten der Preußischen Akademie veröffentlichten Mitteilung in einer Arbeit von R.