

95. Die Fraktionierung der natürlichen Kohlenstoffisotopen im Kohlendioxydstoffwechsel grüner Pflanzen

von Peter Baertschi.

(25. III. 53.)

1. Einleitung.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit¹⁾ wurde festgestellt, dass die Absorption von $^{12}\text{CO}_2$ durch Alkalilösungen bei Raumtemperatur um den Faktor 1,014 mal schneller erfolgt als diejenige von $^{13}\text{CO}_2$. Eine entsprechende Isotopenfraktionierung von ähnlicher Grössenordnung ist qualitativ auch bei der Assimilation des Luft- CO_2 durch Landpflanzen festgestellt worden²⁾. Es ist nun einerseits von Interesse, die beiden Fraktionierungseffekte quantitativ miteinander zu vergleichen; andererseits ist die Kenntnis des bei der Assimilation wirksamen Fraktionierungsfaktors (Verhältnis der Assimilationsgeschwindigkeiten von $^{12}\text{CO}_2$ und $^{13}\text{CO}_2$) von Bedeutung für die Diskussion der Gründe, die zu den beobachteten Variationen im ^{13}C -Gehalt von Kohlenstoff organischen Ursprungs führen.

Für die Assimilation von gelöstem CO_2 durch einzellige Algen fand Urey³⁾ einen Fraktionierungsfaktor von 1,029. Aus Angaben von Calvin & Weigl⁴⁾ folgt ebenfalls für Algen ein solcher von 1,027. Erwartungsgemäss ist bei der Assimilation eines Gemisches von $^{12}\text{CO}_2$ und $^{14}\text{CO}_2$ der entsprechende Fraktionierungsfaktor wesentlich grösser. Versuchsergebnisse von Weigl & Calvin⁵⁾ führen im Falle von Algen zu Fraktionierungsfaktoren zwischen 1,12 und 1,14. Dagegen ergibt sich aus den für Gerstenblätter mitgeteilten Ergebnissen von Weigl et al.⁶⁾ ein noch bedeutend grösserer Wert von $1,20 \pm 0,05$.

Die erwähnten, aus Untersuchungen der letzten Jahre ableitbaren Fraktionierungsfaktoren erlauben aber noch keine quantitative Angabe der im Falle von Landpflanzen zwischen $^{12}\text{CO}_2$ und $^{13}\text{CO}_2$ auftretenden Isotopenfraktionierung. Einerseits können nämlich zwischen der Assimilation von gelöstem CO_2 und solchem aus Luft Unterschiede bestehen, die sich auf den Fraktionierungsfaktor auswirken und somit eine direkte Übertragung der für Algen gefundenen Werte auf Landpflanzen nicht gestatten. Die Existenz eines derartigen

¹⁾ P. Baertschi, *Helv.* **35**, 1031 (1952).

²⁾ A. O. Nier & E. A. Gulbransen, *Am. Soc.* **61**, 697 (1939). H. Craig, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **3**, 53, (1953).

³⁾ H. C. Urey, *Science* **108**, 489 (1948).

⁴⁾ M. Calvin & J. W. Weigl, zitiert nach *Chem. Abstr.* **46**, 8538 (1952).

⁵⁾ J. W. Weigl & M. Calvin, *J. Chem. Phys.* **17**, 210 (1949).

⁶⁾ J. W. Weigl, P. M. Warrington & M. Calvin, *Am. Soc.* **73**, 5058 (1951).

Unterschiedes wird sogar durch die erwähnten, mit ^{14}C erhaltenen Ergebnisse angedeutet. Andererseits lässt der an Gerstenblättern gefundene Faktor von 1,20 für die Fraktionierung eines $^{12}\text{CO}_2$ - $^{14}\text{CO}_2$ -Gemisches auch nur ganz ungefähre Rückschlüsse auf den im Falle eines $^{12}\text{CO}_2$ - $^{13}\text{CO}_2$ -Gemisches zu erwartenden Fraktionierungsfaktor zu¹⁾.

In der vorliegenden Arbeit wird der Versuch unternommen, den bei der Assimilation von Luft- CO_2 durch Landpflanzen wirksamen Fraktionierungsfaktor durch entsprechende Untersuchungen an Bohnen²⁾ direkt zu messen.

2. Fraktionierungseffekte bei der Atmung keimender Bohnen.

Zur Ermittlung des bei der Assimilation wirksamen Fraktionierungsfaktors sollte auch der bei der Atmung möglicherweise auftretende Fraktionierungseffekt bekannt sein, doch scheinen diesbezügliche Untersuchungen noch nicht vorzuliegen. In unserm Fall ist die Feststellung der bei der Atmung keimender Bohnen auftretenden Isotopenfraktionierung zur Auswertung des im folgenden beschriebenen Assimilationsversuchs unerlässlich, weil die Menge des aus den Keimblättern der ursprünglichen Bohne stammenden, im Keimling fixierten Kohlenstoffs nicht vernachlässigbar ist gegen die in der Folge durch Assimilation aufgenommene Kohlenstoffmenge.

Die mengenmässige Aufteilung des aus keimenden Bohnen mobilisierten Kohlenstoffs zwischen ausgeatmetem CO_2 und Keimlingen, sowie die Unterschiede im $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis zwischen den an Reservestoffen verarmten Keimblättern, den Keimlingen und dem ausgeatmeten CO_2 wurden folgendermassen bestimmt:

In einer liegenden, mit Gummistopfen versehenen Weithalsflasche von 1000 cm^3 Inhalt wurde eine Serie (Nr. 1) von 11 vorgequollenen Bohnen mit bekanntem Lufttrockengewicht in feuchtem Sand bei etwa 30° zum Keimen gebracht. Die Flasche befand sich in einem durch eine Membranpumpe angetriebenen Luftkreislaufsystem, in welches zur ständigen Absorption des ausgeatmeten CO_2 eine mit gesättigter $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -Lösung beschickte Waschflasche geschaltet war. Die Ergänzung des bei der Atmung verbrauchten Sauerstoffs erfolgte automatisch aus einem unter Normaldruck stehenden Sauerstoffreservoir (Gummibläse) über ein auf wenige mm Hg Druckdifferenz ansprechendes Quecksilberventil. Der Luftstrom im Kreislaufsystem betrug etwa $10 \text{ cm}^3/\text{sec}$. Nach 4 Tagen wurde der im Dunkeln durchgeführte Versuch abgebrochen; die gekeimten Bohnen wurden bei 110° getrocknet, die Keimlinge und die an Reservestoffen verarmten Keimblätter voneinander getrennt, gewogen und anschliessend pulverisiert. Eine andere Serie (Nr. 2) gleichartiger Bohnen wurde in gleicher Weise bei 110° getrocknet, um den hierbei auftretenden prozentualen Gewichtsverlust zu bestimmen. Auf diese Weise konnte das bekannte Lufttrockengewicht der ungekeimten Bohnen von Serie Nr. 1 auf das nach der Trocknung bei 110° zu erwartende Gewicht umgerechnet werden. Die Bohnen von Serie Nr. 2 wurden nach der Trocknung ebenfalls pulverisiert und zur Messung des $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnisses in den ursprünglichen, noch ungekeimten Bohnen verwendet.

¹⁾ F. E. Wickman, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **2**, 243 (1952).

²⁾ Buschbohne „La Victoire“.

Die Gewinnung des für die Isotopenanalyse erforderlichen reinen CO_2 erfolgte durch Verbrennung der Pflanzenpulver (Proben von ca. 60 mg) mit der von *Van Slyke & Folch*¹⁾ angegebenen Oxydationslösung ($\text{Oleum} + \text{CrO}_3 + \text{HJO}_3 + \text{H}_3\text{PO}_4$). Das entstehende CO_2 wurde durch flüssige Luft ausgefroren und durch wiederholtes Verdampfen (bei -78°) und Kondensieren (bei -185°) gereinigt. Verschiedene Bestimmungen des pro mg Pflanzenpulver entwickelten CO_2 -Volumens führten zu einem Kohlenstoffgehalt von $41 \pm 1\%$.

Aus dem beim Atmungsexperiment gefällten BaCO_3 wurde durch Säurebehandlung direkt reines CO_2 für die massenspektrometrische Isotopenanalyse²⁾ gewonnen.

Die Ergebnisse des Atmungsexperimentes sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Kolonne 1 gibt die Herkunft des kohlenstoffhaltigen Materials, dessen $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis bestimmt werden soll, an. Kolonne 2 enthält die beim Atmungsexperiment eingesetzten und erhaltenen Substanzmengen (Gewicht nach der Trocknung bei 110°), sowie die jeweils darin enthaltene Menge an Kohlenstoff (berechnet). Kolonne 3 enthält die gemessenen $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnisse und Kolonne 4 die relativen Abweichungen Δ der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnisse von demjenigen in den ursprünglichen, ungekeimten Bohnen, und zwar ausgedrückt in ‰ .

Tabelle 1.

Fraktionierung der C-Isotopen bei der Atmung keimender Bohnen.

Herkunft des kohlenstoffhaltigen Materials	Mengen (g)		$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	Δ $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (‰)
	Trocken- substanz	Gehalt an C		
Ursprüngliche Bohnen	5,40	2,20	0,011071	0,0
Keimlinge mit Wurzeln	1,12	0,46	0,011080	+0,8
Ausgeatmetes CO_2 (BaCO_3)	6,90	0,42	0,011077	+0,5
Restliche Reservestoffe (Keimblätter)	3,20	1,31	0,011081	+0,9

Aus Tabelle 1 geht als wichtigstes Ergebnis hervor, dass bei der Atmung keimender Bohnen praktisch keine Isotopenfraktionierung des Kohlenstoffs auftritt. Keimlinge, ausgeatmetes CO_2 und die nach Beendigung des Versuchs übriggebliebenen Keimblätter zeigen innerhalb der Fehlergrenze von $\pm 0,3\text{‰}$ dasselbe $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis³⁾. Das für das ausgeatmete CO_2 angegebene $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis stellt einen Mittelwert aus 4 an aufeinanderfolgenden Tagen entnommenen BaCO_3 -Fraktionen dar, deren Isotopenverhältnis aber nur innerhalb von $\pm 0,2\text{‰}$ streute. Aus den in Kolonne 2 wiedergegebenen Kohlenstoffmengen folgt, dass in unserem Versuch 52% des mobilisierten Kohlenstoffs im Keimling fixiert und 48% als CO_2 ausgeatmet wurden.

Die Feststellung, dass die Keimung von Bohnen und die damit verbundene Atmung keine Fraktionierung der Kohlenstoffisotopen zur Folge hat, ist von einigem Interesse. Der fehlende Isotopeneffekt bei der Keimung kann z. B. dadurch erklärt werden, dass der enzymatische Abbau der Stärkekörner nur von deren Oberfläche her erfolgt,

1) *D. D. Van Slyke & J. Folch*, *J. Biol. Chem.* **136**, 509 (1940).

2) Massenspektrometer Consolidated-Nier 21—201.

3) Da das Isotopenverhältnis der ursprünglichen Bohnen an einer andern Serie (Nr. 2) gemessen wurde, kann das um ca. $0,7\text{‰}$ niedrigere Verhältnis auf entsprechenden kleinen Unterschieden zwischen den einzelnen Bohnen des verwendeten Sortiments beruhen.

unter vollständiger Hydrolyse der jeweils blossliegenden Glucosidbindungen. Würde dagegen die Hydrolyse der Stärke als eine über das ganze Stärkereservoir verteilte Gleichgewichtsreaktion erfolgen, so wäre eine Isotopenfraktionierung bei der Keimung grundsätzlich möglich. Die Tatsache, dass das ausgeatmete CO_2 genau dieselbe Isotopenzusammensetzung besitzt wie der Keimling, besagt offenbar, dass der Oxydationsprozess mit gleicher Wahrscheinlichkeit an den bezüglich Kohlenstoff isotopen Substratmolekeln angreift.

3. Bestimmung des bei der Assimilation wirksamen Fraktionierungsfaktors.

Als Fraktionierungsfaktor α bezeichnen wir das Verhältnis der Assimilationsgeschwindigkeiten von $^{12}\text{CO}_2$ (k_1) und $^{13}\text{CO}_2$ (k_2), also

$$\alpha = k_1/k_2. \quad (1)$$

Wir nehmen nun an, dass eine belichtete Pflanze einem CO_2 -haltigen Luftstrom mit konstantem $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis (R_G) ausgesetzt werde. Der Luftstrom sei so intensiv, dass praktisch keine Veränderung seines $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnisses durch den Assimilationsprozess eintrete. Im stationären Zustand werden pro cm^2 und sec m Mole CO_2 (wovon m_1 Mole $^{12}\text{CO}_2$ und m_2 Mole $^{13}\text{CO}_2$) durch Assimilation aus der strömenden Luft aufgenommen, welche ihrerseits c_1 Mol/l $^{12}\text{CO}_2$ und c_2 Mol/l $^{13}\text{CO}_2$ enthalte ($R_G = c_2/c_1$). Der assimilierte Kohlenstoff besitze das $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis $R_P = m_2/m_1$. Es gilt dann:

$$m_1 = k_1 \cdot c_1; m_2 = k_2 \cdot c_2 \text{ oder } R_P = m_2/m_1 = k_2/k_1 \cdot c_2/c_1 = 1/\alpha \cdot R_G$$

und daraus

$$\alpha = R_G/R_P. \quad (2)$$

Für das Folgende ist es vorteilhaft, den relativen Unterschied zwischen R_G und R_P einzuführen, also die Grösse

$$\delta = (R_G - R_P)/R_P.$$

Damit wird der Fraktionierungsfaktor

$$\alpha = 1 + \delta. \quad (2a)$$

Da in unserm Fall $\delta \ll 1$ ist und die relative Häufigkeit von ^{12}C (98,9%) als konstant angesehen werden kann, gibt die Grösse δ direkt auch den Unterschied im relativen ^{13}C -Gehalt zwischen zugeführtem CO_2 und dem durch Assimilation fixierten Kohlenstoff an.

Auf Grund des beschriebenen Atmungsexperimentes dürfen wir annehmen, dass bei der Atmung der Pflanzen keine zusätzliche Fraktionierung der Kohlenstoffisotopen auftritt. In erster Näherung liesse sich daher der Fraktionierungsfaktor α gemäss (2) durch Messung der $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnisse im zugeführten CO_2 (R_G) und in dem die Pflanze aufbauenden Kohlenstoff ($\sim R_P$) bestimmen.

Im Falle der hier verwendeten Bohnen ist nun aber zu berücksichtigen, dass ein Teil des die Pflanze aufbauenden Kohlenstoffs von

den Keimblättern der ursprünglichen Bohnen geliefert wurde, deren relativer ^{13}C -Gehalt im allgemeinen etwas verschieden sein wird von demjenigen des durch Assimilation aufgenommenen Kohlenstoffs. Die Anbringung einer entsprechenden Korrektur wird durch den Umstand erschwert, dass ein Teil des aus den Keimblättern stammenden, in der Pflanze fixierten Kohlenstoffs im Verlaufe des Wachstums der Pflanze wieder veratmet wird. Diesem Umstand lässt sich aber dann Rechnung tragen, wenn Menge und relativer ^{13}C -Gehalt des gesamten während des Wachstums ausgeatmeten Kohlenstoffs gemessen wird.

Bezüglich des Kohlenstoff-Haushaltes gilt folgende Mengen-Bilanz:

$$\begin{array}{ccccccc} \text{A} & + & \text{B} & - & \text{D} & = & \text{E} & (3) \\ \text{aus den Keim-} & & \text{total} & & \text{veratmet} & & \text{in der Pflanze} & \\ \text{blättern} & & \text{assimiliert} & & & & \text{vorhanden} & \end{array}$$

Bezeichnen wir den relativen ^{13}C -Gehalt in den ursprünglichen Keimblättern mit γ , so gilt für den Umsatz an ^{13}C die zu (3) analoge Bilanz:

$$\text{A} \cdot \gamma + \text{B}(\gamma + \delta_{\text{B}}) - \text{D}(\gamma + \delta_{\text{D}}) = \text{E}(\gamma + \delta_{\text{E}}). \quad (4)$$

Darin bedeuten die Grössen δ_{B} , δ_{D} , δ_{E} die in den entsprechenden, oben erwähnten Kohlenstoffarten vorhandenen kleinen Unterschiede im relativen ^{13}C -Gehalt gegenüber dem relativen Gehalt γ der ursprünglichen Keimblätter.

Aus (4) ergibt sich unter Berücksichtigung von (3):

$$\text{B} \cdot \delta_{\text{B}} - \text{D} \cdot \delta_{\text{D}} - \text{E} \cdot \delta_{\text{E}} = 0. \quad (5)$$

Damit wird der zunächst gesuchte Überschuss im relativen ^{13}C -Gehalt des assimilierten Kohlenstoffs über den relativen ^{13}C -Gehalt in den ursprünglichen Keimblättern:

$$\delta_{\text{B}} = (\text{D} \cdot \delta_{\text{D}} + \text{E} \cdot \delta_{\text{E}}) / \text{B}. \quad (6)$$

Bezeichnen wir noch den Überschuss im relativen ^{13}C -Gehalt des zugeführten CO_2 über den relativen ^{13}C -Gehalt γ der als Standard gewählten ursprünglichen Bohnen mit δ_{G} , so ergibt sich der gesuchte Fraktionierungsfaktor α für die Assimilation unter Verwendung von (2a) zu

$$\alpha = 1 + \delta = 1 + (\delta_{\text{G}} - \delta_{\text{B}}). \quad (7)$$

Durchführung des Assimilationsversuchs: In einer 1000 cm³ Weithalsflasche wurden auf einem etwa 4 cm hohen, mit Nährlösung getränkten Boden aus Sand und Bimstein (Korngrösse ca. 2 mm) zwei Bohnen nach Keimen und Wachsen gebracht. Nach achttägigem Verweilen an einem schlecht beleuchteten Ort war das erste Blattpaar der beiden Pflanzen genügend entwickelt, so dass die an Reservestoffen bereits stark verarmten Keimblätter entfernt werden konnten. Nun wurde die Flasche durch einen mit verschiedenen Zuführungen versehenen Gummistopfen verschlossen und ein Luftstrom von etwa 20 cm³/sec. hindurchgeleitet, so dass die Atmosphäre in der Flasche ungefähr alle Minuten erneuert wurde. In einem vorgeschalteten Absorptionsturm wurde dieser Luftstrom durch Waschen mit 30-proz. NaOH vollständig von CO_2 befreit, Laugennebel wurden durch eine Glaswolle-schicht entfernt, und unmittelbar vor dem Eintritt der Luft in die Wachstumsflasche wurden 0,5% CO_2 von genau definiertem $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis aus einer Bombe zugemischt.

Die Bohnen wurden mit einer Glühlampe von 200 W im Abstand von etwa 15 cm durch eine 5 cm dicke Kaltwasserschicht hindurch beleuchtet, wobei Lampe, Küvette und Wachstumsflasche zur Erhöhung der Lichtausbeute von weissem Papier umgeben waren. Die photosynthetisch wirksame Beleuchtungsstärke dürfte so etwa 50000 lux betragen haben. Die Belichtung erfolgte durchschnittlich 10 Std/Tag während total 16 Tagen. Die Bodentemperatur betrug während der Assimilation rund 30°. Das während der Dunkelperioden von durchschnittlich 14 Std/Tag ausgeatmete CO₂ wurde, wie beim Atmungsversuch beschrieben, als BaCO₃ aufgefangen.

Nach 16 Tagen waren die etwa 15 cm hohen Pflanzen mit je 3 ausgebildeten Blatt-paaren durch die Flasche so eingeeengt, dass der Versuch abgebrochen werden musste. Beide Pflanzen, sowie die vor Beginn der Assimilation abgeschnittenen Keimblätter wurden bei 110° getrocknet, gewogen und pulverisiert.

Die Darstellung von reinem CO₂ aus den Pflanzenpulvern und dem gefällten BaCO₃ erfolgte wie unter Abschnitt 2 angegeben. Zur Untersuchung des ¹³C/¹²C-Verhältnisses in den ursprünglichen Bohnen dienten wiederum andere Bohnen aus dem gleichen Sortiment, an denen, wie beim Atmungsversuch beschrieben, auch zugleich der mit der Trocknung bei 110° verbundene relative Gewichtsverlust bestimmt wurde.

Die Ergebnisse des Assimilationsversuchs sind in Tabelle 2 wiedergegeben, deren Kolonnen denjenigen von Tab. 1 entsprechen.

Tabelle 2.

Fraktionierung der C-Isotopen bei der Assimilation von CO₂ durch Buschbohnen.

Herkunft des kohlenstoff-haltigen Materials	Mengen (g)		¹³ C/ ¹² C	Δ ¹³ C/ ¹² C ‰
	Trocken-substanz	Gehalt an C		
Ursprüngliche Bohnen	0,73	0,30	0,011073	0,0
Keimblätter (vor Beginn der Assimilation entfernt)	0,32	0,13	0,011072	- 0,1
2 Pflanzen	1,12	0,46	0,010881	- 17,4
Veratmetes CO ₂	1,64	0,10	0,010904	- 15,3
Zugeführtes CO ₂	—	29	0,011133	+ 5,4

Aus Tabelle 2 ergeben sich folgende Zahlenwerte für die in (6) eingehenden Größen: E = 0,46 g, δ_E = -17,4‰, D = 0,10 g, δ_D = -15,3‰, B = E + D - A = 0,47 g. A, die Menge an Kohlenstoff, die den Pflanzen aus den ursprünglichen Bohnen (Keimblättern) zugeführt wurde, dürfte, wie im Atmungsversuch festgestellt, etwa 52% des gesamten, aus den Keimblättern mobilisierten Kohlenstoffs betragen, d. h. 52% von 0,17 g, also 0,09 g.

Mit diesen Werten ergibt (6)

$$\delta_B = -20,2\text{‰},$$

und der gesuchte Fraktionierungsfaktor α wird gemäss (7):

$$\alpha = 1,0256.$$

In unserm Assimilationsexperiment wurden 1,6% des zugeführten CO₂ assimiliert. Entsprechend musste das austretende CO₂ eine ¹³C-Anreicherung von 0,4‰ aufweisen, und das der Pflanze zur Verfügung stehende CO₂ war im Mittel somit um etwa 0,2‰ reicher an ¹³C, als dem in Tabelle 2 angegebenen Messwert entspricht. Eine, wenn in unserm Fall auch schwache Stagnierung der Luft an den Blattoberflächen hätte ebenfalls einen etwas zu kleinen Wert für α zur Folge. Wir erhalten dementsprechend als wahrscheinlichsten Wert für den Fraktionierungsfaktor:

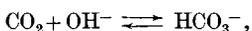
$$\alpha = 1,026 \pm 0,001.$$

Ohne Berücksichtigung des aus den Keimblättern stammenden Anteils an Kohlenstoff in den Pflanzen ergäbe sich ein Fraktionierungsfaktor von 1,0228; die Vernachlässigung der Korrektur, wie sie sich durch die teilweise Veratmung des von den Keim-

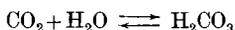
blättern gelieferten Kohlenstoffs ergibt, führt zu dem nur sehr wenig abweichenden Wert von 1,0262.

Der bei der Assimilation von CO_2 durch Bohnen unter den beschriebenen Bedingungen wirksame Fraktionierungsfaktor (1,026) ist also wesentlich grösser als derjenige, welcher die Absorption von CO_2 durch Alkalilösungen begleitet (1,014). Es stellt sich damit sofort die Frage nach den Gründen, die zu diesem Unterschied im kinetisch bedingten Isotopenfraktionierungseffekt der beiden Absorptionsvorgänge führen können.

Zunächst deutet die relativ gute Übereinstimmung des hier gefundenen Fraktionierungsfaktors mit den erwähnten, an Algen erhaltenen Werten darauf hin, dass der Fraktionierungseffekt bei der Assimilation nicht an den Übergang des CO_2 vom Gas in die flüssige Phase gebunden ist, sondern wahrscheinlich erst durch die sich in der flüssigen Phase abspielenden Teilreaktionen des Absorptionsvorgangs hervorgerufen wird. Diese Möglichkeit ist auch im Falle der alkalischen Absorption vorhanden, doch verläuft hier die Bindung des CO_2 (für $\text{pH} > 11$) praktisch ausschliesslich gemäss



während im pflanzlichen Medium ($\text{pH} < 8$) die Reaktion



vorherrscht¹⁾. In Anbetracht dieser verschiedenen Reaktionsweise wäre der beobachtete Unterschied in den Isotopeneffekten der beiden Absorptionsvorgänge durchaus nicht verwunderlich. Dasselbe gilt für den Fall, dass für den Fraktionierungseffekt bei der alkalischen Absorption die um den Faktor 1,011 mal höhere Auftreffwahrscheinlichkeit der leichten $^{12}\text{CO}_2$ -Molekeln auf die Flüssigkeitsoberfläche massgebend wäre²⁾, was für den Fraktionierungseffekt bei der Assimilation gemäss der obigen Feststellung (gleicher Fraktionierungsfaktor bei Wasserpflanzen) ohnehin nicht in Frage kommt. Es ist z. B. auch nicht ausgeschlossen, dass die Fraktionierung der C-Isotopen bei der Assimilation erst beim Einbau des assimilierten CO_2 in die ersten photosynthetischen Verbindungen (wie Phosphoglycerinsäure) erfolgt.

Als weitere, prinzipiell andere Deutungsmöglichkeit für den relativ starken Fraktionierungseffekt bei der Assimilation muss ein hierbei eventuell auftretender Multiplikationseffekt in Erwägung gezogen werden.

Versuchsergebnisse von *Weigl* et al.³⁾ lassen vermuten, dass gleichzeitig mit der Assimilation eine recht intensive Atmung stattfindet, wobei aber ein grosser Teil des entwickelten CO_2 , ohne das Blatt zu verlassen, wieder assimiliert wird. Der ^{13}C -Gehalt dieses im Licht entwickelten CO_2 dürfte gemäss dem in unserem Atmungsexperiment erhaltenen Ergebnis dem ^{13}C -Gehalt der Pflanze ent-

¹⁾ *B. R. W. Pinsent & F. J. W. Roughton*, Trans. Farad. Soc. **47**, 263 (1951).

²⁾ *P. Baertschi*, l. c.

³⁾ *J. W. Weigl, P. M. Warrington & M. Calvin*, l. c.

sprechen. Bei der Re-assimilation findet eine erneute Verarmung an ^{13}C statt, während der an die Atmosphäre abgegebene Anteil der Atmungs- CO_2 eine entsprechende Anreicherung an ^{13}C aufweisen muss. Die quantitative Behandlung eines derartigen Assimilationsmodells, bei dem die eigentliche Assimilation aus der Luft und die Re-assimilation des Atmungs- CO_2 örtlich getrennt und voneinander unabhängig erfolgen soll, führt zum Resultat, dass eine Multiplikation eines Einzeleffektes von 1,014 zu einem Gesamteffekt von 1,026, also um den Faktor 1,012, prinzipiell möglich wäre. Es ergibt sich dabei aber, dass der anzunehmende CO_2 -Haushalt der Pflanzen durchaus nicht mit der Wirklichkeit übereinstimmt. Es zeigt sich, dass unter natürlichen Bedingungen der tatsächliche durch Lichtatmung und Re-assimilation bedingte Multiplikationsfaktor den Wert 1,003 kaum überschreiten dürfte.

Auf Grund des Gesagten ist es also wahrscheinlich, dass der Unterschied der Fraktionierungsfaktoren bei der alkalischen Absorption von CO_2 und bei der Assimilation im wesentlichen mit der Verschiedenheit der Absorptionsvorgänge selbst zusammenhängt. Welche der oben angedeuteten möglichen Ursachen dabei tatsächlich eine Rolle spielen, lässt sich jedoch anhand des vorliegenden Tatsachenmaterials noch nicht entscheiden.

Die relativ gute Übereinstimmung zwischen dem für Bohnen gemessenen Fraktionierungsfaktor (1,026) und den entsprechenden an Algen gewonnenen Werten von *Urey*¹⁾ (1,029) und *Calvin & Weigl*²⁾ (1,027) lässt vermuten, dass der bei der Assimilation wirksame Fraktionierungsfaktor nicht wesentlich durch Art und Wachstumsbedingungen der Pflanzen beeinflusst wird. Das festgestellte Fehlen eines Isotopeneffektes bei der Atmung muss sich in der Natur dahin auswirken, dass der ^{13}C -Gehalt der Pflanzen vom Zeitverhältnis Tag/Nacht unabhängig ist. Diese Betrachtungen führen zum Schluss, dass die beobachteten, relativ grossen Unterschiede im ^{13}C -Gehalt der Pflanzen zur Hauptsache durch die verschiedene Isotopenzusammensetzung des diesen Pflanzen bei der Assimilation zur Verfügung stehenden CO_2 bedingt sind. Zum gleichen Ergebnis gelangte auch *Wickman*³⁾ bei der Diskussion seiner an 105 Pflanzen verschiedenster Art und Herkunft erhaltenen $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ -Verhältnisse, die Schwankungen innerhalb von 26‰ aufweisen. *Wickman* findet im Falle von Landpflanzen die höchsten ^{13}C -Gehalte bei Pflanzen aus windreichen Gegenden (Wüsten), wo die Isotopenzusammensetzung des Luft- CO_2 wohl am ehesten einem mittleren Wert entspricht. Die niedrigsten ^{13}C -Gehalte weisen dagegen diejenigen Pflanzen auf, welche vor allem CO_2 assimilieren, das durch Oxydation von organischem Material entstand (Urwälder). Durch den an solchen Orten

¹⁾ *H. C. Urey*, l. c.

²⁾ *M. Calvin & J. W. Weigl*, l. c.

³⁾ *F. Wickman*, l. c.

auftretenden lokalen Kohlenstoffzyklus kommt also, wie *Wickman* feststellt, eine Multiplikation des mit der Assimilation verbundenen Fraktionierungsfaktors zustande. Unter der Annahme des im vorhergehenden bestimmten Fraktionierungsfaktors von 1,026 wären also Wüstenpflanzen um den Faktor 1,026, Pflanzen aus tropischen Regenwäldern dagegen, gemäss den Ergebnissen von *Wickman*, um etwa 1,04 mal ärmer an ^{13}C als Luft- CO_2 von mittlerer Isotopenzusammensetzung. Die hier auftretende Multiplikation ist demnach wie bei vielen andern bisher bekannten natürlichen Isotopentrennvorgängen relativ schwach und der resultierende Gesamtfractionierungseffekt entspricht im günstigsten Fall etwa der Trennung, die von 2 einzelnen aufeinanderfolgenden Assimilationsprozessen erzielt werden könnte.

Das anhand bisheriger Messungen festgestellte Fehlen eines geologischen Altereffektes in der Isotopenzusammensetzung von organischem Kohlenstoff lässt unter Voraussetzung eines konstanten Fraktionierungsfaktors bei der Assimilation den interessanten Schluss zu, dass auch die mittlere Isotopenzusammensetzung des Luft- CO_2 im Verlaufe der Entwicklungsgeschichte der Pflanzen praktisch keine Änderung erfahren hat.

Zusammenfassung.

Die Fraktionierung der natürlichen Kohlenstoffisotopen bei der Atmung keimender Bohnen sowie bei der Assimilation von CO_2 durch wachsende Bohnen-Pflanzen wird quantitativ untersucht.

Bei der Keimung und Atmung tritt innerhalb der Messgenauigkeit von etwa $\pm 0,3\text{‰}$ des natürlichen $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnisses keine Isotopenfraktionierung auf. Die Assimilation in einer Atmosphäre mit $0,5\text{‰}$ CO_2 bei $25\text{--}30^\circ$ und einer photosynthetisch wirksamen Beleuchtungsstärke von etwa 50000 lux liefert einen Fraktionierungsfaktor von $\alpha = 1,026 \pm 0,001$, um welchen $^{12}\text{CO}_2$ rascher assimiliert wird als $^{13}\text{CO}_2$. Dieser Faktor ist wesentlich grösser als derjenige, welcher die Absorption von CO_2 durch starke Alkalien begleitet (1,014). Die möglichen Gründe für diesen Unterschied werden diskutiert.

Auf Grund der bisher erzielten Resultate ergibt sich, dass der Fraktionierungsfaktor bei der Assimilation von CO_2 nicht stark von der Art der Pflanzen und ihren Wachstumsbedingungen abhängen kann. Unter diesem Gesichtspunkt werden die insbesondere von *Wickman* festgestellten Unterschiede in der Isotopenzusammensetzung von pflanzlichem Kohlenstoff kurz diskutiert.

Herrn Prof. Dr. *W. Kuhn* bin ich für sein förderndes Interesse zu grossem Dank verpflichtet, ebenso Herrn Dr. *H. Huber* von der Botanischen Anstalt für wertvolle Ratschläge. Die Mittel zur Durchführung dieser Untersuchungen wurden zum grössten Teil von der *Eidgenössischen Volkswirtschaftsstiftung* zur Verfügung gestellt, wofür ebenfalls gedankt sei.

Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Basel.