

(Aus dem Staatlichen Institut für Tabakforschung in Krasnodar.)

ÜBER DIE BIOCHEMISCHEN EIGENTÜMLICHKEITEN DES ALTERNS DER LAUBBLÄTTER.

Von

A. I. SMIRNOW,

unter Mitwirkung von P. S. ERYGIN, M. A. DRBOGLAW
und M. TH. MASCHKOWZEW.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. August 1928.)

Die Gesamtheit der biochemischen Vorgänge und ihr Ineinandergreifen in lebenden Zellen ist äußerst verwickelt und bis jetzt experimentell noch wenig aufgeklärt. Es besteht aber schon heute kein Zweifel mehr, daß durch die Fortschritte der letzten Jahre auf dem Gebiete der physikalischen und Kolloidchemie und die neuen Untersuchungen über den Verlauf der fermentativen Reaktionen die Lebensvorgänge sich früher oder später in einzelne Reaktionen aufteilen lassen werden (30, 38, 74, 117, 118).

Der eigenartige Verlauf der Reaktionen in den Organismen und ihre Koordination ist in engster Weise mit den Eigentümlichkeiten der Medien, in denen sie sich abspielen, verbunden. Diese Eigentümlichkeiten werden durch den kolloidalen Zustand der Stoffe, aus denen die Organismen aufgebaut sind, bestimmt (61, 62). Die Adsorption und andere Oberflächenvorgänge, die Quellung, die Diffusion und Osmose sind Vorgänge, die allen Organismen eigen sind; diese Vorgänge bestimmen in erster Linie den Verlauf und die gegenseitige Abstimmung der chemischen Reaktionen in den Zellen. Wird der chemisch-physikalische Zustand der Kolloide gestört, so muß dadurch eine Reihe von Veränderungen in der Richtung und in der Art der Lebensvorgänge eintreten; dieses äußert sich in größerem oder kleinerem Maße in der ganzen Lebens-tätigkeit des Organismus. Der chemisch-physikalische Zustand des kolloidalen Mediums, welcher den Charakter der Reaktionen bestimmt, die sich im Organismus abspielen, kann sowohl als Folge einer äußeren Entwicklung als auch durch eine Anhäufung von Stoffwechselprodukten verändert werden. Der Charakter des Mediums der Organismen und die sich im Organismus abspielenden Reaktionen sind gegenseitig verknüpft und werden gegenseitig voneinander beeinflußt. Mit dem Alter erfolgt

eine Veränderung in beiden Richtungen, sowohl im Charakter des Stoffwechsels als auch in der Zusammensetzung des Mediums.

Der Zusammenhang, der zwischen dem Entwicklungsstadium der Pflanzengewebe und den in diesen Geweben stattfindenden Umwandlungen besteht, kann selbstverständlich an allen den mannigfaltigen Reaktionen, die in den Organismen verlaufen, gegenwärtig nicht verfolgt werden. Wir nahmen uns vor, nur einige Umwandlungen von stickstoffhaltigen und stickstofffreien Stoffen, die sich im lebenden Blattgewebe abspielen, in Zusammenhang mit der Änderung des Alters der Gewebe zu verfolgen; dabei sollte auch die Atmungsenergie als eine der prägnantesten und allgemeinen Lebenserscheinungen nicht außer acht gelassen werden.

Material und Untersuchungsmethoden.

Als Material für die Untersuchung wurden Sonnenblumen- (*Helianthus annuus*) und Tabakblätter (*Nicotiana tabacum*) verwendet. Die Pflanzen wurden im Felde auf Versuchspartellen des Staatlichen Instituts für Tabakforschung erzogen. Die Partellen waren ganz eben und hatten eine Fläche von annähernd $\frac{1}{4}$ Hektar. Auf jeder Partelle wurden etwa 400—700 ganz gleich entwickelte junge Pflanzen durch Umbinden mit einem Bändchen bezeichnet; diese Pflanzen lieferten sodann das Versuchsmaterial während der ganzen Vegetationsperiode. Für jede Probe wurden die Blätter nicht von der ganzen Pflanze, sondern von bestimmten Etagen der Pflanzen verwendet; dadurch wurde die Verwechslung der Blätter von verschiedenem Alter bei den Probenahmen vermieden. Eine jede Probe bestand aus einer großen Anzahl von Blättern, die von zahlreichen Pflanzen stammten; auf diese Weise wurden die individuellen Verschiedenheiten einzelner Pflanzen ausgeschaltet. Von den Sonnenblumen wurden die Blätter um 9—10 Uhr morgens gepflückt, während die Tabakblätter, die zarter sind und deren Gewebe Wasser leichter verdunstet, um $7\frac{1}{2}$ — $8\frac{1}{2}$ Uhr morgens gesammelt wurden. Auf diese Tageszeit fällt annähernd das Assimilationsmaximum (35, 38), doch ist in diesem Moment noch kein bedeutendes Wasserdefizit in den Blättern vorhanden.

Das gesammelte Material wurde mit Wasser übergossen, und sodann wurden mit einer scharfen runden Schablone Scheibchen von bestimmter Größe aus den Blattspreiten ausgeschnitten. Durch Berechnung der ausgeschnittenen Scheibchen konnte rasch die für die Analyse verwendete Blattfläche ermittelt werden. Blattmittelnerven wurden für die Analyse nicht verwendet mit Ausnahme der Tabakblätter im Stadium der Setzlinge; hier unterscheiden sich die Blattmittelnerven nicht stark von den Seitennerven, und ihre Anwesenheit in der Probe ruft in analytischer Beziehung keine großen Differenzen hervor. Zur Ermittlung der Atmungsenergie und der Aktivität von Fermenten wurde das gesammelte Material unmittelbar im frischen Zustand verwendet. Die Bestimmung der Kohlehydrate und N-haltigen Stoffe wurden an konserviertem Material vorgenommen. Zu diesem Zwecke wurde das Material mit siedendem Alkohol übergossen und so in einer Alkohollösung bis zur Analyse aufbewahrt. Nur die N-haltigen Stoffe des Tabaks wurden in frischen Blättern, unmittelbar nachdem sie gesammelt waren, bestimmt. Aus dem gesammelten Material wurden Scheibchen ausgeschnitten, die gleich, nachdem sie gezählt worden waren, mit durchgewaschenem und ge-
glühtem Quarzsand in Gegenwart eines Gemisches von Chloroform und Toluol verrieben wurden. Die Antiseptika gaben wir bei, um die Plasmahüllen besser

zu zerstören und den Inhalt der Zellen besser auszuziehen. Wir sahen von einer Konservierung des Materials für die Analyse durch Trocknen ganz ab, weil beim Trocknen im Material eine Reihe von Veränderungen als Folge des Fermentgehaltes möglich ist. Das Material wurde nur zur Ermittlung der Trockensubstanz getrocknet.

Um das Trocknen zu beschleunigen, ist es sehr nützlich, die Blätter einer kurzen Einwirkung von Chloroformdämpfen (5—10 Minuten) auszusetzen; dadurch werden die Plasmahüllen denaturiert (14, 18) und die Abgabe des Wassers vom Zellsaft erleichtert. Das Trocknen wurde bei Zimmertemperatur (im Nord-Kaukasus erreicht die Zimmertemperatur im Sommer 35° C) in Vakuum-Exsikkatoren über Phosphorsäureanhydrid bei 30—40 mm Luftdruck ausgeführt. Das so getrocknete Material diente nicht nur zur Bestimmung der Trockensubstanz pro Blattflächeneinheit, sondern auch zur Ermittlung seiner vollen Wasserkapazität. Unter Wasserkapazität verstehen wir die Fähigkeit der zerkleinerten, trocknen Blattsubstanz, ihr Gewicht bei bestimmter Luftfeuchtigkeit und Temperatur im Zusammenhang mit der Größe der Saugkraft des Materials zu vergrößern. Zur Bestimmung der Wasserkapazität nahmen wir abgewogene Mengen von trocknen, zerkleinerten Blattspreiten (0,2 g), legten sie in breite Wägegläschen und ließen sie in Vakuum-Exsikkatoren über 10% H₂SO₄ bis zum beständigen Gewicht (5—6 Tage) stehen; in diesen Vakuum-Exsikkatoren über 10% H₂SO₄ betrug die Wasserdampfsättigung der Luft 95%. Um die Entwicklung von Schimmelpilzen auf dem Material in feuchter Luft zu verhindern, wurde es in die Exsikkatorengläschen mit Toluol gestellt. Nachdem das Material im wassergesättigten Zustand abgewogen war, wurde es im Vakuum bei 30—40 mm über Phosphorsäureanhydrid bei einer Temperatur von etwa 30° C bis zum beständigen Gewicht getrocknet. Die Differenz zwischen dem Gewicht des Materials im wassergesättigten und absolut-trocknen Zustand, ausgedrückt in Prozents des absolut trocknen Gewichtes, stellte das Maß der Wasserkapazität der trocknen Blattsubstanz dar.

Die Bestimmung der Wasserkapazität der trocknen Blattsubstanz bei verschiedener Feuchtigkeit des Außenmediums zeigt, daß die Veränderungen der Wasserkapazität durch eine Kurve ausgedrückt werden können (Abb. 1 u. 2), die auch für die Quellung der Kolloide bei gleichen Bedingungen (8, 112) charakteristisch ist. Wird die Wasserkapazität der trocknen Substanz der Blätter verschiedenen Alters bei gleicher Feuchtigkeit und Temperatur des Außenmediums bestimmt, so können wir durch solches Vorgehen eine Vorstellung über die Veränderung der Quellungsfähigkeit der Blattkolloide mit dem Alter der Blätter erhalten. Dabei darf natürlich die Möglichkeit einer Veränderung der Quellungsfähigkeit der Blattkolloide bei der Trocknung nicht außer acht gelassen werden, weil der Quellungsvorgang nur teilweise umkehrbar ist (38, I; 61). Wir mußten uns vorläufig mit einer solchen annähernden Bestimmung der Quellungsfähigkeit der Kolloide des Blattgewebes begnügen, da genaue direkte Methoden zur Bestimmung des chemisch-physikalischen Zustandes der Kolloide in lebenden differenzierten Geweben (deren Quellungsfähigkeit miteinbegriffen) fehlen. Eine vollständige Wassersättigung des lebenden Gewebes mit nachfolgender Trocknung und Ermittlung des Trockengewichts kann auch nicht als eine annehmbare Methode

für die Bestimmung der Quellungsfähigkeit der Kolloide in den Geweben angesehen werden. Die Wassermenge, welche ein differenziertes lebendes Gewebe zu sättigen vermag, hängt nicht allein von der Quellungsfähigkeit seiner Kolloide ab; ein bedeutender Teil des Wassers wird vielmehr je nach der Struktur des Gewebes an dessen innerer und äußerer Oberfläche adsorbiert und auch kapillar in den feinen Poren und als Dampf in den Intercellularen festgehalten. Der Einfluß struktureller Eigentümlichkeiten der Blätter verschiedenen Alters wird beim Arbeiten mit trockenem, gleichartig verarbeitetem Blattmaterial ausgeschaltet.

Um aber der Möglichkeit einer Veränderung der Kolloide des lebenden Gewebes während des Trocknens bei niedriger Temperatur Rechnung zu tragen, haben wir eine Messung des Wassergehaltes des lebenden Blattgewebes im Augenblick der Blattabnahme durchgeführt.

Die Atmungsenergie des Blattgewebes wurde in der üblichen Weise durch Ermittlung der bei der Atmung gebildeten CO_2 -Menge bei 25°C bestimmt. Um etwaige Differenzen im Wasserhaushalt des Blattgewebes von verschiedenem Alter zu beseitigen (20, 39, 112), wurde der Behälter, in dem sich die Blattmasse befand, mit Wasserdämpfen gesättigt.

Wir beseitigten das Wasserdefizit im Versuchsmaterial dadurch, daß das Blattgewebe in Form von ausgeschnittenen runden Blattscheibchen (von 6,29 oder 13,36 qcm) in einer Anzahl von 100—150 Stück für 20—30 Minuten auf destilliertes Wasser gebracht wurde; hier wurden die Blattscheibchen abgewaschen und das Gewebe mit Wasser durchtränkt. Sodann brachten wir das Versuchsmaterial in Glaszylinder von FRESNIUS, in die etwas Wasser eingegossen wurde. Durch die Glaszylinder wurde während $\frac{1}{2}$ Stunde CO_2 -freie und mit Wasser gesättigte Luft durchgeleitet. Sodann schalteten wir in unseren Apparat Zylinder mit titrierter Barytlösung ein, um die bei der Atmung ausgeschiedene CO_2 zu berechnen. Nachdem die Berechnung der Atmung ausgeführt war, wurde das Material im Porzellanmörser mit einem Antiseptikum zerrieben und mit einer zehnfachen Menge von destilliertem Wasser, das auf je 100 Volumen 1 Volum eines Gemisches von Chloroform und Toluol enthielt, extrahiert. Das so erhaltene Gemisch wurde ohne Filtration während 16 Stunden einer Autolyse bei Zimmertemperatur (18 — 20°C) unterzogen. Sodann wurde filtriert und im Filtrat die Aktivität der Peroxydase (für Tabak) und der Katalase (für Sonnenblume) bestimmt. Die Bestimmung der Peroxydase erfolgte unter Anwendung der Pyrogallolmethode (94); Katalase wurde durch Titration nach BACH (2) ermittelt.

Für die quantitative Ermittlung der Kohlehydrate wurde die von D. TOLLENAAR (104) beschriebene und für die Bestimmung von Kohlehydraten in Tabak- und anderen Pflanzenblättern verwendete Methode etwas abgeändert. Sie beruht, wie bekannt, auf der verschiedenen Resistenz der Dissaccharide bei Hydrolyse. Die Reaktionsfähigkeit der einzelnen Kohlehydratfraktionen bestimmten wir nicht nach BANG, wie es TOLLENAAR gemacht hat, sondern nach BERTRAND.

Der Alkoholauszug aus dem konservierten Material wurde vom festen Rückstand abgossen, der Rückstand in einem Porzellanmörser zerrieben, auf einen BUCHNER-Trichter gebracht, abgepreßt und abgesogen. Aus dem nochmals er-

haltenen Rückstand wurde solange eine Extraktion der Kohlehydrate mit Alkohol ausgeführt, bis die abfließende Alkohollösung keine Reaktion mehr mit der FEHLING'Schen Lösung ergab. In den vereinten Alkoholauszügen wurden Monosaccharide, Maltose und Saccharose bestimmt. Im festen Rückstand wurde Stärke und Dextrin ermittelt.

Der Alkoholauszug wurde auf einem Wasserbad im Vakuum bis zu einem kleinen Volumen eingeeengt, sodann quantitativ in einen Meßkolben mit Wasser übertragen; hier wurden die reduzierenden Stoffe (von nicht kohlehydratartiger Natur) mit essigsauerm Blei gefällt. Bei der Fällung beachteten wir streng die von TOLLENAAR empfohlenen Vorsichtsmaßnahmen: 1. wir vermieden ein bedeutendes Übermaß des Fällungsmittels, 2. die Fällung wurde immer in kalter Lösung durchgeführt, und 3. wurde nach der Fällung das überschüssige Blei mit gesättigter Sodalösung ausgefällt. Das durchsichtige Filtrat wurde in 3 Teile geteilt. In dem einen Teil wurde unmittelbar seine reduzierende Fähigkeit bestimmt; diese reduzierende Fähigkeit des Filtrats muß der Summe der Monosen und Maltose zugeschrieben werden. Der zweite Teil des Filtrats wurde auf einem Wasserbade bei 70° C während 5 Minuten unter Beigabe von 2,5% Salzsäure hydrolysiert. Unter diesen Bedingungen wird nach den Untersuchungen von TOLLENAAR und KLUYVER Maltose nicht angegriffen, während Saccharose dabei vollständig hydrolysiert wird. Nach der Hydrolyse wurde der Kolbeninhalt mit Soda bis zur schwach-sauren Reaktion neutralisiert und die Reduktionsfähigkeit ermittelt. Die Zunahme der Reduktionsfähigkeit im Vergleich zur ersten Bestimmung ist auf den Invertzucker zurückzuführen. Die Menge des invertierten Zuckers wurde nach den Tabellen für invertierten Zucker ausgerechnet (89). Der dritte Teil des Filtrates wurde mit Salzsäure derselben Stärke (2,5%) im Thermostaten bei 70° C während 24 Stunden hydrolysiert. Nach TOLLENAAR gibt eine 24stündige Hydrolyse bei 70° C mit 2,5% HCl 94—95% der theoretischen Maltosemenge und läßt 95—98% des invertierten Zuckers unberührt. Deshalb wurden bei der Berechnung der Maltose diese fehlenden 5% zugerechnet. Nach der Neutralisation des Hydrolysates bis zur schwach-sauren Reaktion (Methyl-Orange) wurde seine Reduktionsfähigkeit bestimmt. Die Menge des bei der Reduktion erhaltenen Kupferoxyduls entspricht der Reduktionsfähigkeit des Gemisches der Monosaccharide, des Invertzuckers und der hydrolysierten Maltose. Subtrahieren wir die Menge des Kupferoxyduls, die auf den Anteil des Invertzuckers fällt (zweite Bestimmung), so erhalten wir die Summe der Reduktionsfähigkeiten der Monosaccharide und der hydrolysierten Maltose. Hieraus kann sowohl der Gehalt an Maltose als auch an Monosacchariden unter Berücksichtigung der ersten Bestimmung vor der Hydrolyse und des Umstandes, daß die nicht hydrolysierte Maltose nur fünf Neuntel der Reduktionsfähigkeit der hydrolysierten aufweist, berechnet werden. Der Gehalt an Maltose wurde nach den entsprechenden Tabellen (89) ermittelt.

Im festen Rückstand von der Alkoholextraktion wurden Stärke und Dextrine bestimmt. Für die Bestimmung der Dextrine führten wir eine Extraktion mit kaltem Wasser aus. Der nach der Extraktion zurückgebliebene Rückstand wurde ebenfalls mit kaltem Wasser auf einem BUCHNER-Trichter ausgewaschen und abgeseigt (bis eine völlig klare Lösung, die keine reduzierende Fähigkeit aufwies, durchfloß). Der Wasserauszug mit dem Waschwasser wurde auf einem Wasserbade eingedampft und mit normaler HCl während 3 Stunden, ebenso auf einem siedenden Wasserbade hydrolysiert. Das Hydrolysat wurde nach der Neutralisation und nach dem Eindampfen mit essigsauerm Blei, mit nachfolgender Fällung des überschüssigen Bleis durch Soda, wie oben erwähnt, gereinigt und sodann für die Bestimmung der Reduktionsfähigkeit der hydrolysierten Dextrine verwendet.

Der nach der Extraktion der Dextrine zurückgebliebene feste Rückstand wurde mit Wasser bei 70° C während $\frac{3}{4}$ Stunden zwecks Überführung der Stärke in Kleister erhitzt. Wir achteten darauf, daß die Temperatur bei der Überführung der Stärke in Kleister nicht über 70° C erhöht wurde, da in diesem Fall Hydropektine in Lösung gehen können (24, 25). Nach der Abkühlung der Lösung bis auf 35—40° C wurden ein Glycerinpräparat von Amylase und ein Antiseptikum (Chloroform + Toluol) beigegeben und das ganze Gemisch im Thermostaten bei 36° C während 24 Stunden stehen gelassen. Nach der Einwirkung von Amylase wurde das Gemisch mit destilliertem Wasser bis zu einem bestimmten Volumen verdünnt und sodann auf einem BUCHNER-Trichter abfiltriert und abgesogen.

Wir nahmen aus dem erhaltenen Filtrat ein bestimmtes Volumen, hydrolysierten es ebenso wie im Fall der Dextrinfraktion und reinigten es ebenso nach Neutralisation und Eindampfen mit Blei. Nach der Reduktionsfähigkeit des Hydrolysates wurde die Stärke berechnet.

Die Berechnung der Oxysäuren erfolgte nach der Methode von E. FLEISCHER (29). Die Methode besteht darin, daß die Oxysäuren aus einer angesäuerten Wasser- oder Wasser-Alkohollösung in Form der Bleisalze gefällt, sodann mit Schwefelkohlenstoff von Blei befreit und in Form von Calciumsalzen voneinander getrennt werden.

Die Stickstoff-Formen wurden nach folgenden Fraktionen bestimmt: 1. der gesamte N nach KJELDAHL; 2. der Eiweiß-N nach der Methode von BARTSTEIN; 3. der Aminosäure-N nach der Methode der Formoltitration nach SACHSE mit Abdestillierung des Ammoniaks im Vakuum bei 40° C; 4. der Ammoniak-N wurde ebenso im Vakuum bei 40° C nach der Abscheidung der Eiweiße abdestilliert; 5. der Nikotin-N wurde nach KELLER ermittelt; 6. der Nitrat-N wurde kalorimetrisch nach der Methode von GRANDVAL bestimmt.

Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration wurde sowohl kalorimetrisch im Komparator nach SÖRENSEN (52) als auch elektrolitisch mit der Chinhydronelektrode mit Hilfe des Potentialmeters von MISLOWITZ (65) bestimmt.

Von meteorologischen Faktoren berücksichtigten wir während der ganzen Vegetationsperiode sowohl die mittleren Tagestemperaturen als auch die mittleren Tagesgrößen der relativen Luftfeuchtigkeit.

Veränderungen des Wassergehaltes der Trockensubstanz und ihrer Wasserkapazität mit dem Alter der Blätter.

Der Wassergehalt und der Gehalt an Trockensubstanz in den Blättern auf verschiedenen Entwicklungsstadien der Pflanzen gibt schon eine orientierende Vorstellung über den Charakter der Veränderung des Mediums des Blattgewebes mit dem Alter und über die Intensität der in den Geweben sich abspielenden Verwandlungen. Mit dem Alter der Blätter wird eine beständige Abnahme des Wassergehaltes und eine stetige Zunahme des Gehaltes an Trockensubstanz beobachtet; diese Erscheinung ist, wie es scheint, allen Organismen eigen und ist zweifellos durch

die Abnahme der Quellungsfähigkeit der Gewebekolloide im Zusammenhang mit ihrem Älterwerden und mit der Veränderung in der Konzentration und derjenigen im Verhältnis zwischen den Elektrolyten zu einander bedingt (8, 61, 67). Diese Veränderungen treten ganz scharf beim Blattgewebe mit dem Alter der Pflanzen auf. Die Bestimmungen

Tabelle 1. *Sonnenblume.*

Zeit und Entwicklungsstadium der Pflanze	Frischgewicht 1 qm der Blattfläche in g	Absolute Trockensubstanz in g pro 1 qm d. Blattfläche	% Wasser in der frischen Blattmasse	% d. absoluten Trockensubstanz	Wasserkapazität der Trockensubstanz bei 95% Luftfeuchtigkeit
24. V. Stadium von 2—3 Blattpaaren	283,33	29,75	89,5	10,5	80,6
17. VI. Stadium von 8—10 Blattpaaren	220,25	39,31	82,15	17,85	69,6
12. VII. Stadium des Blühens	245,29	41,94	82,9	17,1	65,5
27. VII. Stadium d. Wachtreife der Samen normaler Pflanzen	288,1	64,53	77,6	22,4	59,1
geköpfter Pflanzen	292,06	62,21	78,7	21,3	66,6

Tabelle 2. *Tabak.*

Zeit und Entwicklungsstadium der Pflanze	Frischgewicht 1 qm der Blattfläche in g	Absolute Trockensubstanz in g pro 1 qm d. Blattfläche	% Wasser in der frischen Blattmasse	% d. absoluten Trockensubstanz	Wasserkapazität der Trockensubstanz bei 95% Luftfeuchtigkeit
1. VI. Setzlinge	232,0	21,4	94,21	5,79	—
30. VI. Stadium von 5—6 Blattpaaren	262,6	24,9	90,5	9,50	99,1
20. VII. Bildung von Blütenknospen	257,9	35,7	87,37	12,63	87,9
2. VIII. Stadium des Blühens normaler Pflanzen	224,7	35,4	84,26	15,74	73,2
geköpfter Pflanzen	240,7	31,0	87,13	12,87	73,3
20. VIII. Kapselbildung normaler Pflanzen	205,2	34,2	83,33	16,67	67,7
geköpfter Pflanzen	238,1	35,5	85,10	14,9	70,9
27. VIII. Stadium der technischen Reife d. Blätter	207,8	42,0	79,79	20,21	54,8
28. IX. Stadium der gelbwerdenden Blätter	330,7	71,7	78,43	21,57	55,6

der Wasserkapazität der Trockensubstanz der Blätter verschiedenen Alters, die bei ganz gleichen Bedingungen der Luftfeuchtigkeit und Temperatur durchgeführt wurden, zeigten eine kleine Veränderung mit dem Wassergehalt des Blattes.

Aus den in den Tabellen angeführten Zahlen ist zu ersehen, daß der Zuwachs der Trockensubstanz pro Einheit der Blattfläche sowohl beim Tabak als auch bei der Sonnenblume in zwei extremen Lebensperioden der Pflanzen stattfindet: im jungen Alter vor dem Blühen, zur Zeit wo die Assimilationsvorgänge am intensivsten sind, und im vorgerückten Alter nach dem Blühen und nach der Fruchtbildung, nachdem die Stoffwanderung zu den fruchttragenden oberen Pflanzenteilen aufgehört hat. Während der Zwischenperiode in der Periode des Blühens und während des Fruchtsatzes verändert sich das Trockengewicht der Blattflächeneinheit nur wenig. Während dieses Stadiums findet man in den Blättern eine fast völlige Ausgeglichenheit zwischen der Bildung und dem Verbrauch der Trockensubstanz, obwohl zu dieser Zeit ein scharfer Rückgang der Atmung beobachtet wird. Assimilate werden zu dieser Zeit in den Blättern nicht angehäuft, und zwar, wie es scheint, weil sie zu den fruchttragenden oberen Pflanzenteilen in gesteigertem Maße hingeführt werden. Bei geköpften Pflanzen wird dieser Strom von plastischem Material zu den oberen Blättern geleitet, welche in diesem Fall viel intensiver wachsen als bei blühenden Exemplaren. Hört das Blühen der normalen Pflanzen auf und wird das Wachstum der geköpften Pflanzen schwächer, so nimmt auch die Wanderung der Assimilate in den Stengel ab, und die alten, schon ausgewachsenen Blätter fangen wieder an, Trockensubstanz zu speichern. Diese Speicherung wird auch in solchen Blättern fortgesetzt, die schon merklich gelb zu werden angefangen haben.

Parallel mit der Anreicherung des Blattgewebes an Trockensubstanz wird es an Wasser ärmer. Die Blätter der geköpften Pflanzen sind an Wasser reicher und an Trockensubstanz ärmer als die Blätter normaler Pflanzen. Nach dem Gehalt an Trockensubstanz und an Wasser sind die Blätter geköpfter Pflanzen physiologisch jünger als die gleichaltrigen Blätter gleicher Etagen normaler Pflanzen; diese Feststellung stimmt sehr gut mit der gut bekannten Tatsache des gesteigerten Wachstums der Blätter bei der Beseitigung der Blütenanlagen überein (5, II, 48). In der Tabakkulturpraxis werden gewöhnlich zur Förderung einer gesteigerten Entwicklung der Blattmasse die Pflanzen geköpft. Je früher dieses Köpfen vorgenommen wird, desto stärker entwickeln sich die Blätter.

Mit dem Alter wird nicht nur der Gehalt der Blätter an Trockensubstanz verändert, sondern auch die Trockensubstanz selbst verändert sich in ihren chemisch-physikalischen Eigenschaften. So nimmt die

Wasserkapazität der Trockensubstanz der Blätter, die nach der Quellung in feuchter Luft bestimmt wird, mit dem Alter des Blattes fortwährend ab. Die Trockensubstanz der Blätter geköpfter Pflanzen besitzt eine größere Wasserkapazität als diejenige von normalen fruchttragenden Pflanzen.

Sowohl der Wassergehalt der lebenden Blätter verschiedenen Alters als auch die Wasserkapazität der Trockensubstanz dieser Blätter hängen von der Quellungsfähigkeit der in ihnen enthaltenen hydrophilen Kolloide und von der Anwesenheit von osmotisch-aktiven Stoffen ab. Die Veränderung des Gehaltes an osmotisch-aktiven Stoffen mit dem Alter des Blattgewebes kann die Quellungsfähigkeit seines kolloiden Teiles nicht unbeeinflusst lassen. In dieser Beziehung können diejenigen Veränderungen besonders wichtig sein, welche sowohl im Gehalt an Elektrolyten als auch in deren Verhältnis zueinander stattfinden (8, 38, I, 61; 62).

Über die Veränderungen im Elektrolytgehalt der Blätter mit dem Alter kann man schon auf Grund der alten Aschenbestimmungen, die in den bekannten Tabellen von WOLF zusammengefaßt sind, urteilen. Nach diesen Angaben sind junge Blätter ärmer an Asche als alte. Eben solche Ergebnisse wurden auch in unseren Aschenbestimmungen bei alten und jungen Sonnenblumen- und Tabakblättern erhalten, nämlich: die jungen Sonnenblumenblätter enthielten 12,95% Asche und die alten 16,15%; die jungen oberen Tabakblätter enthielten 13,45% Asche, die ausgewachsenen Blätter mittlerer Etagen 14,67% Asche in der Trockensubstanz. Die Zusammensetzung der Asche verändert sich bekanntlich auch mit dem Alter der Blätter: die Asche wird an Calcium reicher und an Kalium ärmer (5, I; 56); solche Ergebnisse wurden auch für Tabak erhalten (60). Abgesehen von der Speicherung von Aschenbestandteilen werden die Blätter mit dem Alter, wie weiter gezeigt wird, auch an anderen osmotisch-aktiven Stoffen, wie Zuckerarten und organischen Säuren, reicher. Nach den Angaben von ILJIN und anderen (40) ist der osmotische Druck des Zellsaftes in alten unteren Blättern, nach der plasmolytischen Methode bestimmt, geringer als in jungen oberen Blättern. Doch muß hier darauf hingewiesen werden, daß bei dieser Methode der osmotische Druck des Zellsaftes nur im Moment der Plasmolyse bestimmt wird; auf Grund einer solchen Bestimmung ist es schwer, über den Gehalt an osmotisch-aktiven Stoffen während des normalen, nicht plasmolysierten Zustandes der Zellen zu urteilen (109). Im nicht plasmolysierten Zustand ist ein umgekehrtes Verhältnis zwischen dem osmotischen Druck in alten und jungen Geweben gut denkbar. Im Moment der Plasmolyse kann bei jungen Zellen eine größere Konzentration des Zellsaftes als bei alten im Zusammenhang mit einer größeren Elastizität ihrer Zellwände eintreten. Außerdem kann der Wasserverlust bei der Plas-

molyse selbst eine Reihe von Reaktionen im Sinne einer Anhäufung von osmotisch-aktiven Stoffen im Zellsaft auslösen. Diese Reaktionen können in alten und jungen Zellen infolge des verschiedenen Wasserverlustes bei der Plasmolyse und infolge der verschiedenen Geschwindigkeit, mit der die plasmolysierende Lösung in die Zellen eindringt (12, 42, 106), verschieden verlaufen.

Die unmittelbare Bestimmung des osmotischen Druckes in jungen und alten Tabakblättern mit dem Kryoskop zeigt in alten Blättern einen größeren Gehalt an osmotisch-aktiven Stoffen; das steht mit dem Gehalt an Aschenbestandteilen und an kristallinen N-haltigen und N-freien organischen Verbindungen in alten Blättern im Einklang.

Zur Bestimmung des osmotischen Druckes des Zellsaftes wurden die Blätter gleichzeitig von gleichen Pflanzen genommen; es wurden junge Blätter von den Geizen und alte Blätter vom Hauptstengel aus der mittleren Etage verwendet. Der Saft wurde durch Pressen mit einer Handpresse, nachdem die Blätter in einer Kältemischung bei -14°C (Eis + CaCl_2) gefroren waren, gewonnen. Die Bestimmung des Gefrierpunktes wurde mit dem Differentialthermometer von BECKMANN ausgeführt.

	Δ	Osmotischer Druck in Atmosphären
Saft der jungen Blätter	0,79	9,48
„ „ alten „	1,12	13,44

Die Steigerung des Gehaltes an osmotisch-aktiven Stoffen in den Blättern mit dem Alter deutet darauf hin, daß nicht die osmotisch-aktiven Stoffe bei der Verminderung des Wassergehaltes und der Wasserkapazität der trocknen Blattsubstanz die Hauptrolle spielen. Es scheint, daß hier den Kolloiden und ihren chemisch-physikalischen Veränderungen mit dem Alter der Blätter eine größere Rolle zukommt. Daher schien es äußerst interessant zu sein, irgendein Merkmal, welches den kolloidalen Zustand des Zellsaftes in jungen und alten Blättern charakterisiert, nachzuprüfen. Wir wählten als ein solches Merkmal die Oberflächenspannung des Saftes aus Tabak- und Zuckerrübenblättern.

Die Bestimmung der Oberflächenspannung wurde mit dem Stalagmometer von TRAUBE ausgeführt.

	Saft der Tabakblätter		Saft der <i>Betablätter</i>	
	junge	alte	junge	alte
$\sigma = \frac{Zw}{Z}$	0,61	0,64	0,65	0,72

Die geringere Oberflächenspannung des Saftes der jungen Blätter deutet auf eine größere Oberflächenaktivität der im Saft enthaltenen Kolloide; diese größere Oberflächenaktivität der Kolloide ist außerdem ein Zeichen dafür, daß diese Kolloide eine größere Quellungsfähigkeit im

Vergleich zu denjenigen älterer Blätter besitzen. Hier liegt die Ursache sowohl für die Abnahme des Wassergehaltes der lebenden Blätter als auch für die Abnahme der Wasserkapazität der Trockensubstanz mit zunehmendem Alter der Blätter. Daß die Wasserkapazität der Trockensubstanz der Blätter durch den kolloidalen Teil bestimmt wird, folgt aus

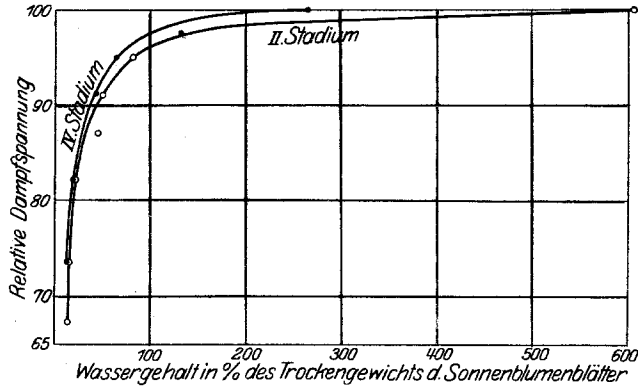


Abb. 1. Quellung der Trockensubstanz der Sonnenblumenblätter.

dem Verlauf der Quellungskurve der Trockensubstanz der Blätter in Luft mit verschiedenem Wassergehalt (Abb. 1 u. 2).

Die Veränderung des Wassergehaltes der lebenden Blätter mit zunehmendem Alter und die Abnahme der Wasserkapazität ihrer Trockensubstanz hängt ebenso wie das Wachstum vom chemisch-physikalischen Zustand der Kolloide ab; der Zustand aber der Kolloide ist eng mit der Anreicherung

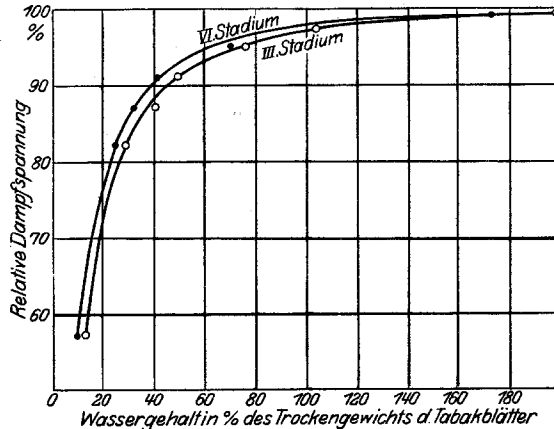


Abb. 2. Quellung der Trockensubstanz der Tabakblätter.

der Blätter mit Elektrolyten bei zunehmendem Alter und mit der Veränderung in ihrem Mengenverhältnis zueinander verbunden (42, 61, 62, 103).

Wenn wir zur Tabelle 1 und 2, in denen die Veränderungen der Trockensubstanz und des Frischgewichtes der Blätter pro Blattflächeneinheit während der Vegetationsperiode angegeben sind, zurückkehren, so können wir leicht verstehen, welche Bedeutung für die Beurteilung der im Blatt stattfindenden Vorgänge die eine oder die andere Berechnungsweise der analytischen Ergebnisse haben kann. Erfolgt z. B. die Veränderung irgendeines Bestandteiles parallel mit

derjenigen der Trockensubstanz, so können sie nicht aufgedeckt werden, falls der Gehalt dieses Bestandteils in Prozenten der Trockensubstanz ausgedrückt wird; dasselbe tritt ein, wenn die Veränderungen dieses Bestandteils nicht parallel mit denjenigen der Trockensubstanz verlaufen, denn in diesem Fall gibt die Berechnung in Prozenten der Trockensubstanz wieder eine falsche Vorstellung über die Dynamik dieses Bestandteiles während der Vegetationsperiode.

Auf die Unzulässigkeit einer Umrechnung der analytischen Ergebnisse auf die Trockensubstanz beim Studium des Stoffwechsels vegetativer Organe, wie das in vielen früheren Untersuchungen, besonders in solchen aus landwirtschaftlichen Fachkreisen der Fall war, wird auch in den unlängst erschienenen Arbeiten von A. C. CHIBNALL und K. MOTHES (17, 19, 68) hingewiesen; diese Verfasser nehmen als konstante Größe das Frischgewicht der Blätter und nicht die Trockensubstanz. Doch zeigen die von uns erhaltenen Zahlen, daß auch das Frischgewicht der Blattflächeneinheit während der Vegetationsperiode bedeutende Schwankungen erfährt. Das Frischgewicht ebenso wie auch die Trockensubstanz (wenn auch erstere in geringerem Maße) können nicht als eine konstante Größe während der ganzen Vegetationsperiode angesehen werden.

Während die Trockensubstanz pro Blattflächeneinheit mit zunehmendem Alter ebenfalls zunimmt, erfährt das Frischgewicht der Blattflächeneinheit während der Vegetationsperiode keine bestimmten Veränderungen und schwankt zwischen Zu- und Abnahme, wobei diese Schwankungen in der einen oder der entgegengesetzten Richtung gar keinen Zusammenhang mit der Temperatur oder der Luftfeuchtigkeit aufweisen (Abb. 3). Durch die angeführten Tatsachen wird selbstverständlich nicht der Einfluß der meteorologischen Faktoren auf die Wasserkapazität des Blattgewebes in Abrede gestellt. Diese Tatsachen zeigen nur, daß die von uns für das Abpflücken der Blätter gewählte Tageszeit sehr günstig gewesen ist, da die mittleren Tagesschwankungen der Temperatur und Luftfeuchtigkeit auf den Wasserzustand der Blattgewebe keinen merklichen Einfluß ausüben; der Wasserzustand des Gewebes wurde hier hauptsächlich durch den Zustand des kolloidalen Teiles des Blattgewebes bestimmt. In den Nachmittagsstunden würden die äußeren meteorologischen Faktoren zweifellos die Wasserkapazität des Blattgewebes merklich beeinflussen haben.

Wenn wir die Ergebnisse unserer Beobachtungen über die Veränderungen der Trockensubstanz, des Wassergehaltes der Blätter und der Wasserkapazität ihrer Trockensubstanz zusammenfassen, so können wir folgendes sagen: *Mit zunehmendem Alter des Blattgewebes nimmt die Menge der Trockensubstanz pro Flächeneinheit zu, während der Wassergehalt und die Wasserkapazität der Trockensubstanz abnehmen. Die Veränderungen des Wassergehaltes der Blätter und der Wasserkapazität der Trockensubstanz sind, wie es scheint, mit denjenigen des chemisch-physikalischen Zustandes des kolloidalen Komplexes im Blattgewebe verbunden und stehen nicht in unmittelbarer Beziehung zum Gehalt an osmotisch-aktiven Stoffen. Die Speicherung der letzteren mit dem Alter, besonders die der Elektrolyte,*

muß als eine der Ursachen, welche die Quellungsfähigkeit der Blattgewebekolloide herabsetzen, angesehen werden.

Weder die Trockensubstanz noch das Frischgewicht der Blattfläche stellen während der Vegetationsperiode konstante Größen dar. Wird deshalb die chemische Zusammensetzung des Blattes auf verschiedenen Entwicklungsstadien in Prozenten der Trockensubstanz oder des Frischgewichtes ausgedrückt, so kommen durch diese Ausdrucksweise die sich in den Blättern vollziehenden Veränderungen nicht richtig zur Anzeige.

Atmung.

Die Abhängigkeit der Atmungsintensität vom Alter wurde mehrmals in physiologischen Untersuchungen nachgewiesen (5, I; 22, III; 5; 56; 101), doch wurde diese Abhängigkeit nicht während der ganzen Vegetationsperiode systematisch verfolgt. Außerdem ist das Verhältnis der Atmung zu den Veränderungen der inneren Faktoren eines lebenden Gewebes, welche die Atmung beeinflussen und während der Vegetationsperiode nicht unverändert bleiben, noch sehr wenig aufgeklärt. Die Atmung ist ein komplizierter biochemischer Vorgang und dies nicht nur, weil bei ihr viele Reaktionen ablaufen, sondern auch infolge ihrer komplizierten Abhängigkeit von einer Reihe von inneren und äußeren Faktoren.

Von den inneren Faktoren, welche die Intensität der Atmung beeinflussen, wurde am frühesten und sichersten die Bedeutung der Menge des Atmungsmaterials (9, 55, 56, 76) und der Atmungsfermente (1, 77) festgestellt. Wenn aber diese inneren Faktoren sich während der Vegetationsperiode nicht im selben Sinne verändern, so ist klar, daß die Atmungsenergie nicht immer in einem direkten Verhältnis zu jedem von ihnen stehen wird. Es ist z. B. bekannt, daß bei der Entwicklung von Keimlingen im Licht die Atmungskurve mit der Wachstumskurve zusammenfällt; doch stimmt dabei die Veränderung der Atmungsenergie nicht mit der Veränderung der Menge des Atmungsmaterials überein. Während mit der Entwicklung der assimilierenden Oberfläche der Blätter die Menge der Kohlehydrate beständig im Zunehmen begriffen ist, fällt die Atmungsenergie mit dem Alter (22, III). Eine Übereinstimmung zwischen der Atmungsenergie und der Veränderung der Aktivität der Atmungsfermente wurde, soviel uns bekannt ist, während der Dauer der ganzen Vegetationsperiode auch nicht beobachtet.

In letzter Zeit wird noch ein Moment des inneren Zustandes der Pflanzenzellen, der die Intensität der Atmung mitbestimmt, hervorgehoben. So fand W. S. ILJIN an einer ganzen Reihe von Pflanzen, daß das Welken auf die Atmungsintensität der Organe einen großen Einfluß ausübt; mit anderen Worten: die Atmungsintensität wird vom Wasserdefizit der Pflanzenorgane beeinflußt (39). In der eben erschie-

nenen Arbeit von H. M. COLLORIO (20) wurde festgestellt, daß die Atmungsenergie nicht nur von der Wassersättigung der Gewebe im gegebenen Moment, sondern auch von der Wassersättigung, die von früher herrührt, abhängig ist. Der Wasserverlust durch das pflanzliche Organ äußert sich in einer Veränderung der Atmungsenergie sogar noch, nachdem das Wasserdefizit wieder ausgeglichen ist und das Gewebe des Organs eine volle Wassersättigung erlangt hat. In den Versuchen von W. S. ILJIN wurde beobachtet, daß in den ersten Stadien des Wasserverlustes die Atmungsenergie gesteigert wird und erst bei weiterem Wasserverlust eine Abnahme der Atmungsenergie eintritt. So verhält sich die Sache bei gewöhnlichen Mesophyten. Die Xerophyten lassen eine Abnahme der Atmungsenergie schon in den ersten Stadien des Wasserverlustes erkennen. Eine verschiedene Veränderung der Atmungsenergie bei den Xerophyten und Mesophyten wurde auch in der Arbeit von H. M. COLLORIO festgestellt.

Die Abhängigkeit der Atmungsenergie vom Quellungszustand der Gewebe war schon viel früher bekannt. So wurde schon in den Versuchen von KOLKOWITZ (1901) (51) deutlich gezeigt, daß bei der Quellung von Gerstensamen die Atmungsenergie parallel mit der Wasseraufnahme der Samen gesteigert wird. Bei der Reifung von Weizensamen beobachtete W. S. ILJIN dieselbe Gesetzmäßigkeit, doch natürlich in umgekehrter Richtung.

Nach dem ersten Eindruck könnte man auf Grund dieser Beobachtungen den Schluß ziehen, daß die Atmungsenergie unmittelbar vom Quellungszustand des atmenden Gewebes abhängt. Doch wäre eine solche Schlußfolgerung ohne Untersuchung anderer innerer Faktoren, welche den Atmungsprozeß beeinflussen, etwas verfrüht. Bei der Quellung der Samen gehen außer einer Anreicherung mit Wasser auch andere Vorgänge vor sich, nämlich die Aktivierung der Atmungsfermente, die Hydrolyse komplizierter Kohlehydrate und Fette. Diese Vorgänge führen zu einer Speicherung von Atmungsmaterial und zur Erhöhung der Oxydation desselben. Bei der Samenreifung bleiben weder die Aktivität der Fermente noch die Menge des Atmungsmaterials unverändert (3), und zwar geht hier die Veränderung in umgekehrter Richtung als bei keimenden Samen vor sich (2). Die Abnahme des Wassergehaltes in den vegetativen Organen wird auch von einer Reihe von Veränderungen der inneren Faktoren, die die Atmung beeinflussen, begleitet. D. TOLLENAAR (104) und vor ihm noch BROWN und MORRIS, GARNER (34) und eine Reihe von anderen Forschern (100) fanden, daß beim Welken ein starker Zerfall von Stärke und eine Steigerung der Aktivität der Amylase stattfinden; das muß aber zu einer Anhäufung von Atmungsmaterial führen.

Die Veränderung der Atmungsenergie in pflanzlichen Geweben beim

Welken wird nach W. S. ILJIN damit erklärt, daß in den ersten Momenten ein Wasserverlust des Zellsaftes stattfindet; deshalb wird die Salzkonzentration im Zellsaft gesteigert. Eine solche Konzentrierung der Salze im Zellsaft stellt die unmittelbare Ursache dar, welche die Atmung stimuliert. In den weiteren Stadien des Welkens sind es schon die Plasmakolloide, die das Wasser verlieren; infolge davon findet eine tiefe Veränderung des chemisch-physikalischen Zustandes des Plasmas statt, welche eine Störung der Struktur des lebenden Gewebes nach sich zieht und dadurch eine Herabsetzung der Atmung bedingt. Der Versuch, die Veränderung der Atmungsintensität damit zu erklären, daß der Wasserverlust im Zellsaft und im Plasma nicht gleichzeitig, sondern gesondert vor sich gehen, scheint uns mit der gegenwärtigen Vorstellung über den Wasserverlust der verschiedenen Zellelemente nicht ganz in Einklang zu stehen. Die Wassersättigung der Plasmakolloide ist, wie bekannt, unmittelbar mit der Größe des osmotischen Druckes des Zellsaftes verknüpft. Der Wasserverlust des Zellsaftes ruft eine Steigerung des osmotischen Druckes hervor und muß von einer Abnahme der Wassersättigung der Plasmakolloide begleitet werden und umgekehrt, und zwar aus dem Grunde, weil der osmotische Druck des Zellsaftes sich im ständigen Gleichgewicht mit dem Quellungskoeffizienten der Plasmakolloide (38, 112, 114) befindet. Deshalb ist ein zeitlich getrennter Wasserverlust des Zellsaftes und der Plasmakolloide wenig wahrscheinlich.

Die Tatsache, daß die Atmungsenergie sich mit der Änderung der Wassersättigung der pflanzlichen Gewebe ebenfalls verändert, erfordert eine eingehende Untersuchung. Wir glauben, daß die Erklärung dieses Zusammenhanges in den Veränderungen innerer Faktoren, welche einzelne Reaktionen, aus denen der komplizierte Atmungsvorgang zusammengesetzt ist, unmittelbar beeinflussen, zu suchen ist. Von diesen Faktoren kommen vor allem folgende in Betracht: die Menge des Atmungsmaterials, die Aktivität der Atmungsfermente und der chemisch-physikalische Zustand der Plasmakolloide (und zwar insbesondere deren Quellungsfähigkeit). Die Bedeutung des letztgenannten Faktors bei der Atmung wird durch die Arbeiten von O. WARBURG (5, 74, 103) angedeutet. WARBURG stellt eine Theorie der Oxydationsphase der Atmung auf. Während dieser Phase findet eine Summe von Reaktionen statt, die mit der Absorption von molekularem Sauerstoff an den Grenzflächen der heterogenen Systeme des Atmungsmaterials und einer Aktivierung desselben (mit Eisen) verbunden sind. Ob die Oxydationsreaktionen, die O. WARBURG bei der Oxydation von Oxalsäure und Aminosäuren (an der Oberfläche von Blutkohle) entdeckt hat, an Grenzflächen heterogener Systeme auch in lebenden Organismen stattfinden, ist experimentell noch unbewiesen. Es ist möglich, daß bei einer Störung des kolloidalen Zustandes des Plasmas die Veränderung der Atmungsenergie

in den Organismen nicht nur mit einer Veränderung der Größe der adsorbierenden Oberfläche der kolloidalen Micellen verbunden ist, sondern auch von der solche Vorgänge begleitenden Störung der Permeabilität des Plasmas für Gase und Lösungen abhängt. Das Bestehen einer Abhängigkeit zwischen der Atmungsenergie und dem Quellungs-zustand der Plasmakolloide wird in letzter Zeit auch von H. WALTER (112) hervorgehoben, doch wird in seinen Arbeiten auf die unmittelbaren Ursachen dieser Abhängigkeit nicht hingewiesen. Eine genauere Vorstellung über den Zusammenhang zwischen der Atmungsenergie und dem chemisch-physikalischen Zustand der Plasmakolloide wird einerseits auf Grund der Arbeiten von NATHANSOHN (103), der die bekannte Theorie über die elektrolytischen Grundlagen der biochemischen Oxydationsvorgänge aufgestellt hat, und andererseits durch die unlängst veröffentlichte Arbeit von A. J. OPARIN (73) erhalten; letzterer gibt eine Reihe von experimentellen Bestätigungen für die Theorie der chromogenen biologischen Oxydation, die von A. N. BACH und W. J. PALLADIN (1, 78, 79, 80, 81) seinerzeit ausgebaut wurde.

Nach NATHANSOHN entstehen die Oxydations-Reduktionsreaktionen in lebenden Zellen im Zusammenhang mit der elektrolytischen Wasserzersetzung unter dem Einfluß des elektrischen Stromes, welcher durch Potentialdifferenzen an der Oberfläche der Plasmamembranen erzeugt wird. Dabei werden die OH-Ionen für die Verbrennung der Zersetzungsprodukte des Zuckers verbraucht und die H-Ionen mit dem Luftsauerstoff unter Bildung von H_2O_2 verbunden. Das Wasserstoffsperoxyd wird sogleich in Wasser und Sauerstoff zerlegt, wobei der Sauerstoff energisch mit dem Wasserstoff in statu nascendi reagiert. Nach dieser Theorie ist die Oxydationsfähigkeit direkt mit der Aktivität der Katalase verknüpft. In dem Maße, in welchem die Potentialdifferenz an der Oberfläche der Plasmamembran durch ihre Semipermeabilität für Elektrolyte bedingt wird, muß eine jede Veränderung des chemisch-physikalischen Zustandes der Plasmakolloide, die mit einer Änderung ihrer Permeabilität für Elektrolyte verbunden ist, die Vorgänge der physiologischen Verbrennung beeinflussen.

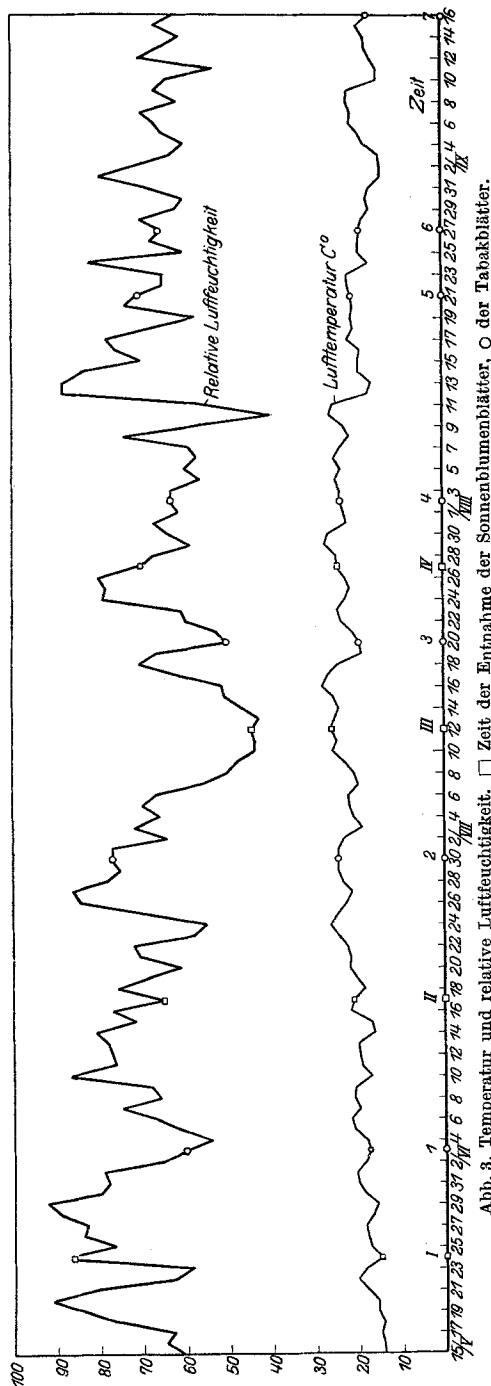
Aus den Arbeiten von A. OPARIN (73) geht hervor, daß die physiologische Oxydation in lebenden Zellen infolge der gegeneinander ausgeglichenen Oxydation der Chromogene bis zu gefärbten Atmungspigmenten unter Mitwirkung von Phenolase und einer umgekehrten Reduktion der Oxydationsprodukte bis zum Chromogen unter Mitwirkung von Oxy-Reduktasen auf Kosten des Wasserstoffes realisiert wird. In lebenden Zellen werden niemals beständige braun-gefärbte Oxydationsprodukte gespeichert, was durch den gegeneinander abgestimmten und ausgeglichenen Verlauf der Oxydations-Reduktionsvorgänge bedingt ist. Im Falle einer Zerstörung der Zellstruktur wird dieses Gleichgewicht gestört. Die sich bildenden braunen Oxydationsprodukte können nicht wieder bis zu Chromogenen zurückreduziert werden, und darin liegt die Ursache der Abschwächung der physiologischen Oxydation. Wie das Gleichgewicht der Oxydations-Reduktionsprozesse in lebenden unbeschädigten Geweben hergestellt wird, bleibt zurzeit noch unklar; doch glaubt der Verfasser auf Grund der vorliegenden Angaben vermuten zu können, daß hier die Hauptrolle dem *Durchlässigkeitsgrade* des Plasmas für den Luftsauerstoff zukommt. Bei der Zerstörung der Zellstruktur treten Bedingungen ein, unter denen der Luftsauerstoff unbehin-

dert und in unbeschränktem Maße mit dem Zellinhalt in Berührung kommt; aus diesem Grunde nehmen hier die Oxydations- im Vergleich zu Reduktionsreaktionen überhand. Als Ergebnis dieses Vorganges werden beständige Oxydationsprodukte der Chromogenen gebildet, die nicht mehr instande sind, die Chromogene, welche bei der Atmung als unentbehrliche Sauerstoffakzeptoren dienen, durch Reduktion zurückzubilden.

Wir kommen also, ausgehend von der elektrochemischen Theorie der physiologischen Oxydation von NATHANSON und von der pigmentenzymatischen Theorie von A. N. BACH und W. J. PALLADIN, die in den Untersuchungen von A. J. OPARIN eine neue Bestätigung und Begründung gefunden hat, zum Schluß, daß die Vorgänge der physiologischen Oxydation mit der Filtrierfähigkeit der Plasmamembran eng verbunden sind (102).

Die Permeabilität des Plasmas wird durch den chemisch-physikalischen Zustand der Plasmakolloide bedingt; dieser Zustand wird durch die Quellung, Zähigkeit, Oberflächenaktivität und andere Eigenschaften der hydrophylen Kolloide charakterisiert (38, I). Bei Wasserverlust der lebenden Zellen können ihre Plasmakolloide je nach der Höhe dieses Verlustes eine Reihe von Veränderungen chemisch-physikalischer Natur erfahren. Diese treten infolge und im Zusammenhang mit den Veränderungen der Konzentration der Elektrolyte, sowohl im Plasma selbst, als auch im Zellsaft, von dem die Plasmamembranen unmittelbar berührt werden, auf. Insofern mit solchen Veränderungen eine Störung der Filtrierfähigkeit des Plasmas für Gase und Lösungen verbunden ist, verursachen diese Veränderungen eine Verschiebung der Atmungsenergie in der einen oder anderen Richtung. Die Veränderungen der Atmungsenergie der Pflanzen bei Wasserverlust scheinen nicht unmittelbar durch die Wasserabnahme bedingt zu sein, oder mit anderen Worten, diese Veränderungen werden nicht durch den Quellungszustand ihrer Plasmakolloide im gegebenen Moment verursacht, sondern es ist in diesem Fall die Veränderung der Fähigkeit dieser Kolloide zur Quellung im Zusammenhang mit ihrer chemisch-physikalischen Struktur maßgebend. Nur bei einer solchen Vorstellung über den Zusammenhang zwischen dem Wasserverlust der Pflanzen und der Veränderung der Atmungsenergie werden das verschiedene Verhalten einzelner Vertreter der Pflanzenwelt und die Nachwirkung des Welkens für einzelne Pflanzen, die in der Arbeit von COLLORIO (20) erwähnt sind, verständlich.

Während der Vegetationsperiode erfahren der chemisch-physikalische Zustand der Plasmakolloide der Blätter sowie auch die Aktivität der Fermente (72, 85) und die Menge des in den Blättern vorhandenen Atmungsmaterials eine Reihe von Veränderungen. Äußerlich müssen diese im Verlauf der Atmungsintensität zum Ausdruck kommen. Deshalb schien es für die Charakteristik des Alterns der Pflanzengewebe interessant, nachzuprüfen, inwiefern die Kurve der Atmungsintensität des



Blattgewebes verschiedenen Alters die Veränderungen der inneren Faktoren, welche den Atmungsprozeß beeinflussen, widerspiegelt.

Sonnenblume. Es wurden Blätter von dieser Pflanze zu folgenden Zeiten und auf folgenden Entwicklungsstadien gesammelt: I) 24. V. junge Keimpflanzen mit 2—3 Blattpaaren, trübes Wetter; II) 17. VI. Pflanzen mit 8—10 Blattpaaren, klares Wetter; III) 12. VII. blühende Pflanzen, klares Wetter; IV) 27. VII. Pflanzen während der Wachstumsreife der Samen, Wetter klar bis leicht bewölkt. Im vierten Stadium wurden Blätter sowohl von fruchttragenden als auch von geköpften Pflanzen untersucht, das Köpfen der Pflanzen wurde in den allerersten Stadien der Blütenanlage ausgeführt. Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit während der Vegetationsperiode sind im Diagramm der Abbild. 3 wiedergegeben.

Die Ergebnisse lassen eine charakteristische Änderung der Atmungsintensität der Blätter, welche sowohl durch das Alter des Blattgewebes als auch durch den Vorgang des Blühens und Fruchttragens (Tabelle 3) bestimmt wird, erkennen. Vom ersten Stadium bis zum Blühen fällt die Atmungsenergie des Blattgewebes beständig, wobei sie im Stadium des Blühens am kleinsten ist. Nach Abschluß des Blühens wird die Atmung der Blätter wieder gesteigert,

doch erreicht sie nicht mehr die Größe, die die jungen Blätter zeigten. Bei den geköpften Pflanzen behalten die Blätter dieselbe Atmungsintensität, die sie während der Periode vor dem Blühen aufwiesen, bei. Wenn man die Veränderung der Atmungsenergie mit derjenigen der Kohlehydrate vergleicht, so kann man gar keinen Parallelismus feststellen. Während die Atmung mit der Entwicklung der Blätter abnimmt, wird der Gehalt an Kohlehydraten vom ersten bis zum zweiten Stadium stark gesteigert; das hängt, wie es scheint, mit einer Steigerung der Photosynthese der Blätter infolge Anhäufung von CO_2 unter den sich zusammenschließenden Blättern zusammen (63). Im Stadium des Blühens nimmt der Kohlehydratgehalt im Zusammenhang mit ihrer Ableitung zu den blühenden Stengelteilen, wo eine gesteigerte Verbrennung des Atmungsmaterials stattfindet (55, 56), ab. Die Abnahme des Zuckergehaltes tritt in diesem Stadium schärfer als die Abnahme der Summe der Kohlehydrate hervor. Mit dem Abschluß des Blühens wird die Trockensubstanz der Blätter an Kohlehydraten wieder reicher, und gleichzeitig wird die Atmungsintensität der Blätter gesteigert. Doch bleibt diese Steigerung hinter der Zunahme der Zuckerarten zurück, was auf eine Abschwächung der Verbrennung des Atmungsmaterials mit dem Alter der Blätter hindeutet. Durch das Köpfen der Pflanzen wurde nicht nur die Abnahme der Atmungsenergie, sondern auch der Zuckerverlust in den Blättern beseitigt. Die Blätter geköpfter Pflanzen sind in diesem Sinne „jünger“ als gleichaltrige Blätter von normalen fruchttragenden Pflanzen.

Tabelle 3. *Sonnenblume.*

Entwicklungsstadium	I Blühen	II Blühen	III Blühen	IV normal	IV geköpft
CO_2 in mg pro 100 g absolut-trockener Substanz während 1 Stunde . . .	574,76	501,88	306,42	418,0	494,41
Katalase – ccm n/10 KMnO_4 auf 1 g absolut-trockener Substanz	7,07	5,15	2,51	13,17	19,01
Gesamt-Kohlehydrate in g pro 100 g absolut-trockener Substanz	4,78	10,14	5,12	5,79	7,02
Summe alkohollöslicher Zuckerarten in g pro 100 g absolut-trockener Masse	1,69	4,37	1,59	3,59	4,37
Quellung d. absolut-trockenen Substanz in Prozent des Ausgangsgewichts. . .	80,6	69,6	65,6	59,1	66,6
				47*	

Diese Feststellung steht mit der bekannten Tatsache, daß Blätter und andere vegetative Organe von geköpften Pflanzen länger die Fähigkeit zu wachsen beibehalten als entsprechende Organe von normalen Exemplaren (5, I; 23), im Einklang.

Die Veränderung der Aktivität der Katalase stimmt mit derjenigen der Atmungsintensität mehr überein; doch sind diese Veränderungen auch hier nur gleichsinnig, aber nicht proportional, besonders nach dem Blühen, wenn die Aktivität der Katalase stark zunimmt (was vorzugsweise für die geköpften Pflanzen gilt).

Schließlich läßt auch die Quellungsfähigkeit der Blatt-Trockensubstanz keinen beständigen und direkten Zusammenhang mit der Atmungsenergie erkennen. Die wasserhaltende Kraft oder die Quellungsfähigkeit der Blatt-Trockensubstanz nimmt mit dem Alter die ganze Zeit ab. Diese Abnahme wird auch nach dem Blühen, wenn die Atmung wieder zuzunehmen anfängt, fortgesetzt. Die Quellungskurve kann, worauf schon hingewiesen wurde, das Alter des Blattgewebes kennzeichnen. Nach diesem Merkmal sind die Blätter der geköpften Exemplare von Sonnenblumen auch physiologisch jünger als gleichaltrige Blätter normaler fruchttragender Pflanzen. Das Köpfen der Pflanzen wurde zwischen dem zweiten und dritten Entwicklungsstadium der Pflanzen ausgeführt. Die Quellungsfähigkeit der Blatt-Trockensubstanz von geköpften Pflanzen liegt zwischen derjenigen der Blätter des zweiten und dritten Entwicklungsstadiums der Pflanzen.

Während der ganzen Vegetationsperiode besteht zwischen der Atmungsenergie und den einzelnen von uns untersuchten Faktoren keine Übereinstimmung, und das kann nur dadurch erklärt werden, daß in jedem einzelnen Lebensmoment des Blattes diese Faktoren sich in entgegengesetzten Richtungen verändern. Wenn aber diese Veränderungen in einer Richtung erfolgen, so ändert sich auch die Atmungsintensität im Einklang mit den stattgefundenen Veränderungen. So ist das Fehlen einer Übereinstimmung zwischen der Menge des Atmungsmaterials und der Atmungsenergie dadurch bedingt, daß andere innere Faktoren während der Beobachtungszeit sich in entgegengesetzter Richtung verändert haben. Die Abnahme der Atmungsenergie der Blätter während des zweiten Entwicklungsstadiums (trotz der Zunahme des Atmungsmaterials fast um das Zweifache im Vergleich zum ersten Entwicklungsstadium) muß mit dem Rückgang von zwei anderen inneren Faktoren: der Katalaseaktivität¹ und der Quellungsfähigkeit der Trockensubstanz in Zusammenhang gebracht werden. Letztere kann, wie oben angedeutet wurde, in gewissem Sinne als ein Kennzeichen des chemisch-physikalischen Zustandes der Blattkolloide angesehen werden.

¹ Dieses Ferment spielt in dem verwickelten Vorgang der physiologischen Oxydation sicher mit, doch bleibt seine Rolle noch unaufgeklärt (74).

Während der Blütezeit tritt die größte Depression der Atmungsenergie der Blätter ein; diese Erscheinung steht mit gleichzeitiger Abnahme der Menge des Atmungsmaterials, der Aktivität der Katalase und dem Rückgang der Quellungsfähigkeit der Trockensubstanz der Blätter im Zusammenhang. Die Blätter der geköpften Pflanzen weisen im Vergleich zu solchen von normalen fruchttragenden Pflanzen eine größere Atmungsenergie auf und besitzen auch mehr Atmungsmaterial, haben eine aktivere Katalase und ihre Trockensubstanz zeigt eine größere Quellungsfähigkeit.

Der zur Zeit der Samenreife anhaltende Rückgang der Quellungsfähigkeit der Blatttrockensubstanz wirkt auf die Steigerung der Atmungsenergie hemmend, obwohl die Aktivität der Katalase und der Gehalt an aktivem Atmungsmaterial zu dieser Zeit zunehmen. Für Sonnenblumenblätter sind diese Verhältnisse graphisch in Abb. 4 wiedergegeben.

Tabak. Tabakblätter wiesen ganz analoge Verhältnisse auf. Sie wurden auf folgenden Entwicklungsstadien gesammelt: I) 1. VI., Keimpflanzen mit 1—2 Blattpaaren, klares Wetter; II) 30. VI., junge Pflanzen mit 5 bis 6 Blattpaaren, klares Wetter; III) 20. VII., Blütenknospen werden angesetzt, klares Wetter; IV) 2. VIII., Pflanzen in voller Blüte, klar; V) 21. VIII., Abschluß der Blüte, Samenkapseln werden angesetzt, klares Wetter; VI) 27. VIII., technisch-reife Blätter, klares Wetter; VII) 16. IX., Blätter sind überreif, fangen an gelb zu werden, klares Wetter.

Zwischen dem III. und IV. Stadium wurden die Pflanzen geköpft. Im IV. und V. Stadium wurden sowohl Blätter von normalen als auch solche von geköpften Pflanzen untersucht. In den zwei letzten Stadien (VI. und VII.) haben wir nur Blätter von geköpften Pflanzen untersucht. Über die Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit während der Vegetationsperiode gibt Abb. 3 Auskunft. Die Beobachtungen am Tabak und an Sonnenblumen wurden während einer und derselben Vegetationsperiode (1926) an einer orientalischen Tabaksorte „Tyk-Kulak“ durchgeführt.

Der Verlauf der Atmungsenergie der Tabakblätter während der

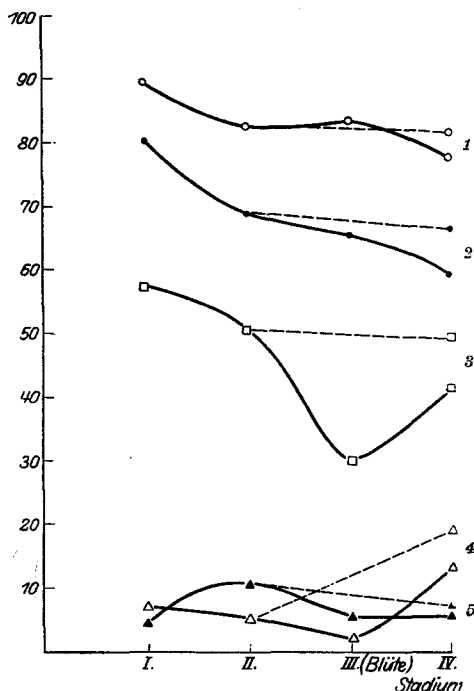


Abb. 4. Atmung der Sonnenblumenblätter. 1 Prozente Wassergehalt der frischen Blätter. 2 Quellung der Trockensubstanz. 3 Atmung, mgr CO₂. 4 Kohlehydrate. 5 Katalaseaktivität. Die gestrichelten Kurven beziehen sich auf entgipfelte Pflanzen.

Vegetationsperiode weist denselben Charakter wie auch bei der Sonnenblume auf, doch ist er hier noch schärfer ausgeprägt (Tabelle 4). Vom Stadium der Setzlinge bis zum Stadium des Blühens fällt die Atmungsenergie beständig. Während der vollen Blüte wiesen auch die Tabakblätter die schwächste Atmung auf, doch wurde hier schon die Anlage von Blütenknospen (drittes Stadium) durch eine scharfe Abnahme der Atmungsenergie der Blätter gekennzeichnet. Werden die Blütenknospen von den Pflanzen entfernt, so äußert sich das in einer Steigerung der Atmungsenergie. Mit der Beendigung des Blühens wird die Atmungsenergie der Blätter von normalen Pflanzen scharf gesteigert (Stadium der Kapselbildung IV). Im weiteren nimmt sie bei geköpften Pflanzen bis zur „technischen Reife“ zu. Erst bei überreifen Blättern, die schon gelb zu werden anfangen, fängt sie wieder abzunehmen an.

Tabelle 4. *Tabak.*

Entwicklungsstadium	CO ₂ in mg pr. 100 g absol.-trockener Substanz pro 1 Stunde	Peroxydase in mg von Purpurrogallin pro 1 g absol.-trocken. Substanz pro 3 Stunden Einwirken b. 20°C.	Gesamt-Kohlehydrate in g pr. 100 g absolut-trockener Substanz	Summe der in Alkohol löslichen Kohlehydrate in g pro 100 g absolut-trockener Substanz	Quellung der absolut-trockenen Substanz in Proz. des Ausgangsgewichts	
I	559,9	108,42	5,3505	1,1963	—	
II	474,39	33,75	11,6666	7,2289	99,1	
III	270,86	52,02	8,6919	2,8347	87,9	
IV	normale Pfl.	152,99	21,68	7,6893	4,7542	73,2
	geköpft Pfl.	346,23	30,73	9,529	7,0065	73,3
V	normale Pfl.	425,25	39,30	—	—	67,7
	geköpft Pfl.	440,13	56,21	8,5972	4,6845	70,9
VI	521,25	21,47	10,5571	3,9905	54,8	
VII	343,67	15,09	8,0655	4,5328	55,6	

Der Verlauf der Atmungsenergie während der Vegetationsdauer stimmt auch bei dieser Pflanze mit den Veränderungen keines der von uns berücksichtigten inneren Faktoren im einzelnen überein. Ebenso wie bei der Sonnenblume wird der Rückgang der Atmungsenergie der Tabakblätter vom ersten zum zweiten Entwicklungsstadium sowohl von einer Steigerung der Kohlehydrate als auch von einer besonders starken Zunahme an kristallinen Kohlehydraten begleitet. Doch wird zu dieser Zeit eine starke Abnahme der Peroxydasenaktivität wahrgenommen. Im Stadium der Blütenknospenbildung (III) geht die Atmungsenergie der Blätter noch mehr zurück; das entspricht in diesem Fall dem gleichzeitigen Rückgang des Atmungsmaterials und der Abnahme der Quellungsfähigkeit der Trockensubstanz. Doch tritt in diesem Stadium eine gewisse Steigerung der Peroxydasenaktivität auf. Die schwächste Atmung der Blätter während der vollen Blüte (IV) trifft

mit dem gleichzeitigen Rückgang der Gesamtkohlehydrate, der Peroxydaseaktivität und der Quellungsfähigkeit der Trockensubstanz zusammen. Doch ist die Menge der löslichen Kohlehydrate während dieser Periode höher als während der vorhergehenden. Die Bildung von Kohlehydraten als Ergebnis der Photosynthese und der Zersetzung von Polysacchariden geht energischer vor sich als die Ableitung in den Stengel und der Verbrauch zum Aufbau und für die Atmung der Blätter. In dieser Periode atmen die Blätter der geköpften Pflanzen energischer als diejenigen der normalblühenden und enthalten die Blätter von geköpften Pflanzen eine aktivere Peroxydase und mehr Kohlehydrate. Durch die Entfernung der blütentragenden Gipfel wurde die Abnahme der Peroxydaseaktivität verzögert und Kohlehydrate wurden in den Blättern aufgespeichert; als Folge davon wurde anscheinend die Atmungsenergie der Blätter solcher Pflanzen gesteigert. Mit dem Abschluß des Blühens und mit der Bildung von Kapseln wird die Atmungsenergie der Blätter von normalen Pflanzen gesteigert, auch wird ein Anwachsen der Peroxydaseaktivität wahrgenommen und die Abnahme der Quellungsfähigkeit der Trockensubstanz wird gehemmt. Ebensolche Vorgänge werden auch bei geköpften Pflanzen beobachtet, doch sind sie hier ausgeprägter (V). Bei geköpften Pflanzen fährt die Atmungsenergie der Blätter bis zur technischen Reife zu steigen fort, obwohl zu dieser Zeit sowohl eine Abnahme der Peroxydaseaktivität als auch der Quellungsfähigkeit der Trockensubstanz von Blättern eintritt. Der Verlauf der Atmungsenergie der Blätter entspricht während dieser Periode seiner Richtung nach nur demjenigen des Gehaltes an Gesamtkohlehydraten in diesen Organen.

Im Moment des Gelbwerdens der Blätter tritt schließlich wieder ein scharfer Rückgang der Atmungsenergie ein; dieser fällt mit der Abnahme der Peroxydaseaktivität und der Gesamtkohlehydrate bei unveränderter Quellungsfähigkeit der Trockensubstanz zusammen. Graphisch sind diese Verhältnisse für Tabak in Abb. 5 wiedergegeben.

Während der Vegetationsperiode der Pflanzen nimmt die Atmungsintensität nicht ununterbrochen ab, sondern sowohl bei Sonnenblumen, als auch bei Tabakblättern nur bis zum Stadium des Blühens. Die Beseitigung der blühenden Gipfel hemmt die Abnahme der Atmungsenergie der Blätter. Mit der Beendigung des Blühens nimmt letztere wieder zu, doch erreicht sie nicht mehr die frühere, für junge Blätter charakteristische Größe. *Die Veränderung der Atmungsenergie der Blätter während der Vegetationsperiode erfolgt bei ununterbrochener Abnahme der Quellungsfähigkeit der Trockensubstanz der Blätter und bei ständigen Schwankungen der Aktivität der Atmungsfermente und des Gehaltes des Atmungsmaterials. Bei übereinstimmender und einseitiger Veränderung dieser inneren Faktoren erfolgt auch die Veränderung der Atmungsenergie in derselben Richtung. Wenn aber die Änderung der die Atmung beeinflussenden inneren*

Faktoren in entgegengesetzten Richtungen stattfindet, so folgt die Atmung entweder den Veränderungen des einen oder des anderen dieser Faktoren; dies scheint davon abzuhängen, welcher von diesen beiden unter den gegebenen Verhältnissen als begrenzender Faktor wirkt.

Vergleicht man den Verlauf der Atmungsenergie des Blattgewebes auf verschiedenen Entwicklungsstadien (Abb. 4 u. 5) mit dem Gang der Temperatur und der Luftfeuchtigkeit (Abb. 3), so kann man feststellen, daß die Veränderungen der Atmungsenergie der Blätter während ihrer Entwicklung nicht allein durch den Einfluß meteorologischer Faktoren erklärt werden können.

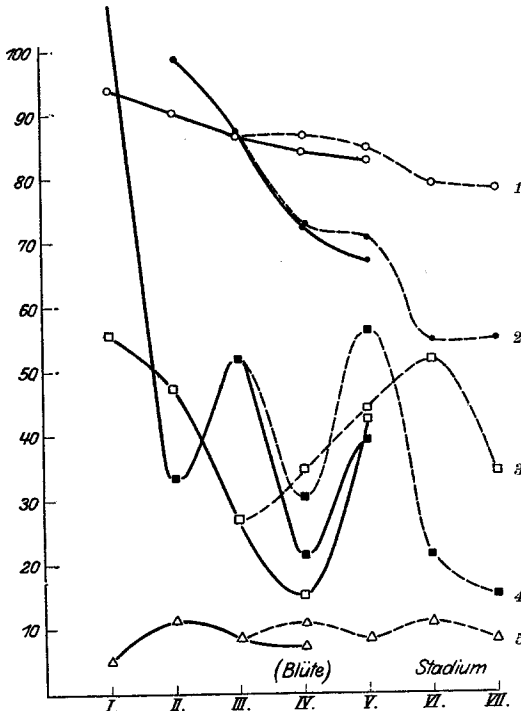


Abb. 5. Atmung der Tabakblätter. 1 Prozente Wassergehalt der frischen Blätter. 2 Quellung der Trockensubstanz. 3 Atmung, mgr CO₂. 4 Peroxydaseaktivität. 5 Kohlehydrate. Die gestrichelten Kurven beziehen sich auf entpflanzte Pflanzen.

Der Kurvenverlauf, welcher die Veränderungen der Atmungsenergie sowohl bei Sonnenblumen als auch bei Tabakblättern charakterisiert, ist ganz derselbe, obwohl die Blätter an verschiedenen Tagen unter verschiedenen meteorologischen Bedingungen abgenommen wurden. Diese Eigenart der Atmungskurve wird hauptsächlich durch das Entwicklungsstadium der Pflanze, durch die Summationswirkung der inneren Faktoren und durch die

Bedingungen des Mediums, in dem die Einwirkung dieser Faktoren sich abspielt, bestimmt. Selbstverständlich wird dadurch nicht den äußeren Faktoren ihre Wirkung abgesprochen, doch äußert sich diese nur in Form eines Stoßes, welcher je nach dem Entwicklungsstadium des pflanzlichen Gewebes und dessen innerem Zustand nicht immer den gleichen Effekt hervorrufen wird. Zuweilen wird diese Wirkung durch die in entgegengesetzten Richtungen wirkenden inneren Faktoren geschwächt, zuweilen aber wird dieser Effekt, den die äußeren Faktoren hervorrufen, gesteigert, und zwar dann, wenn deren Wirkungsrichtung mit der der inneren Faktoren übereinstimmt.

Die Größe des Effektes einer Einwirkung von außen hängt sowohl von ihrem Maß als auch von der Intensität der inneren Faktoren, welche den Vorgang bestimmen, ab. Der Einfluß der äußeren Faktoren auf die physiologischen Prozesse kann mit einer mechanischen Wirkung auf einen sich bewegenden Körper verglichen werden. Wenn man einem Körper, der sich schnell bewegt, einen Stoß versetzt, so wird der Effekt eines solchen Stoßes sowohl von seiner Stärke und Richtung als auch von der Geschwindigkeit der sich bewegenden Körpermasse abhängen.

Kohlehydrate.

Der Austausch der Kohlehydrate im grünen Blatt und dessen quantitativer Gehalt an ihnen wird jeweils durch eine Reihe äußerer und innerer Bedingungen bestimmt, deren wichtigste die Intensität und Dauer der Belichtung, die Temperatur und Feuchtigkeit des Mediums sowohl im gegebenen Moment als auch in der vorhergehenden Wachstumsperiode, die Atmungsenergie und der Verbrauch der Kohlehydrate für den Aufbau sowie ihre Ableitung (22, I; 100; 104) sind. Keiner dieser den Kohlehydratstoffwechsel beeinflussenden Faktoren bleibt während der Vegetationsperiode unverändert. Die Veränderung eines jeden übt in jedem einzelnen Moment zweifelsohne einen bestimmten Einfluß aus.

Da das Leben der Pflanze in der Natur sich unter ständigen Schwankungen dieser Faktoren abspielt, wollen wir nur die am schärfsten ausgeprägten Veränderungen in der Kohlehydratgruppe, die nicht von äußeren Faktoren, sondern nur vom Alter des Blattgewebes und physiologischen Zustand der Pflanze abhängen, verfolgen. Der Umstand, daß wir es mit zwei verschiedenen Pflanzen zu tun haben (Sonnenblume und Tabak), von denen die Blätter in verschiedenen Momenten der Vegetationsperiode, aber zu einer und derselben Tageszeit für jede Pflanze gepflückt wurden, verhilft uns in gewissem Sinne zur Erkenntnis, daß die einheitlichen Veränderungen, die bei den Pflanzen beobachtet werden, wirklich vom Alter der Gewebe und von deren innerem Zustand und nicht vom Wechsel der Außenbedingungen und den Arteigentümlichkeiten der Pflanzen abhängen.

Die Analysen der Kohlehydratgruppe an Sonnenblumen- und Tabakblättern (Saccharose als Invertzucker, alles andere als Glukose berechnet) sind in den Tab. 5 und 6 und den Abb. 6 und 7 wiedergegeben und zeigen charakteristische Veränderungen sowohl des Gesamtgehaltes an Kohlehydraten als auch ihrer einzelnen Formen. Einerseits sieht man, daß diese Veränderungen mit dem physiologischen Zustand der Pflanze während des Blühens und der Fruchtbildung und mit der Blattentwicklung der oberen Etagen zusammenhängen, andererseits besteht auch ein Zusammenhang mit dem Alter des Blattgewebes.

Die Veränderung der Kohlehydrate wird durch ein Anwachsen der-

Tabelle 5. Kohlehydrate der *Sonnenblume* — *Helianthus annuus*.

Zeit und Entwicklungs- stadium der Pflanzen:	I 24. V. 2—3 Blatt- paare	II 17. VI. 8—10 Blatt- paare	III 12. VII. blühend	IV 27. VII. Wachsreife der Samen		
				Frucht- tragende Pfl.	Geköpfte Pflanzen	
Gesamt- Kohle- hydrate	Pro 1 qm Blatt- fläche in g . .	1,421	3,9846	2,1504	3,7377	4,3826
	In Proz. der ab- sol. trockenen Substanz . . .	4,78	10,14	5,12	5,79	7,04
Stärke	Pro 1 qm Blatt- fläche in g . .	0,599	2,0152	0,2108	0,8552	1,0741
	In Prozent der Gesamt-Kohle- hydrate . . .	42,15	50,57	9,8	22,88	24,51
Dextrine	Pro 1 qm Blatt- fläche in g . .	0,3181	0,2534	0,2707	0,5675	0,5907
	In Prozent der Gesamt-Kohle- hydrate . . .	22,39	6,36	12,59	15,18	13,48
Saccha- rose	Pro 1 qm Blatt- fläche in g . .	0,2276	0,7836	0,3232	0,5817	0,4411
	In Prozent der Gesamt-Kohle- hydrate . . .	16,02	19,67	15,03	15,56	10,06
Maltose	Pro 1 qm Blatt- fläche in g . .	0,0106	0,4514	0,0636	1,3866	1,2144
	In Prozent der Gesamt-Kohle- hydrate . . .	0,75	11,33	2,96	37,10	27,71
Monosen	Pro 1 qm Blatt- fläche in g . .	0,2657	0,4810	1,2821	0,3467	1,0623
	In Prozent der Gesamt-Kohle- hydrate . . .	18,70	12,07	59,62	9,27	21,96

selben sowohl pro Gesamteinheit der Fläche als auch der Trocken-
substanz der wachsenden Blätter charakterisiert. Dieses Anwachsen
bricht im Abschnitt des Blühens ab, wobei sogar eine scharfe Abnahme
der Gesamtkohlehydrate, besonders in Sonnenblumenblättern, eintritt.
Die Kohlehydratsynthese kann das Defizit, welches durch die Ableitung
in die blühenden Pflanzengipfel zum Aufbau von neuen Geweben und

zur Blütenatmung (55, 56) bedingt ist, nicht decken. In dieser Periode kann man an Tabakblättern (Tab. 6) eine gewisse Abnahme der Gesamtkohlehydrate pro Blattflächeneinheit bei gleichaltrigen geköpften Pflanzen bemerken, obwohl die geköpften und normalen Pflanzen die ganze Zeit unter gleichen Bedingungen wuchsen. Das dürfte mit der gesteigerten Abführung der Kohlehydrate in die oberen jungen Blätter, welche nach Entfernung der Blüten stärker zu wachsen beginnen, in Zusammenhang stehen. Aber auch die übrigen Blätter entwickeln sich bei geköpften Pflanzen viel stärker als bei normalen (auch die der von uns untersuchten Etage), und deshalb verbrauchen diese Blätter mehr Kohlehydrate für Selbstaufbau und Atmung.

Bei der Beendigung des Blühens wird die abgebrochene Speicherung der Gesamt-Kohlehydrate in den Blättern wieder fortgesetzt. Pro Flächeneinheit enthalten alte Blätter mehr Kohlehydrate als junge. Eine besonders starke Speicherung findet in den Blättern der geköpften Pflanzen statt (Sonnenblume). In Prozenten der Trockensubstanz ausgedrückt tritt diese Speicherung schwächer hervor. Beim Tabak fahren sogar die gelber werdenden Blätter fort, den Gehalt an Kohlehydraten pro Flächeneinheit zu steigern. Doch nimmt der prozentuale Gehalt der Kohlehydrate, auf die Trockensubstanz berechnet, in solchen gelber werdenden

Tabakblättern etwas ab, was durch eine große Zunahme der Trockensubstanz in solchen Blättern hervorgerufen wird.

Die Anhäufung der Gesamtkohlehydrate und der Trockensubstanz mit zunehmendem Alter steht mit der fortgesetzten Photosynthese, die sogar bei gelber werdenden Blättern andauert (67, 119), und einer bedeutenden Abnahme des Abtransportes von löslichen Kohlehydraten nach beendetem Blühen und nach dem Stillstand oder der Verlangsamung des Blattwachses der obenliegenden Etagen in Zusammenhang.

Der Gang des Stärkegehaltes der Sonnenblumenblätter mit zunehmendem Alter und der Summe der Stärke und Dextrine beim Tabak wiederholt im allgemeinen den Gang der Veränderungen der Gesamtkohlehydrate. Die Anhäufung von Polysacchariden in den Blättern dauert bis zum Anfang des Blühens an. Während der Periode des

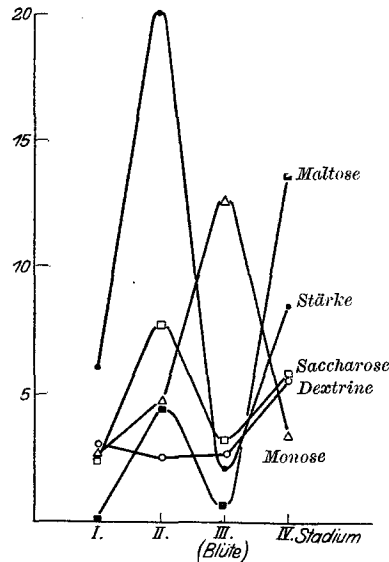


Abb. 6. Sonnenblumenblätter, Kohlehydratgehalt pro Flächeneinheit.

Tabelle 6. Kohlehydrate des *Tabaks* — *Nicotiana tabacum*.

Zeit und Entwicklungsstadium der Pflanze:	I	II	III	IV		V		VI	VII	
	1. VI. Setzlinge	20. VII. 5-6 Blatt-paare	20. VII. Bildung v. Blütenknosp.	2. VIII. Blüten		20. VIII. Kapselbildung		27. VIII. technisch reife Blätter	16. IX. gelbwerdende Blätter	
				normaler Pflanzen	geköpfter Pflanzen	normales Frucht-tragen der Pflanze	geköpfte Pflanzen			
Gesamt-Kohlehydrat.	Pr. 1 qm Blattfläche in g .	1,143	2,905	3,103	2,722	2,954	—	3,052	4,434	5,783
	In Prozent von abs. trockener Substanz	5,34	11,62	8,59	7,69	11,06	—	8,62	11,04	8,26
Stärke + Dextrin	Pr. 1 qm Blattfläche in g .	0,887	1,105	2,091	1,039	0,782	1,053	1,389	2,758	2,533
	In Proz. d. Gesamt-Kohlehydrate . .	77,60	38,04	67,39	38,17	26,47	—	45,51	62,20	43,77
Saccharose	Pr. 1 qm Blattfläche in g .	0,109	—	0,273	0,468	0,599	0,173	0,472	0,688	0,338
	In Proz. d. Gesamt-Kohlehydrate . .	9,54	—	8,80	17,19	20,24	—	15,47	15,52	5,84
Maltose	Pr. 1 qm Blattfläche in g .	—	—	0,259	0,488	0,205	—	0,448	0,540	1,852
	In Proz. d. Gesamt-Kohlehydrate . .	—	—	8,35	17,93	6,94	—	14,69	12,18	32,03
Monosen	Pr. 1 qm Blattfläche in g .	0,147	0,480	0,480	0,727	1,368	—	0,743	0,448	1,060
	In Proz. d. Gesamt-Kohlehydrate . .	12,86	16,52	15,47	26,71	46,31	—	24,34	10,10	18,33

Blühens werden diese Reservekohlehydrate zum Aufbau und für die energetischen Vorgänge in den generativen Organen und für die Entwicklung von jungen Gipfelblättern verbraucht, was mit einer Mobilisation der Kohlehydrate in löslicher, zum Transport geeigneter Form verbunden ist. Die Dextrine werden in der Periode vor dem Blühen in einer der Stärke entgegengesetzten Richtung verändert (Sonnenblumenblätter). Nach der Beendigung des Blühens wird der Gehalt an Polysacchariden in den Blättern wieder gesteigert. Doch nimmt er beim Tabak pro Blattflächeneinheit im Gegensatz zu den Gesamtkohle-

hydraten im Stadium der gelbwerdenden Blätter etwas ab. Im Zusammenhang damit ist es interessant, hervorzuheben, daß die Veränderung in der Intensität der Speicherung der Polysaccharide vom Stärketypus weder bei den Sonnenblumen, noch bei den Tabakblättern mit der Veränderung der Intensität ihrer Bildung zusammenfällt. In keinem Stadium nach dem Blühen erreicht der prozentuale Stärke- und Dextrin-gehalt der ausgewachsenen Blätter, nach der Gesamtheit der Kohle-

hydrate berechnet, die maximale Größe, welche bei jungen wachsenden Blättern vor dem

Blühen festgestellt wurde. Die Blätter der geköpften Sonnenblumen sind, da physiologisch jünger (was in einer späteren Sistierung ihres Wachstums, in ihrer größeren Atmungsenergie und einer größeren Wasserkapazität ihrer Trokensubstanz zum Ausdruck kommt), nicht nur absolut, sondern auch relativ stärkerreicher als diejenigen Blätter derselben Etage, die von den blütentragenden Pflanzen stammen und unter gleichen Bedingungen aufgewachsen waren. Eben dasselbe kann auch bei Tabakblättern

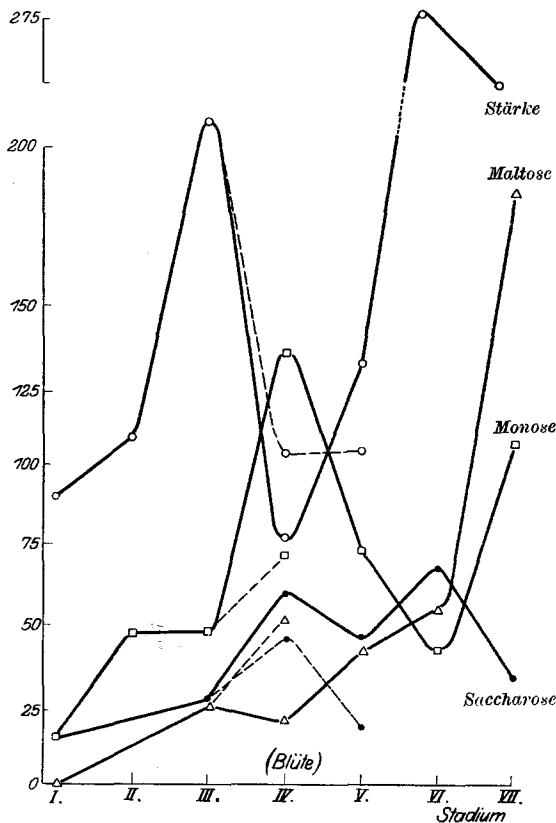


Abb. 7. Tabakblätter, Kohlehydratgehalt pro Flächeneinheit.

von normalen und geköpften Pflanzen in der Periode nach dem Blühen, wenn das Blattwachstum geköpfter Pflanzen gehemmt wird, beobachtet werden. Von den Disacchariden weist der Rohrzucker während der Vegetationsperiode geringere Schwankungen als Maltose auf. In den Perioden vor dem Blühen wächst der Gehalt an Sacchariden sowohl bei der Sonnenblume als auch beim Tabak in analoger Weise wie der an Polysacchariden, wobei die Maltose stärker als die Saccharose anwächst. In den Blättern der Tabaksetzlinge fehlt Maltose ganz, Saccharose ist in

einer Menge von 9,5% der Gesamtkohlehydrate vorhanden. Im Stadium des Blühens gleicht sich der Gehalt an diesen Disacchariden in Blättern normaler Tabakpflanzen aus.

Aus dem gleichzeitigen Anwachsen der Di- und Polysaccharide kann der Schluß gezogen werden, daß im jungen Entwicklungsstadium der Blätter die Bildung der Disaccharide auf dem Wege der Synthese erfolgt. Doch sind auch andere Ursachen für die Speicherung dieser Zuckerarten und besonders der Maltose, nämlich auf dem Wege der Hydrolyse der Stärke und Dextrine, möglich. Das kann dann der Fall sein, wenn Synthese und Zerfall der Polysaccharide gleichzeitig vor sich gehen, erstere aber schneller verläuft als letzterer. Während aber die Speicherung der Maltose unmittelbar durch Stärkehydrolyse möglich ist, entsteht Saccharose nur synthetisch, sogar in Fällen, wo ihre Anhäufung durch die Hydrolyse von Stärke festgestellt ist (100, 104). Die Stärke stellt ein kompliziertes Anhydrit der Glucose dar, und bei ihrer Spaltung ist die Bildung von Saccharose nur dann möglich, wenn ein Teil der gebildeten Glucose in Fructose übergeht und eine nachfolgende Kondensation der Hexosen (Keto- und Aldohexosen) stattfindet.

Einige Forscher, wie z. B. COLIN (1821), MARCALEI (1889), BROWN und MORRIS (1893) und DAVIS und seine Mitarbeiter (1916) nehmen an, daß der erste bei der Photosynthese entstehende Zucker Rohrzucker, und nicht Glucose, ist. Doch muß man PRIESTLEY (84, 87) und SPOEHR (100) beistimmen, daß eine solche Annahme zu wenig begründet ist. Die allgemeine Vorstellung, daß bei der Photosynthese die Hexosen als primäre Zucker anzusehen sind und die Saccharose als Produkt der weiteren Kondensation entsteht, ist zweifellos chemisch mehr begründet. Der Umstand, daß Glucose in einigen Fällen in den Blättern fehlt und Saccharose in bedeutenden Mengen festgestellt wird, kann in keinem Fall zur Begründung des primären Ursprungs der Saccharose bei der Photosynthese herangezogen werden. Erstens ist ein solches Vorherrschen der Saccharose nicht in allen Fällen bewiesen, und zweitens kann die Stabilität und die Speicherung eines Produktes in keinem Fall als ein Beweis seines primären Ursprunges angesehen werden. Das primäre Produkt der Synthese muß bei seiner Entstehung im Organismus eher labil sein. Ein gutes Beispiel dafür ist das Formaldehyd, welches das erste Produkt der Photosynthese ist und eine solche Labilität besitzt, daß es während 55 Jahren trotz zahlreichen Versuchen nicht gelungen ist, dieses Produkt in lebenden grünen Zellen nachzuweisen. Erst die Versuche von G. KLEIN und O. WERNER (44) aus allerletzter Zeit, in denen Dimedon (Dimethylhydroresorcin) zum Auffangen benutzt wurde, haben sicher festgestellt, daß bei der Photosynthese der grünen Pflanzen wirklich Formaldehyd gebildet wird; dadurch erhielt die berühmte Theorie von A. BAEYER, die in den klassischen Arbeiten von R. WILLSTÄTTER und STOLL (119) weiter ausgebaut wurde, eine tatsächliche Begründung.

Eine bedeutend geringere Speicherung von Glucose, im Vergleich zu Saccharose, in lebenden Zellen und zuweilen auch ihr völliges Fehlen wird, wie es scheint, durch ihren energischeren Verbrauch, nicht nur im Vergleich zu Disacchariden, sondern auch zu Fructose (46) bei der Atmung erklärt. Es wurde tatsächlich mehrmals darauf hingewiesen, daß nicht nur Saccharose, sondern auch Fructose oft über Glucose vorherrschen (100). Bei der Abwesenheit einer

Photosynthese muß Glucose durch die Atmung schnell verschwinden, während Saccharose, die dabei weniger verbraucht wird, erhalten bleibt. Bei der Photosynthese wird in grünen Pflanzenteilen neben Saccharose auch die Anwesenheit von Glucose festgestellt. So wird nach WEEVERS (100) bei panaschierten Pflanzen ein gleichzeitiger Gehalt an Hexosen und Saccharosen nur in grünen Pflanzenteilen beobachtet, während in panaschierten nur Saccharose enthalten ist (in 10 von 12 Fällen).

Während des Blühens der Sonnenblume nimmt der Gehalt an Disacchariden in ihren Blättern ab. In Tabakblättern nimmt während des Blühens nur der Gehalt an Maltose ab, und zwar nur bei geköpften Exemplaren. Der Gehalt an Saccharose nimmt sowohl bei blühenden als auch bei geköpften Tabakpflanzen zu, wobei bei letzteren Pflanzen diese Zunahme stärker ist. Diese Steigerung steht möglicherweise mit dem verstärkten Stärke- und Maltosezerfall in dieser Periode im Zusammenhang. Die fehlende Abnahme der Maltose in blühenden Pflanzen spricht noch nicht dafür, daß während dieser Zeit keine Zersetzung stattfindet, da sie durch überschüssige Maltosebildung infolge gesteigerter Stärkespaltung während dieser Zeit verdeckt sein kann; im Vergleich zum vorhergehenden Stadium nimmt die Stärkemenge während des Blühens um die Hälfte ab. Beim Tabak nimmt der Saccharosegehalt der Blätter im Moment der Kapselbildung, besonders bei normal-fruchttragenden Pflanzen, ab.

Beim Abschluß der Fruchtbildung wird in den Sonnenblumenblättern der Gehalt an Disacchariden wieder gesteigert, was wahrscheinlich mit der Verminderung der Abwanderung in Verbindung steht. Doch ist zu dieser Zeit das Verhältnis zwischen Maltose und Saccharose ein umgekehrtes wie in jungen Blättern.

Beim Tabak kommt das Vorherrschen von Maltose über Saccharose in den Blättern von normalen Pflanzen schon während des Blühens zum Ausdruck; in den Blättern geköpfter Pflanzen wurde es erst beim Beginn des Gelbwerdens wahrgenommen. Das Köpfen verlängert die Vegetation der Blätter und verschiebt demgemäß die Veränderung des Verhältnisses zwischen den Disacchariden.

Folglich wird das Verhältnis zwischen den Disacchariden in alten Blättern sowohl der Sonnenblume als auch des Tabaks ein umgekehrtes wie in jungen Blättern.

Außer der Feststellung der Veränderungen im Gehalt an Disacchariden in den Blättern, besonders an Saccharose, war es interessant, die Veränderungen der Aktivität der auf die Zuckerarten einwirkenden Fermente zu verfolgen. Zu diesem Zweck wurde die Aktivität der Invertase in Sonnenblumenblättern ermittelt.

Der Wasserauszug aus frischen Blättern ebenso wie der aus Trockensubstanz der Blätter erwies sich bei der Einwirkung auf eine Saccharoselösung als inaktiv. Die Inaktivität des Wasserauszuges aus frischen

und getrockneten Blättern wird wahrscheinlich nicht durch Abwesenheit des Fermentes, sondern durch die alkalische Reaktion des Auszuges ($p_H = 7,2-7,5$) verursacht. Die Saccharoselösung wird auch durch eine unmittelbare Einwirkung der Trockensubstanz der Blätter nicht verändert. Um die Aktivität der Invertase der Sonnenblumenblätter zu ermitteln, wurde die Reaktion des Mediums mit saurem Phosphat auf $p_H = 5,58-5,75$ eingestellt.

0,1 g trockne zerkleinerte Blätter wurden mit 25 ccm einer Lösung von saurem Phosphat (6 g pro 2 l Wasser) vermischt und die Mischung in Gegenwart eines Antiseptikums während 1 Stunde im Thermostaten bei $35^{\circ} C$ autolysiert. Sodann wurde in alle Kolben 25 ccm 2%ige Saccharose, ebenfalls in einer sauren Phosphatlösung von oben angegebenen Konzentrationen gelöst, und 0,8 ccm einer Mischung von Chloroform und Toluol zugegeben. Das Ferment wirkte 24 Stunden bei $35^{\circ} C$ ein. Während dieser Zeit wurde die Reaktion etwas nach der alkalischen Seite bis $p_H = 5,71-5,81$ verschoben. Zur Kontrolle dienten Kolben mit gleicher Mischung, doch wurde der Saccharosegehalt hier vor der Einwirkung des Fermentes ermittelt. Die Abnahme des Saccharosegehaltes, ausgedrückt in Prozenten des Ausgangsmaterials, war folgende:

Entwicklungsstadien der Blätter	I	II	III	IV norm.	IV geköpft
Saccharoseabnahme in Prozenten:	9,58	24,04	16,65	38,87	44,43

Folglich stimmt der Gang der Veränderung der Invertaseaktivität in den Sonnenblumenblättern mit den Veränderungen ihres Saccharosegehaltes überein (Tabelle 5). Die synthetische Wirkung des Fermentes überwiegt in lebenden Sonnenblumenblättern über die hydrolytische, und besonders gilt das für junge Stadien vor dem Blühen. Die Steigerung der Aktivität des Fermentes nach dem Blühen ist energischer als die Speicherung der Saccharose, was auf eine Abnahme der synthetischen Wirkung des Fermentes mit zunehmendem Alter des Blattgewebes hindeuten kann. Das Köpfen der Pflanzen rief eine Steigerung der Invertaseaktivität in den Blättern hervor, doch wurde der Gehalt an Saccharose nicht erhöht. Das Anwachsen der Aktivität des Fermentes wird von alten Blättern dazu benutzt, um die Hydrolyse der Saccharose zu steigern. Die Bedingungen für die Wirkung der Invertase ändern sich also während der Vegetationsperiode. In der Jugend sind diese Bedingungen für die synthetische Richtung der Fermentwirkung günstiger als im Alter. Die stärkere Anhäufung von Saccharose in jungen Blättern wird wahrscheinlich nicht durch die größere Intensität der Photosynthese bedingt, sondern durch günstigere Bedingungen für die synthetische Arbeit der Invertase. Der allgemeine Kohlehydratgehalt ist in Blättern nach dem Blühen höher als vorher, doch ist der relative Saccharosegehalt geringer. Die Veränderung des Monosegehaltes in den Blättern wird sowohl durch die Intensität der Photosynthese und die Bildung von Monosen bei der Spaltung komplizierter Kohlehydrate, als auch durch ihren Transport und Verbrauch für den Aufbau und für die Atmung bestimmt.

Im frühen Entwicklungsstadium der Pflanzen, wenn die Blätter am Stengel dicht gedrängt sind und sich nicht sehr hoch über der Bodenoberfläche in Luftschichten mit erhöhtem CO_2 -Gehalt (63) befinden, wenn in den Blättern das Chlorophyll gespeichert wird (119) und der obere Teil des Stengels mit den jungen Blätteretagen sich noch nicht entwickelt hat und nur eine schwächere Ableitung von Stoffen zum Vegetationspunkt besteht, sind die Bedingungen für die Speicherung aller Kohlehydrate, Monosen miteinbegriffen, äußerst günstig. Während der ersten Lebenshälfte der Pflanzen, vor dem Blühen, wird die Speicherung von Monosen in den Blättern (wir halten die Monosen für die bei der Photosynthese gebildeten primären Zuckerarten) durch das Verhältnis zwischen der Geschwindigkeit ihrer Bildung bei der Photosynthese und der Geschwindigkeit ihres Verbrauches beim Aufbau und bei der Atmung bestimmt. Sowohl bei der Sonnenblume als auch beim Tabak wird trotz des gesteigerten Aufbaues komplizierter Kohlehydrate und N-haltiger organischer Verbindungen (wie weiter gezeigt wird) eine Speicherung von Monosen, begünstigt durch den Rückgang der Atmung, in den Blättern beobachtet. Durch Bildung von Monosen in dieser ersten Lebenshälfte der Pflanzen werden nicht nur alle Bedürfnisse des Organismus an Monosacchariden gedeckt, sondern es wird ein bedeutender Teil davon, als überschüssig, in Form von Polysacchariden gespeichert. In den Tabakblättern kann man zwischen dem zweiten und dritten Entwicklungsstadium ein Intervall von beständigem Monosegehalt feststellen. Im Moment des Blühens wächst er stark an, was von einem starken Zerfall von Polysacchariden und bei der Sonnenblume auch von Disacchariden begleitet wird. Bei der Sonnenblume erreicht der Monosegehalt in dieser Periode fast 60% der Gesamtkohlehydrate und beim Tabak 27%. Die Speicherung der Monosen ist in den Blättern von geköpftem Tabak bedeutend größer; sie erreicht 46% der Gesamtkohlehydrate; das scheint bei diesen Pflanzen mit einem starken Stärke- und Maltosezerfall und einer geringeren Ableitung in den Stengel verbunden zu sein. Während dieser Periode scheint die Mobilisation von Monosen bei geköpften Pflanzen durch das gesteigerte Wachstum der jungen Blätter der oberen Etagen bedingt zu sein; zum Aufbau dieser Blätter werden sicher nicht nur Erzeugnisse der eigenen Photosynthese, sondern auch die von den älteren Blättern gesammelten Speicherstoffe verbraucht.

In der Periode nach dem Blühen nimmt der Monosegehalt der Blätter infolge ihres Zerfalls für den Aufbau von Polysacchariden und durch die gesteigerte Atmung stark ab. In den Blättern geköpfter Sonnenblumen ist diese Abnahme trotz der stärkeren Polysaccharidbildung und einer größeren Zunahme der Atmungsenergie bedeutend weniger scharf ausgeprägt als in solchen fruchttragender Exemplare. Das steht

sicher damit im Zusammenhang, daß bei fruchttragenden Pflanzen die Ableitung der Kohlehydrate zu den reifenden Samen noch fortgesetzt wird, wenn auch im Vergleich zum vorangehenden Stadium des Blühens nur in geschwächtem Maße. Bei geköpften Pflanzen wird das Wachstum der Blätter der oberen Etagen zu dieser Zeit stark gehemmt oder sogar ganz beendet, infolgedessen verschwindet auch der Hauptantrieb zur Ableitung von Kohlehydraten aus den unterhalb liegenden Blättern. Zudem besaßen die Blätter geköpfter Pflanzen während dieser Periode außer anderen Anzeichen physiologischer Jugend auch die Fähigkeit, das Chlorophyll länger zu erhalten, was in einem späteren Gelbwerden der Blätter zum Ausdruck kam. Infolgedessen mußten sie auch eine intensivere Photosynthese aufweisen. Der prozentuale Gehalt der Gesamtkohlehydrate an Monosen fällt in den Blättern der fruchttragenden Sonnenblumen auf 9,27%, in Blättern von geköpften Pflanzen dagegen nur auf 21,96%.

Beim Abschluß der Vegetationsperiode des Tabaks mit dem Anfang des Gelbwerdens der Blätter werden in diesen wieder Monosaccharide gespeichert, was mit einem Rückgang der Polysaccharide und der Saccharose einhergeht. In der Periode der Vergilbung der Blätter und beim Abschluß der Vegetationsperiode erfolgt die letzte Mobilisation von Monosacchariden, die mit der Ableitung der Kohlehydrate in den Stengel verbunden ist.

Wenn wir die Ergebnisse über die Veränderungen der einzelnen Komponenten der Kohlehydratgruppe und die Veränderungen der Gesamtkohlehydrate in verschiedenen Entwicklungsstadien der Sonnenblumen- und Tabakblätter betrachten, so kommen wir zum Schluß, daß das Altern des Blattgewebes unter natürlichen Bedingungen der Entwicklung durch folgende Eigentümlichkeiten charakterisiert wird:

1. Die Gesamtkohlehydrate nehmen pro Einheit der Blattfläche mit dem Alter des Blattes zu, was zweifellos sowohl mit der Abnahme der Ableitung von Kohlehydraten aus ihrem Bildungsort als auch mit einer Einschränkung in ihrem Verbrauch bei Aufbau und Atmung in Zusammenhang steht.

2. Die Periode des Blühens der Pflanzen zeichnet sich sehr bestimmt durch eine Abnahme der Kohlehydrate in den Blättern aus, obwohl während dieser Zeit der Verbrauch für die Atmung minimal ist. Zweifellos wird diese Abnahme in den Blättern während dieser Periode durch gesteigerte Ableitung in die fruchttragenden Pflanzenteile und in die jungen sich entwickelnden Blätter der oberen Etagen, besonders bei geköpften Pflanzen, verursacht.

3. In der Periode nach dem Blühen fängt der Gehalt an Gesamtkohlehydraten und an Polysacchariden pro Blattflächeneinheit wieder zu steigen an und erreicht sein Maximum in alten ausgewachsenen Blättern.

Der Beginn ihres Gelbwerdens wird durch die Abnahme des Kohlehydratgehaltes in Form von Stärke, Dextrinen und Saccharose pro Blattflächeneinheit charakterisiert.

4. Der prozentuale Gehalt an Gesamtkohlehydraten in der Trockensubstanz und derjenige an Polysacchariden vom Typus der Stärke und Dextrine erreicht sein Maximum in jungen Blättern vor dem Blühen.

5. Für das Alter des Blattgewebes ist das Verhältnis zwischen Saccharose- und Maltosemenge charakteristisch. *Bei jungen wachsenden Blättern überwiegt vor dem Blühen Saccharose über Maltose; bei alten ausgewachsenen Blättern werden die Mengen dieser Disaccharide zuerst ausgeglichen, dann aber überwiegt in älterem Stadium Maltose bedeutend über Saccharose.*

6. *Der Gehalt an Monosacchariden erreicht sein Maximum in der Periode des Blühens.* Vor dem Blühen ist der Gehalt an diesen Zuckerarten geringer als nach dem Blühen.

7. Die Veränderungen im Gehalt der Blätter an Monosen während der ersten und zweiten Lebenshälfte der Pflanzen, d. h. vor und nach dem Blühen, folgen denjenigen der Di- und Polysaccharide nicht in gleicher Weise. Bei jungen Blättern verlaufen die Veränderungen im Gehalt an Monosen und komplizierten Kohlehydrate gleichartig und werden, wie es scheint, durch die Intensität der Photosynthese und den Verbrauch beim Aufbau und bei der Atmung bestimmt. Bei ausgewachsenen Blättern, nach dem Verblühen, verändert sich der Monosaccharidgehalt umgekehrt wie der an Polysacchariden.

Die Eigentümlichkeiten in der Verteilung der Glieder der Kohlehydratgruppe, die mit dem Alter zusammenhängen, und bei der Analyse des Blattgewebes einer bestimmten Etage während der Vegetationsperiode aufgefunden werden, treten auch bei gleichzeitiger Bestimmung der täglichen Kohlehydratbilanz der oberen und unteren Blätter hervor. Eine solche gleichzeitige Bestimmung der Kohlehydrate in den Blättern oberer und unterer Etagen erschien insofern erwünscht und interessant, als dadurch die Gewißheit erlangt wurde, daß die in der Zusammensetzung des Kohlehydratgemisches der Blätter während der einzelnen Lebensabschnitte der Pflanze gefundenen Verschiedenheiten wirklich vom Alter des Blattes und nicht von zufälligen äußeren Bedingungen abhängen. Beim Vergleich des Kohlehydratgemisches in den oberen und unteren Etagen der Blätter muß natürlich mit der Verschiedenheit der Bedingungen bei der Blattanlage und der Entwicklung der Blätter verschiedener Etagen gerechnet werden; auch muß man beachten, daß die Assimilation und die Abwanderung der Assimilate bei den Blättern verschiedener Etagen sich verschieden gestaltet, was auch die Zusammensetzung und Verteilung der Kohlehydrate sicher beeinflussen muß.

Als Versuchspflanze diente dieselbe Tabaksorte von der gleichen Parzelle, von der alle Blattproben während der ganzen Vegetationsperiode stammten; die Proben wurden in der Periode zwischen dem Blühen und Ansetzen der Fruchtkapseln (11. VIII.) gesammelt. Ausgewachsene Blätter, die aber noch nicht die technische Reife erreicht hatten, wurden aus der 4.—5. Etage von unten gepflückt; junge obere Blätter, die ihre Entwicklung noch nicht abgeschlossen hatten, stammten aus der zweiten Reihe und wurden unterhalb der Blütenstände entnommen. Zwischen den oberen und unteren Blättern befanden sich bis zu zehn Blattpaaren.

Die Gesamtmenge der Kohlehydrate (Tabelle 7) während des Tages ist in den jungen oberen Blättern größer als in den ausgewachsenen unteren. Erst gegen Abend wird ein umgekehrtes Verhältnis beobachtet. Dasselbe gilt auch für die Gesamtheit der Polysaccharide (Stärke + Dextrine). Diese Verteilung der Polysaccharide und Gesamtkohlehydrate in den Blättern der oberen und unteren Etagen wird zweifellos nicht durch das Alter des Blattgewebes, sondern durch

Tabelle 7. Kohlehydrate pro 1 qm Blattfläche in g.

	Blätter der unteren Etage			Blätter der oberen Etage		
	6 Stunden	12 Stunden	18 Stunden	6 Stunden	12 Stunden	18 Stunden
Stärke	0,239	0,072	0,660	0,603	0,637	0,691
Dextrin	0,159	0,200	0,579	0,273	0,263	0,287
Summe	0,398	0,272	1,239	0,876	0,900	0,978
Monosaccharide	0,235	—	0,092	0,378	0,607	0,457
Saccharose . .	0,136	—	0,199	0,432	0,601	0,343
Maltose	0,736	—	1,098	0,342	0,513	0,209
Summe	1,107	1,320	1,389	1,152	1,721	1,009
Summe aller Kohlehydrate	1,505	1,592	2,628	2,028	2,621	1,987

die Wassersättigung der Blätter, ihr Wasserdefizit, im Zusammenhang mit der verschiedenen Verteilung der Blätter am Stengel und mit der Temperatur und Feuchtigkeit der sie umspülenden Luft hervorgerufen. In den Mittagsstunden erfolgt in den Blättern der unteren Etagen eine starke Abnahme des Stärkegehaltes. Nach MAXIMOWITSCH und anderen Autoren (64) werden die unteren Blätter bei der Transpiration wasserärmer als die jungen der oberen Etage. Die größere Quellungsfähigkeit der Kolloide der jungen Blätter, die in der Wasserkapazität der Trockensubstanz zum Ausdruck kommt, und die die saugende Kraft des Zellinhaltes bestimmt (112, 114), ist die Ursache der Verschiedenheiten im Wasserdefizit der oberen und unteren Blätter. Erstere scheiden nicht nur schwächer in die umgebende Luft aus als die unteren, sondern saugen einen Teil des Wassers von den unteren Blättern an; in diesen letzteren wird der Wasserverlust durch die Summe: Transpirations-

wasser + Wasser, das durch die oberen Blätter abgesaugt wurde, bestimmt (109). Werden die Blätter wasserärmer, so nimmt in ihnen der Stärkezerfall zu (100, 104). Die Zerfallsprodukte der Stärke in den unteren Blättern verbleiben nicht an Ort und Stelle, wo sie gebildet waren, sondern werden in den Mittagsstunden in die oberen Blätter abgeleitet; hier wird zu dieser Zeit die größte Speicherung von löslichen Kohlehydraten beobachtet. Gegen Ende des Tages erfolgt mit der Abnahme der Transpiration eine Speicherung von löslichen Kohlehydraten und Polysacchariden in den Blättern der unteren Etagen. Von den löslichen Kohlehydraten ist es Maltose, die am meisten gespeichert wird, wodurch die Steigerung der Summe dieser Kohlehydrate bedingt wird. Monosaccharide nehmen in den unteren Blättern gegen Abend ab, weil ein verstärkter Verbrauch zum Aufbau von Di- und Polysacchariden stattfindet. In den Blättern der oberen Etagen erfolgt gegen Abend eine Abnahme aller löslichen Kohlehydrate und eine gewisse Steigerung im Gehalt von Polysacchariden. Die Summe der ersteren überwiegt am Morgen und am Tage bei den jungen oberen Blättern, während sie bei den ausgewachsenen unteren am Abend vorherrscht. *Doch enthalten von allen löslichen Kohlehydraten in allen Tagesstunden die jungen oberen Blätter mehr Saccharose und weniger Maltose als die unteren ausgewachsenen.* Das Verhältnis zwischen Saccharose und Maltose ist bei den jungen oberen Blättern kleiner als bei den unteren ausgewachsenen Blättern; bei ersteren beträgt es morgens 1,32, mittags 1,19 und abends 1,64; bei letzteren morgens 0,17 und abends 0,18. Dieses Verhältnis ist auch hier ebenso scharf ausgeprägt und für das Alter des Blattgewebes charakteristisch wie für eine und dieselbe Blätteretage auf verschiedenen Entwicklungsstadien.

Bei ausgewachsenen Blättern der unteren Etagen ist die Abnahme der Monosaccharide gegen Abend mit einer Steigerung des Poly- und Disaccharidgehaltes verbunden; der gleiche Zusammenhang wurde schon oben für ausgewachsene Blätter nach dem Blühen hervorgehoben. Bei den jungen oberen Blättern ist die Abnahme an Monosacchariden gegen Abend mit einer Steigerung nur an Polysacchariden verbunden; doch ist diese hier viel geringer als bei alten Blättern der unteren Etagen. Ebenso wie der Gehalt an Monosacchariden nimmt auch der an Disacchariden gegen Abend ab. Die abendliche Abnahme der löslichen Kohlehydrate wird, wie unten gezeigt wird, wahrscheinlich durch ihren Verbrauch zum Aufbau von Eiweißstoffen, die gegen Abend in viel größeren Mengen bei den jungen oberen Blättern als bei den erwachsenen unteren gespeichert werden, hervorgerufen.

Während der ersten Tageshälfte erfolgt bei den oberen Blättern ebenso, wie für Blätter junger Pflanzen vor dem Blühen hervorgehoben wurde, eine gleichzeitige Zunahme an allen Kohlehydrate. Die Anhäu-

fung von Monosacchariden als Folge der Photosynthese und der Zuleitung aus den unteren Etagen bedingt ihre Kondensation hauptsächlich bis zu Disacchariden und im geringeren Maße bis zu Polysacchariden.

In den Blättern der oberen Etagen wird die größte Menge von löslichen Kohlehydraten in den Mittagsstunden beobachtet. Nach den neuesten Beobachtungen von S. KOSTYTSCHEW und seinen Mitarbeitern (58) und nach den Angaben von GEMCZUGNIKOW und SKASKIN (36) zeigt die Assimilation von CO_2 während der Mittagsstunden bei vielen Pflanzen ein Minimum. KOSTYTSCHEW erklärt diese Erscheinung durch die mittägliche Speicherung der Assimilationspunkte, die auf den Vorgang der CO_2 -Assimilation hemmend einwirke. Die Speicherung von löslichen Kohlehydraten, insbesondere von Monosen in den Mittagsstunden, entspricht völlig einer solchen Erklärung für die Abnahme der CO_2 -Assimilation. Neben einer derartigen hemmenden Wirkung der gespeicherten Assimilationsprodukte ist selbstverständlich auch die Wirkung anderer Bedingungen, welche den Vorgang in derselben Richtung verändern, nicht ausgeschlossen. Auch die Erklärung von GEMCZUGNIKOW, nach der in den Mittagsstunden die höchste Lufttemperatur und das größte Wasserdéfizit erreicht werden, und somit eine Verschlechterung der Durchlüftung der Blätter stattfindet (35), scheint sehr einleuchtend zu sein. Vergleicht man die Verteilung der Kohlehydrate in jungen Blättern auf einem frühen Entwicklungsstadium der Pflanzen und bei ausgewachsenen Blättern derselben Etage nach dem Blühen einerseits und andererseits die Verteilung der Kohlehydrate bei jungen und alten Blättern von oberen und unteren Etagen während einer und derselben Zeit, so kann man einen gewissen Gegensatz im Verhältnis von alten und jungen Blättern zueinander beobachten. Das rührt wohl von den Eigentümlichkeiten der Blattentwicklung in der frühen und späten Lebensperiode der Pflanze her. Junge Blätter der oberen Etagen besitzen im Vergleich zu erwachsenen der unteren Etagen einen größeren Kohlehydratgehalt und insbesondere einen größeren Gehalt von Monosacchariden; dadurch unterscheiden sie sich von jungen Blättern der frühen Entwicklungsstadien, wo der Kohlehydratgehalt geringer ist als in den nachfolgenden Entwicklungsperioden bei den gleichen Blättern. Dieser Unterschied scheint davon herzuführen, daß die Kohlehydrate der ersten Entwicklungsstadien nur infolge eigener Assimilation angesammelt werden, während bei jungen Blättern der oberen Etagen erwachsener Pflanzen, die das Blühen beendet haben, die Anreicherung an Kohlehydraten als Ergebnis sowohl ihrer eigenen Assimilation als auch der Zuleitung aus Blättern der unteren Etagen erfolgt. Außerdem ist natürlich auch der Verbrauch von Kohlehydraten für den Aufbau nicht immer der gleiche. Bei jungen Blättern des frühen Entwicklungsstadiums der Pflanzen werden Kohlehydrate nicht nur zum Aufbau von eigenen Geweben verbraucht, sondern auch in bedeu-

tenden Mengen zum Vegetationspunkt des Stengels und der Wurzeln, die sich im erhöhten Wachstum befinden, abgeleitet. Bei den oberen Blättern der Pflanzen mit abgeschlossener Entwicklung ist die Abführung von plastischem Material bedeutend geringer, und der Verbrauch für den Aufbau erfolgt hauptsächlich im Blatt selbst. Durch die Anhäufung von Monosen in den oberen Blättern wird die Speicherung von Maltose bedingt; eine solche wird bei jungen Blättern auf frühen Entwicklungsstadien der Pflanzen, wenn ein gesteigerter Verbrauch von Assimilaten für plastische Arbeit stattfindet, nicht aufgefunden. *Das Fehlen von Maltose in den Blättern des ersten Entwicklungsstadiums wird nicht dadurch bedingt, daß diese hier garnicht gebildet wird, sondern es fehlt hier die nötige Konzentration von Monosen, um Maltose in merkbaren Mengen zu speichern; auch wird hier Maltose im verstärkten Maße sogleich zur Bildung von Stärke verbraucht.*

N-haltige Stoffe.

Der Stoffwechsel N-haltiger Verbindungen ist am eingehendsten an keimenden Samen untersucht worden (5, I; 56; 85; 76; 97). Als beständiges Glied der dabei stattfindenden Umwandlungen ist der Ammoniak anzusehen, der das Ausgangsmaterial für den Aufbau von N-haltigen Verbindungen darstellt und auch als das Ergebnis des entgegengesetzten Vorganges, der tiefgehenden Spaltungen N-haltiger Komponenten der lebenden Zelle (43, 53, 85, 86), auftreten kann. Die Speicherung des Ammoniaks in lebenden Geweben erfolgt einerseits durch Aufnahme aus dem Außenmedium oder durch Reduktion des aufgenommenen Nitrat-N (57, 96, 111, 115), oder schließlich auch infolge Spaltung der organischen Verbindungen der Zelle. Andererseits wird die Anhäufung von Ammoniak durch die Geschwindigkeit, mit der es in den Abläufen der Synthese verbraucht wird, bedingt. Für jeden Lebensmoment der pflanzlichen Zelle wird der Gehalt an Ammoniak durch das Verhältnis der Geschwindigkeiten der entgegengesetzt verlaufenden Reaktionen von Ammoniakbildung und -verbrauch bestimmt. Die Ausnutzung des Ammoniaks bei den Vorgängen der Synthese wird, wie die Versuche von BUTKÉWITSCH (10) und SMIRNOW (97) gezeigt haben, durch die Anwesenheit und die Menge der N-freien Reservestoffe in der Zelle bestimmt. In den Versuchen von BUTKÉWITSCH speicherten etiolierte Lupinenkeimlinge mit dem Alter bedeutende Mengen von Ammoniak. Wurden aber diesen Keimlingen Kohlehydrate zugeführt, so nahm der Gehalt an Ammoniak bedeutend ab, während der N-Gehalt der Säureamide bedeutend zunahm. Bei der Ernährung von etiolierten Lupinenkeimlingen mit Ammoniaksalzen in sterilen Wasserkulturen wurde festgestellt, daß trotz der in diesem Fall gesteigerten Aufnahme von Stickstoff aus der Nährlösung in dem Gewebe weniger Ammoniak gespeichert und mehr Amidostickstoff

gebildet wird als ohne ergänzende Ernährung mit Kohlehydraten (SMIRNOW 1923). Die Steigerung des Amidostickstoffes bei gleichzeitiger Abnahme des Ammoniaks auf Grund künstlicher Ernährung mit Kohlehydraten erfolgt wahrscheinlich als Folge der Bildung von Oxy- und Ketosäuren. In Übereinstimmung mit den Angaben für tierische Organismen (27, 28, 49, 50, 53, 54) wurde in den Versuchen von SMIRNOW festgestellt, daß eine Steigerung von Amidstickstoff in den etiolierten Maiskeimlingen, die mit Ammoniumsalzen ernährt werden, nicht nur bei Zuführung von Kohlehydraten, sondern auch bei Verabfolgung von Äpfel- und Bernsteinsäure, welche einen dem Asparagin entsprechenden Bau besitzen, erfolgt (53, 97).

Bei dauernder Ernährung von etiolierten Keimlingen mit Ammoniumsalzen und Kohlehydraten erfolgt eine Synthese von Amiden und Eiweißstoffen, ebenso wie bei einer Keimung im Licht (85, 92). Das Maß der Versorgung des pflanzlichen Organismus mit N-freiem organischem Material bedingt die Zusammensetzung der N-haltigen Stoffe der Zelle. Bei Mangel an Kohlehydraten, wie er durch dauernden Lichtmangel eintritt, wird in lebenden Zellen Ammoniak gespeichert; dieser kann bei Ernährung mit Kohlehydraten je nach den Mengen, die den Keimlingen zur Verfügung stehen, nicht nur zur Synthese von Säureamiden, die in physiologischer Beziehung als eine unschädliche Form des Ammoniaküberschusses anzusehen sind, sondern auch weiter über das Stadium der Aminosäuren als Material für die Eiweißbildung verwendet werden.

Der N-Stoffwechsel der Blätter ausgewachsener Pflanzen wurde viel weniger untersucht als derjenige der Samen (22, II; 56), was sich wohl teilweise durch die bedeutenden Schwierigkeiten einer solchen Untersuchung erklärt. Erst in der allerletzten Zeit ist die in dieser Beziehung vorhandene Lücke durch die Arbeiten von A. CHIBNALL (15, 16, 19) und K. MOTHES (18) so ziemlich ausgefüllt.

Durch die Arbeit von MOTHES, der eine sehr ausführliche Literaturliste über die Umwandlungen der N-haltigen Stoffe im Pflanzenorganismus beigegeben ist, wurde festgestellt, daß die Thesen, die für den N-Stoffwechsel der keimenden Samen aufgestellt waren, auch vollständig für ausgewachsene grüne Blätter gelten.

Ebenso wie bei Keimlingen steht der N-Stoffwechsel der Blätter in engem Zusammenhang mit der Kohlehydratversorgung¹. Doch tritt dieser Zusammenhang bei abgeschnittenen Blättern hervor, bei denen die Ableitung von Stoffwechselprodukten und der Einfluß der Entwicklung der übrigen Pflanzenorgane entweder ganz ausgeschaltet oder doch sehr gehemmt wurde. Uns interessierte das Vorhandensein von biochemischen Merkmalen des Alters des Blattgewebes unter natürlichen Be-

¹ Dasselbe wurde in der unlängst erschienenen Arbeit von W. SCHUMACHER an panaschierten Pflanzen (95) festgestellt.

dingungen, bei denen das Blatt im Zusammenhang mit der Pflanze verbleibt und mit ihr eine Einheit darstellt, so daß es vom ganzen Organismus beeinflußt wird und am gemeinsamen Stoffwechsel teilnimmt; deshalb war es für uns sehr erwünscht, nachzuprüfen, inwieweit unter solchen Bedingungen die Gesetzmäßigkeiten, die für den N-Stoffwechsel an keimenden Samen und an isolierten Blättern festgestellt waren, Geltung haben, und welche Eigentümlichkeiten unter diesen Umständen der N-Stoffwechsel im Zusammenhang mit dem Alter des Blattes aufweist.

Die Erforschung der Umwandlungen N-haltiger Stoffe in Blättern verschiedenen Alters führten A. CHIBNALL und K. MOTHES (15, 68) zu etwas abweichenden Ergebnissen, obwohl sie mit den gleichen Pflanzen, der erste mit *Phaseolus multiflorus* und der zweite mit *Phaseolus multiflorus*, *Lupinus luteus* und *Vicia faba* arbeiteten.

A. CHIBNALL kommt auf Grund des Studiums der jahreszeitlichen Veränderungen der N-haltigen Stoffe in den Blättern von *Phas. mult.* zum Schluß, daß der Gehalt an Gesamt- und Eiweiß-N, auf das Frischgewicht bezogen, während der Vegetationsperiode ziemlich übereinstimmend variiert; bei gesteigertem Wachstum der Pflanzen und während des Fruchttragens nimmt er ab. Die Verteilung des Stickstoffs in den Eiweißstoffen der Blätter bleibt dabei während der Vegetationsperiode beständig. Der Asparagin- und Ammoniak-N verändern sich nur schwach und sind auch quantitativ während der ganzen Vegetationsdauer nur schwach vertreten. Der Nitrat-N und der Stickstoff der Monoamine wird im direkten Verhältnis zu den Eiweißen verändert, worin der Verfasser die Andeutung einer unmittelbaren Synthese von Eiweiß aus diesen N-haltigen Verbindungen erblickt.

Nach den Angaben von MOTHES erscheint die Veränderung der Glieder der N-Gruppe in erwachsenen Blättern von *Vicia faba* und *Phas. mult.* in einem anderen Licht.

In der ersten Zeit erfolgt ein Anwachsen des Eiweiß-N, das nicht immer parallel zum Gesamt-N erfolgt. Nachdem das Maximum erreicht ist, nimmt sowohl der Eiweiß-N als auch der Gesamt-N pro Frischgewicht des Blattes ab. In den gelb gewordenen Blättern ist der N-Gehalt am geringsten. Die löslichen Stickstoffverbindungen veränderten sich nicht gleichmäßig, was der Verfasser durch Veränderungen der Temperatur und Belichtung erklärt. Doch erfolgte die Abnahme der löslichen N-haltigen Stoffe mit dem Alter der Blätter viel langsamer als die des Eiweiß-N. Der Zeitabschnitt, während dessen die Veränderungen der N-Gruppe der Blätter ermittelt wurden, betrug in der Arbeit von CHIBNALL 143 Tage, in der Arbeit von MOTHES für *Vicia faba* 25 Tage und für *Phas. mult.* 15 Tage. Beide Verfasser beendigten die Untersuchungen der Blätter im Stadium des Gelbwerdens. Es ist möglich, daß die Verschiedenheit in den Ergebnissen durch die verschiedene Zeitdauer der Beobachtungen zu erklären ist. Vergleicht man die Angaben von MOTHES und CHIBNALL nur soweit sie sich auf die letzten Wochen nach der Fruchtbildung beziehen, so ist die Abweichung zwischen beiden viel geringer.

Mit dem Alter des Blattgewebes nimmt nach den Angaben von CHIBNALL und MOTHES seine Fähigkeit zum Aufbau der Eiweiße ab. Alte gelb werdende Blätter würden dementsprechend im Lichte bei einer Versorgung mit Kohlehydraten (67, 119) befähigt sein, die Eiweiße stärker zu zersetzen als zu synthetisieren, was den jungen Blättern, in denen die Synthese vor dem Zerfall vorherrscht, nicht

eigen ist. Bei künstlicher Ernährung von Blättern mit fertigen Kohlehydraten und Ammoniaksalzen erfolgt nach MOTHES eine Steigerung des Eiweiß-N nur bei jungen Blättern. Alte Blätter vermögen unter diesen Bedingungen den Eiweißgehalt entweder nur schwach zu steigern, oder es fehlt bei ihnen diese Fähigkeit ganz. Werden die alten Blätter mit Asparagin oder Ammoniaksalzen ernährt, so fahren sie fort, die in ihnen vorhandenen Eiweiße sowohl bei Belichtung als auch im Dunkeln auch bei Zuführung von fertigen Kohlehydraten zu spalten.

Die gleiche Verschiedenheit zwischen alten und jungen Blättern in ihrer Fähigkeit, Eiweißstoffe zu synthetisieren, wurde auch in unseren ersten Untersuchungen über den N-Stoffwechsel in Tabakblättern im Jahre 1925 festgestellt (95).

Eiweiß-N in Prozent des Gesamt-N.

Setzlinge	Pflanzen mit 8—10 Blattpaaren	Pflanzen zur Zeit des Blühens	Pflanzen mit technisch reifen Blättern
55,89	66,52	61,89	54,9

Die Abnahme des relativen Gehaltes an Eiweiß-N in den Tabakblättern mit ihrem Alter steht nicht mit der Abnahme der Kohlehydrate im Zusammenhang. Der Kohlehydratgehalt der wachsenden Blätter wird, wie oben gezeigt wurde (Tabelle 6), nach einer vorübergehenden Abnahme während des Blühens nach dem Verblühen der Pflanzen wieder erhöht.

Ein Vergleich der Verteilung der N-haltigen Verbindungen pro Blattflächeneinheit bei Sonnenblume und Tabak zeigt einige Eigentümlichkeiten in analogen Entwicklungsstadien der beiden Pflanzen.

Die Blattproben für die Analyse der N-haltigen Gruppe wurden zur selben Zeit, wie auch für die der Kohlehydratgruppe und zur Ermittlung der Atmung entnommen. Die Ergebnisse für Sonnenblume sind in Tabelle 8 und Abb. 8 angeführt.

Tabelle 8. N in mg pro 1 qm Blattfläche.

Zeit und Entwicklungs- stadium der Pflanzen:	I.—24. V. 2—3 Blatt- paare	II.—17. VI. 8—10 Blatt- paare	III.—12. VII. Blühen der Pflanzen	IV.—27. VIII.	
				Normale fruchttragende Pflanzen	Geköpfte Pflanzen
Gesamt-N	1369,0	2273,7	1581,3	2483,5	2700,8
Eiweiß-N	1261,9	2078,8	1485,6	2413,2	2317,4
N nach SÖRENSEN	65,0	103,4	79,3	68,7	206,9
Säureamid-N	16,4	7,1	6,2	8,7	13,1
Ammoniak-N	15,4	13,4	14,3	19,8	26,9

Die Beobachtungen konnten nicht bis zum späten Lebensstadium (Gelbwerden der Blätter) fortgesetzt werden, weil die Pflanzen und besonders die fruchttragenden Exemplare von *Puccinia helianthi* befallen wurden.

Die während der Vegetationsperiode stattfindenden Veränderungen an Gesamt- und Eiweiß-N sind den Veränderungen der Gesamtkohlehydrate ganz analog. Während des Blühens tritt eine Depression im Gesamt-N-Gehalt und im Eiweiß-N ein, welche der Depression im Kohlehydratgehalt und in der Atmungsenergie ganz analog ist. Das hängt zwei-

fellos nicht nur mit der Ableitung von N-haltigen Stoffen während des Blühens, sondern auch mit der während dieser Zeit geschwächten Synthese von Eiweißstoffen zusammen. Der Rückgang der Gesamtkohlehydrate wird durch den an Reservepoly- und -disacchariden in den Blättern bedingt. Die aktive Kohlehydratform (Monosaccharide) weist zu dieser Zeit eine scharfe Steigerung auf. Folglich ist weder an plastischem noch an energetischem Material für die Synthese der Eiweißstoffe während dieser Zeit ein Mangel vorhanden.

Während dieses Lebensstadiums der Pflanzen wird die Synthese der Eiweißstoffe in den Blättern wahrscheinlich durch denselben Faktor be-

beschränkt wie auch beim Lebensabschluß in der Periode des Gelbwerdens; während dieser Zeit kann nach MOTHERS sogar eine künstliche Zuführung von Kohlehydraten zu den Blättern den Eiweißzerfall nicht verhindern. In der Periode des Gelbwerdens der Blätter nimmt, wie das aus den Angaben für Tabakblätter zu ersehen war (Tabelle 4), die Atmungsenergie trotz des hohen Kohlehydratgehaltes in Form von Monosen stark ab (Tabelle 6).

Die Abnahme des Gesamt-N während der Periode des Blühens wird durch seine Ableitung zu den blühenden Pflanzenteilen und zu den in Entwicklung begriffenen oberen Blättern bedingt. Da während dieser Periode keine bedeutende Abnahme von beweglichen (kristallinen) Verbindungen beobachtet wird, so ist das ein Zeichen dafür, daß diese nach ihrer Ableitung aus den Blättern bei der Eiweißspaltung wieder erneuert werden; dieser Vorgang führt dazu, daß eine bestimmte Ausgeglichenheit zwischen den eiweißhaltigen und eiweißfreien N-Verbindungen hergestellt wird. Wenn während des Blühens in erwachsenen

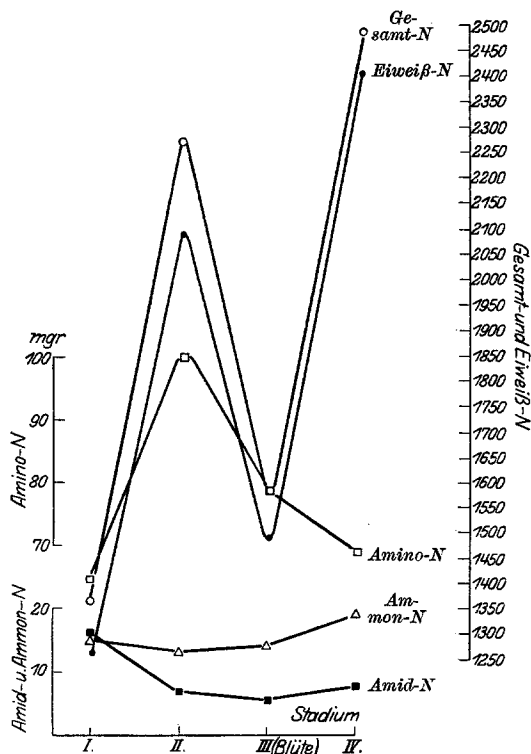


Abb. 8. Sonnenblumenblätter, N-Gehalt pro Flächeneinheit.

Blättern eine Eiweißsynthese auf Kosten des aufgenommenen mineralischen N stattfindet, so ist ihre Geschwindigkeit bedeutend geringer als diejenige des umgekehrten Vorganges, des Eiweißzerfalls.

Mit der Beendigung des Blühens nimmt die Abwanderung der Stoffe aus den Blättern ab; im Zusammenhang damit wird in den Blättern wieder eine Zunahme an Gesamt- und Eiweiß-N beobachtet, was den Angaben von CHIBNALL (15) vollkommen entspricht. Während dieses Entwicklungsstadiums der Blätter wird in ihnen der gesamte Gehalt an Kohlehydraten gesteigert, wobei gleichzeitig deren aktive Formen, die Monosen, zurückgehen; diese letzteren werden beim Aufbau von Poly- und Disacchariden und auch bei der gesteigerten Atmung verbraucht. Das Zusammenfallen der erneuten Speicherung von Eiweißstoffen mit einer Steigerung der Atmungsenergie, und die Unabhängigkeit dieser Speicherung von der Abnahme des Monosegehaltes sind als ein neues Anzeichen dafür anzusehen, daß zwischen der Eiweißsynthese und der durch die Atmung freiwerdenden Energie ein Zusammenhang besteht, und daß die Eiweißsynthese nicht ausschließlich von der Konzentration der Monosaccharide abhängt. In dieser letzteren Beziehung ist die Verteilung der N-haltigen Stoffe in gleichaltrigen Blättern fruchttragender und geköpfter Pflanzen sehr charakteristisch. In letzteren ist bei größerem Gehalt an Gesamt-N und Gesamtkohlehydraten, besonders Monosen, in den Blättern die Menge des Eiweiß-N nicht größer als in normalen fruchttragenden Pflanzen. Der Rückgang der Stoffableitung aus den Blättern der geköpften Pflanzen, welche mit einer Speicherung von Monosacchariden und nichteiweißartigen N-Verbindungen einhergeht, ruft in diesen Blättern keine Anhäufung von Eiweiß-N hervor. Die Fähigkeit zur Eiweißsynthese kann bei ausgewachsenen Blättern nicht durch Beseitigung oder durch Verminderung der Abführung der Kohlehydrate und kristallinen Stoffverbindungen erhöht werden, ebensowenig wie dies nach MOTHEs durch eine künstliche Kultur der ausgewachsenen Blätter auf Kohlehydratlösungen in Anwesenheit von Ammoniumsalzen oder Asparagin erreicht wird. Sogar der Energieüberschuß, der in den Blättern der geköpften Pflanzen infolge etwas gesteigerter Atmung frei wird, wird in diesen Blättern nicht für eine Erweiterung der Eiweißsynthese ausgenutzt. Diejenige Energiemenge, welche bei der Atmung der Blätter von normalen fruchttragenden Pflanzen frei wird, reicht, wie es scheint, vollkommen aus, um die Fähigkeit zur Eiweißsynthese in den ausgewachsenen Blättern zur vollen Auswirkung zu bringen.

Der gesteigerte Gehalt an Gesamt-N in den Blättern der geköpften Pflanzen ist mit einer bedeutenden Steigerung des Aminosäure-N-Gehaltes in diesen Blättern verbunden. Der Gehalt an Ammoniak und Amid-N ist in solchen Pflanzen im Vergleich zu Blättern normaler auch

etwas gesteigert. Die Veränderung im Gehalt des Gesamt-N während der Vegetationsperiode pro Blattflächeneinheit ist sowohl mit einer Veränderung in der Aufnahmegeschwindigkeit von Mineral-N aus dem Boden, als auch mit den Erscheinungen der Wanderung von Stoffen aus den Blättern verbunden. Nach den Angaben von A. RIPPEL und O. LUDWIG (88) erfolgt die größte N-Aufnahme aus dem Boden während der ersten Lebenshälfte der Sonnenblumenpflanze vor dem Blühen; während des Blühens wird eine Unterbrechung in der N-Aufnahme beobachtet; sie wird nach dem Blühen wieder bis zum Abschluß der Vegetationsperiode fortgesetzt, doch mit geringerer Stärke. Der N-Gehalt pro Blattflächeneinheit während der Vegetation bestätigt den Gang der N-Aufnahme nach A. RIPPEL und O. LUDWIG, doch mit einer Abweichung, die darin besteht, daß die N-Speicherung nach dem Blühen nicht weniger schnell als vor ihm vor sich geht. Daß erstere nach dem Blühen mit der Geschwindigkeit der N-Aufnahme nicht Schritt hält, hängt wahrscheinlich mit dem Rückgang der Stoffableitung aus den Blättern während des Blühens zusammen. Für einen jeden Lebensmoment eines an der Pflanze befindlichen Blattes ist der N-Gehalt das Ergebnis von zwei in entgegengesetzten Richtungen verlaufenden Vorgängen, der Aufnahme und der Ableitung. Er wird nur durch das Verhältnis zwischen den Geschwindigkeiten dieser beiden in entgegengesetzten Richtungen verlaufenden Vorgänge und nicht durch die absolute Geschwindigkeit eines einzelnen Vorganges bestimmt.

Es ist interessant, hervorzuheben, daß der Gehalt an Gesamt-N pro Trockensubstanz der Blätter in verschiedenen Entwicklungsstadien besser mit dem Gang der Aufnahme von N durch die Pflanze übereinstimmt.

Stadien	I normal	II normal	III normal	IV normal	IV geköpft
N (Prozent)	4,6	5,78	3,77	3,85	4,34

Ebenso wie für die N-Aufnahme nach RIPPEL und LUDWIG, wird hier das Maximum während der ersten Lebenshälfte des Blattes erreicht; nach dem Blühen wird die Speicherung von Stickstoff zwar wieder hergestellt, doch der früher erhaltene Betrag nicht mehr erreicht. Dieses Beispiel zeigt noch einmal, welche Bedeutung beim Studium der Blattsubstanzdynamik die Ausdrucksweise der stattfindenden Veränderungen hat. Dasselbe gilt auch für Tabaksblätter (Tabelle 10).

Die gleichzeitige Zunahme von Gesamt- und Eiweiß-N in den jungen in Entwicklung begriffenen Blättern und auch die Zunahme des N, welcher nach SÖRENSEN bestimmt wird, deutet darauf hin, daß der lebhaften Aufnahme von mineralischem Boden-N sofort eine Überführung desselben in organische Verbindungen (Aminosäuren) folgt; diese letzten werden unverzüglich zu Eiweißkomplexen kondensiert.

Der Amid- und Ammoniak-N nimmt in den Blättern während des

Stadiums des gesteigerten Wachstums (II) ab, wobei er teilweise zum Aufbau der Aminosäuren verbraucht, teilweise aber zu der wachsenden Stengelspitze abtransportiert wird. In jungen Blättern erfolgt die Eiweiß- und Aminosäuresynthese bei gesteigertem Gehalt an komplexen und einfachen Kohlehydraten. Die nach dem Blühen wieder einsetzende Speicherung von Gesamt-N und die Wiederaufnahme der Eiweißsynthese werden von einer Abnahme der Monosen begleitet. Der gesteigerte Gehalt an Kohlehydraten und insbesondere an Monosacchariden in den Blättern geköpfter Pflanzen ist eine der Ursachen, die die reichliche Speicherung der Aminosäuren und teilweise auch von Amiden in diesen Blättern mitbestimmt; doch ist die Menge des Eiweiß-N, wie schon oben angedeutet, hier nicht größer als in den Blättern fruchttragender Pflanzen, bei denen der Monose- und Aminosäuregehalt geringer zu sein pflegt.

Wenn man den Gehalt der von uns bestimmten N-Formen in Prozenten des Gesamt-N ausdrückt, so kann man sehen, daß auf allen Entwicklungsstadien der Blätter der relative Eiweiß-N-Gehalt ziemlich beständig ist, von geköpften Pflanzen abgesehen, bei denen er infolge gesteigerter Bildung von Aminosäuren, die nicht verbraucht werden, bedeutend vermindert wird.

Tabelle 9. Relative Verteilung des Stickstoffs (in Prozenten vom Gesamt-N) in Sonnenblumenblättern.

Entwicklungsstadium	I blühend	II blühend	III blühend	IV Früchte tragend	IV geköpft
Eiweiß-N	92,48	91,47	93,95	97,13	85,8
N nach SÖRENSEN .	4,75	4,55	5,01	2,77	7,66
N der Säureamide .	1,20	0,31	0,39	0,35	0,48
N des Ammoniaks .	1,12	0,59	0,91	0,79	0,99

Der Amid-N, der nach seiner physiologischen Bedeutung eine unschädlich gemachte Form von gespeichertem Ammoniak-N darstellt, wird in größten Mengen in Blättern der frühesten Entwicklungsstadien der Pflanzen vorgefunden; in diesem Lebensstadium ist die assimilierende Blattfläche bei der Pflanze noch zu wenig entwickelt, und der Gehalt der Pflanze an löslichen Kohlehydraten wahrscheinlich für eine schnelle Umarbeitung von Ammoniak in die für den Aufbau der Eiweiße nötigen Aminosäuren zu gering. Mit der Entwicklung der Blattfläche ändert sich der absolute Ammoniakgehalt nur wenig, während der relative Gehalt fast zweimal kleiner wird. Diese relative Abnahme des Ammoniaks in den Blättern wird durch seinen schnelleren Verbrauch für den Aufbau von Aminosäuren erklärt; die letzteren werden in diesem Entwicklungsstadium so lebhaft synthetisiert, daß trotz ihres Abtransports aus den Blättern zu den Stengelspitzen und zu den oberen Blattetagen und trotz

ihres gesteigerten Verbrauches für die Eiweißbildung (Tabelle 8) ihr Gehalt in den Blättern fast um das $1\frac{1}{2}$ fache erhöht wird. Über die Geschwindigkeit der Eiweißsynthese auf Kosten von Aminosäuren kann man auf Grund ihres beständigen relativen Gehaltes und auch auf Grund desjenigen an Eiweiß-N im Vergleich zum ersten Stadium urteilen. Im Stadium des Blühens wird die relative Verteilung der N-haltigen Stoffe, und zwar durch Vermehrung des Amino- und Ammoniak-N, verändert; das geschieht, weil zu dieser Zeit Zerfallsvorgänge in den Blättern im Zusammenhang mit der Stoffableitung zu den blühenden Pflanzenteilen und zu den oberen Blättern über die Synthese vorherrschen.

Nach Beendigung des Blühens findet während der Periode der Samenbildung nicht nur ein Anwachsen des absoluten Gehaltes an Eiweiß- und Gesamt-N pro Blattflächeneinheit statt, sondern es erreicht auch der prozentuale Gehalt des Gesamt-N an Eiweiß-N sein Maximum. An den Blättern der normalen fruchttragenden Sonnenblumen kann man folglich nicht eine Abnahme der Fähigkeit älter werdender Gewebe zur Eiweißsynthese, wie das für die Leguminosen *MOTHEE* hervorhebt, feststellen. Es ist möglich, daß bei den Sonnenblumenblättern normaler Pflanzen eine Abnahme der synthetisierenden Fähigkeit erst im späteren Alter eintritt, doch wurde leider dieses Alter von uns nicht untersucht. Die Anhäufung von Kohlehydraten in ausgewachsenen Blättern infolge der Hemmung der Ableitung durch Köpfen vermag aber nicht die Eiweißsynthese zu heben, obwohl die Strukturelemente des Eiweißes (die Aminosäuren) unter diesen Umständen in sehr großen Mengen gebildet werden¹.

In Tabakblättern wurde die N-haltige Gruppe eingehender untersucht; hier bietet die Veränderung ihrer Komponenten ein etwas anderes Bild. Das Verhältnis zwischen den einzelnen N-haltigen Stoffen bleibt nämlich mit dem Alter nicht so beständig wie bei Sonnenblumenblättern.

Die Veränderung im Gehalt an Gesamt-N war in Tabakblättern bei normalen und geköpften Pflanzen verschieden, was wahrscheinlich mit dem verschiedenen physiologischen Zustand des Blattgewebes und der Verschiedenheit in der Stoffableitung in Zusammenhang zu bringen ist. Bei der Umrechnung auf das Frischgewicht der Blätter wies der Gesamt-N während der ganzen Vegetationsperiode bei normalen Pflanzen einen wellenähnlichen Verlauf auf, wobei eine gewisse Abnahme des N-Gehaltes in der Periode der Blütenknospenbildung und eine nachfolgende Steigerung während des Blühens und der Fruchtbildung stattfand. Bei geköpften Pflanzen wuchs der N-Gehalt ununterbrochen bis zur Periode der technischen Blattrife an, um mit dem Beginn des Gelbwerdens abzunehmen. Diese Schwankung wird durch die Veränderung des Roh-

¹ Der Gehalt an Aminosäuren ist in geköpften Pflanzen fast dreimal so groß wie in gleichaltrigen fruchttragenden Pflanzen.

gewichts der Blätter während der einzelnen Entwicklungsstadien verursacht (Tabelle 2 und 10).

Eine wellenähnliche Veränderung im Gehalt an Gesamt-N pro Frischgewicht der Blätter wurde schon in der Arbeit von CHIBNALL (15) für Bohnen hervorgehoben. Auf die Blattflächeneinheit bezogen ergibt sich ein anderer Verlauf (Tabelle 10, Abb. 9): Im Anfang der Blattentwicklung

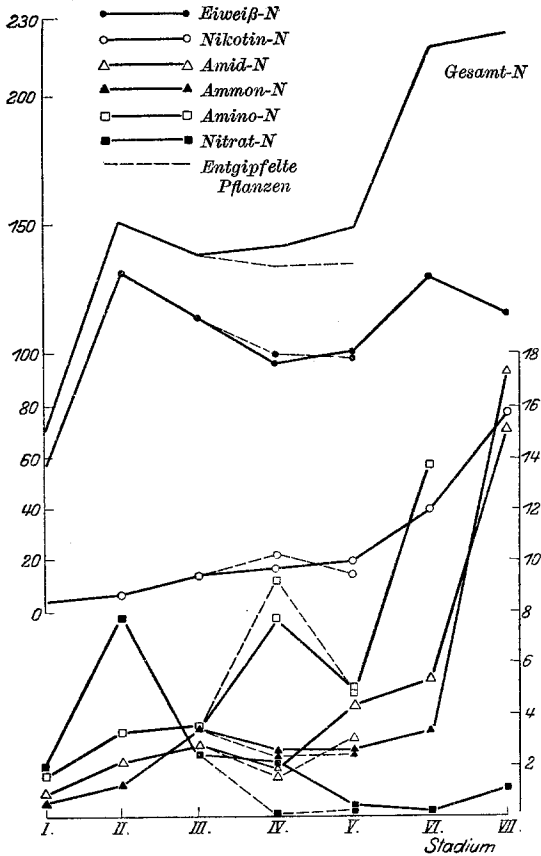


Abb. 9. Tabakblätter, N-Gehalt pro Flächeneinheit.

(vom ersten zum zweiten Stadium), wenn ein verstärktes Wachstum der Blattspreite stattfindet, ist fast eine 2fache Zunahme des Gesamt-N pro Blattflächeneinheit festzustellen. Weiter, im Stadium der Blütenknospenanlage, fällt der Gesamt-N in derselben Blatttage merklich, obwohl das Blattwachstum zu dieser Zeit schon beträchtlich langsamer wird. Die Abnahme des Gesamt-N pro Blattflächeneinheit wird auch während des Blühens der Pflanzen im Zusammenhang mit der zweifelloh zunehmenden Ableitung der Stoffe zu den blühenden Stengelspitzen und zu den oberen Blättern, die sich im Stadium lebhafter

Entwicklung befinden, fortgesetzt. Mit der Beendigung des Blühens und mit der Verlangsamung des Wachstums der oberen Blätter hört die Abnahme des Gesamt-N pro Flächeneinheit der ausgewachsenen Blätter der unteren Etagen auf.

Folglich ist beim Tabak ebenso wie auch bei der Sonnenblume die Periode des Blühens mit einer Abnahme des N-Gehaltes in ausgewachsenen Blättern verbunden, doch wird im Gegensatz zur Sonnenblume nach dem Blühen Gesamt-N nicht gespeichert.

Tabelle 10. N in Milligramm pro 1 qm der Blattfläche.

Zeit und Entwicklungsstadium der Pflanzen	I	II	III	IV 2. VIII.		V 20. VIII.		VI 27. VIII.	VII 16. IX.
	1. VI. Setzlinge	30. VI. 5-6 Blatt- paare	20. VII. Anlage von Blüten- knospen	Blühen		Kapselbildung		Geköpfte Pflanzen	
				normaler Pflanzen	ge- köpfter Pflanz.	nor- maler Pflanz.	ge- köpfter Pflanz.	Techn- nisch reife Blätter	Anfang des Gelb- werdens d. Blätter
¹ Gesamt-N .	687,0	(1525,3)	(1394,7)	(1350,4)	1421,0	1353,0	1498,0	2205,0	2261,0
Eiweiß-N .	562,4	1320,0	1141,0	1000,0	963,0	980,0	1011,0	1309,0	(1151,9)
N nach SÖ- RENSEN .	15,6	32,4	35,4	87,6	77,6	47,6	49,4	137,1	—
N der Säure- amide . .	9,9	20,6	27,6	16,6	19,6	30,3	43,2	52,7	151,5
Nikotin-N .	36,8	62,8	131,1	221,3	161,6	147,0	195,3	390,8	773,4
Ammoniak-N	5,2	12,4	34,8	24,9	25,3	26,6	26,7	34,4	173,2
Nitrat-N . .	19,7	77,1	24,8	0,0	21,5	3,3	4,5	3,3	11,6

Gesamt-N in Prozent des:

Frischge- wichts der Blätter . .	0,3	0,58	0,54	0,6	0,59	0,66	0,63	1,06	0,68
Gewichts der absolut trockenen Blätter . .	3,21	6,13	3,9	3,81	4,58	3,96	4,22	5,25	3,15

In Prozenten vom Gesamt-N:

Eiweiß-N . .	84,8	86,5	81,8	74,1	67,7	72,3	67,4	59,3	(50,5)
N nach SÖ- RENSEN .	2,27	2,12	2,54	6,49	5,46	3,51	3,29	6,21	—
N der Säure amide . .	1,44	1,29	1,98	1,23	1,36	2,24	2,02	2,39	6,7
Nikotin-N .	5,35	4,1	9,4	16,31	11,38	10,9	13,02	17,72	34,21
Ammoniak-N	0,75	0,81	2,5	1,84	1,78	1,88	1,78	1,56	7,76
Nitrat-N . .	2,87	5,05	1,78	0,0	1,51	0,24	0,37	0,15	0,51

Das Köpfen vor dem Ansatz der Blütenknospen hält nicht nur die Abnahme des Gesamt-N auf, sondern ruft von neuem ein Anwachsen desselben pro Blattflächeneinheit hervor, trotzdem das Blattwachstum in den geköpften Pflanzen gesteigert wird. Das Anwachsen des Gesamt-N pro Blattflächeneinheit wurde bis zu Beginn des Gelbwerdens beobachtet und erreichte zu dieser Zeit das Maximum.

Den kleinsten N-Gehalt pro Blattfläche wiesen die Blätter der Setzlinge auf; obwohl die Pflanzen in Treibbeeten mit N gut versorgt waren,

¹ Die Beträge für den Gesamt-N in Klammern sind durch Summierung aller N-Formen, die ermittelt wurden, erhalten und deshalb etwas zu niedrig.

besaßen sie eine geringe Wurzeloberfläche und verhältnismäßig geringe Saugkraft der zu wenig entwickelten hygrophilen Blätter.

Der Charakter der Veränderung des Gesamt-N während der Periode vor dem Blühen und während des Blühens der normalen Pflanzen ist bei der Berechnung auf die Trockensubstanz derselbe wie bei der pro Blattfläche. Doch ist diese Veränderung bei geköpften Pflanzen bei Berechnung auf die Trockensubstanz im Zusammenhang mit der Speicherung von Assimilaten weniger ausgeprägt als bei der pro Blattfläche. Beim Beginn des Gelbwerdens erreicht der Gesamt-N pro Blattfläche sein Maximum, während er bei Berechnung auf die Trockensubstanz das Minimum aufweist.

Werden die Veränderungen des Gesamt-N in Tabak- und Sonnenblumenblättern verglichen, so sieht man, daß sie nicht bei allen Pflanzen und nicht unter allen Bedingungen durch das Alter des Blattgewebes bestimmt werden.

Nach R. COMBES und R. ECHEVIN (21) beginnt der herbstliche Abtransport N-haltiger Stoffe in den Blättern der Bäume, der in einer Abnahme des Gehaltes des Gesamt-N pro Blattflächeneinheit zum Ausdruck kommt, in merklichen Mengen erst bei deutlichem Gelbwerden der Blätter. In der dem Gelbwerden unmittelbar vorangehenden Periode, wenn die grüne Färbung der Blätter schon schwächer zu werden beginnt und die ersten schwachen gelben Flecke an den Blättern zum Vorschein kommen, ist der Abtransport des N entweder sehr schwach oder noch gar nicht zu bemerken. Für einige Arten wird sogar eine gewisse Steigerung des N-Gehaltes bemerkbar. Erst bei Beginn deutlich ausgeprägten Gelbwerdens der Blätter fängt der N-Gehalt pro Flächeneinheit rasch abzunehmen an, und diese Abnahme wird bis zum Tod des Blattes fortgesetzt. Die Geschwindigkeit des herbstlichen Abtransportes des N aus den Blättern ist für die verschiedenen Baumarten ungleich.

Für das Alter des Tabakblattgewebes ist die Veränderung im Gehalt der einzelnen N-Komponenten und ihr prozentischer Anteil am Gesamt-N charakteristisch. Der relative Gehalt an Eiweiß-N (in Prozenten des Gesamt-N) erreicht sein Maximum bei jungen Blättern vor dem Blühen (II), um bis zum Gelbwerden beständig abzunehmen. In Übereinstimmung mit dieser Abnahme des Eiweiß-N erfolgt eine Zunahme N-haltiger Stoffe von nicht eiweißartigem Charakter; besonders regelmäßig verläuft die Zunahme des Nikotin-N. Die absolute Menge des Eiweiß-N pro Blattflächeneinheit erreicht ihr Maximum ebenfalls in frühem Entwicklungsstadium (II), doch unterscheidet sich späterhin die Veränderung des absoluten N-Gehaltes vom relativen (auf Gesamt-N bezogen). Während der Anlage der Blütenknospen nimmt der absolute Gehalt an Eiweiß-N in den Blättern fast parallel dem Gesamt-N ab. Weiter beim Beginn des Blühens tritt diese Abnahme des Eiweiß-N noch schärfer hervor. Das Stadium des Blühens und der Fruchtbildung unterscheidet sich wenig bezüglich des Gehaltes der Blätter an Eiweiß-N, wobei sowohl normale als auch geköpfte Pflanzen pro Blattflächeneinheit ziemlich gleiche

Mengen von Eiweiß-N enthalten. In ausgewachsenen Tabakblättern bleibt wie bei Sonnenblumenblättern im Stadium des Blühens die Eiweißsynthese aus, oder es geht jedenfalls bedeutend schwächer vor sich als der Zerfall, obwohl die Blätter zu dieser Zeit bedeutende Mengen von Kohlehydraten, besonders Monosen, und auch N-haltige Stoffe von nicht eiweißartiger Natur enthalten. Während der Fruchtbildung und besonders während des Blühens ist der nach SÖRENSEN bestimmte Gehalt an Amino-N viel größer als in früheren Entwicklungsstadien der Blätter. Eine solche Anhäufung von Amino-N in den Blättern, trotz seiner Abführung zu den blühenden Spitzen und den oberen lebhaft wachsenden Blättern, ist neben der Abnahme des Eiweiß-N ein sehr beredtes Anzeichen dafür, daß während dieser Zeit in den ausgewachsenen Blättern ein gesteigerter Zerfall von Eiweiß stattfindet, und dessen Synthese entweder ganz unterbleibt oder doch sehr gehemmt ist. Folglich hängen auch hier das Ausbleiben oder die starke Hemmung der Eiweißsynthese nicht mit einem Mangel an plastischem Material, sondern eher mit einem verminderten Freiwerden an Atmungsenergie zusammen (82, 83). Das Anwachsen des Eiweißgehaltes in geköpften Pflanzen im Stadium der technischen Blattrife fällt mit einer Steigerung der Atmungsenergie zusammen, obwohl zu dieser Zeit die Blätter eine geringere Menge von löslichen Kohlehydraten enthalten. Schließlich nimmt der Eiweiß-N in den gelb werdenden Blättern, wenn man ihn aus der Differenz zwischen Gesamt- und Nichteiweiß-N berechnet, wieder in Übereinstimmung mit dem Rückgang der Atmungsenergie ab; diese Abnahme erfolgt hier unabhängig von dem Anwachsen der Gesamtkohlehydrate und des Nichteiweiß-N.

Die von uns erhaltenen Ergebnisse führen zum Schluß, daß der Gehalt an Eiweiß in den verschiedenen Lebensstadien des Blattes nicht nur durch das für die Synthese der Eiweiße nötige plastische Material bestimmt wird, sondern auch von der Menge der bei der Atmung freiwerdenden Energie abhängt. Ein Mangel an plastischem Material für den Aufbau von Eiweißen in den Blättern kann nur im frühesten Lebensstadium der Blätter festgestellt werden, zu einer Zeit, wo die assimilierende Oberfläche der Blätter und das Wurzelsystem noch wenig entwickelt sind. Diese Schlußfolgerung steht in keinem Widerspruch zu der bekannten Tatsache der Steigerung der Eiweißsynthese in den Blättern infolge ihrer Ernährung mit Kohlehydraten, weil dabei gleichzeitig auch die Atmungsenergie zunimmt (55, 76, 77, 93). Der in den Arbeiten von MOTHES (68) und CHIBNALL (15) festgestellte Rückgang der Eiweißsynthese in alten Blättern, sogar im Fall der Kohlehydraternährung, und die Abnahme der Fähigkeit zur Eiweißsynthese, auf die in der unlängst erschienenen Arbeit über den Stoffwechsel der buntblättrigen Pflanzen von W. SCHUMACHER (33) hingewiesen wird, hängen zweifellos mit der Verminderung der Atmungsenergie

zusammen. Außer dem plastischen Material und dem Freiwerden von Energie bei der Atmung haben für die Eiweißsynthese noch andere zur Zeit ungeklärte Faktoren Bedeutung; das Mitspielen solcher Faktoren läßt sich in den Blättern geköpfter Pflanzen vermuten, denn diese enthalten nicht mehr Eiweiße als solche normaler Pflanzen, obwohl sie über mehr plastisches Material und eine größere Atmungsenergie verfügen. Es ist möglich, daß hier die Erscheinungen des Antagonismus der mineralischen Ionen, die bei den einzelnen Synthesen in den lebenden Zellen noch gar nicht erforscht sind, mitspielen; dieser Einfluß des Ionenantagonismus ist sehr gut denkbar, weil das Verhältnis zwischen den Ionen während der Entwicklungsperiode der Blätter nicht unverändert bleibt und die Einwirkung von mineralischen Ionen und ihres Verhältnisses zueinander auf die Aktivität der Fermente unzweideutig festgestellt worden ist (37, 71, 74, 98, 99).

Die Zunahme des absoluten Gehaltes an Eiweiß-N im Stadium der technischen Blattreife bei geköpften Pflanzen kann noch nicht als ein Beweis dafür angesehen werden, daß die synthetisierende Fähigkeit hier wieder vollkommen hergestellt ist. Gemäß dem prozentualen Gehalt an Eiweiß-N (auf Gesamt-N bezogen) erreicht sie schon in einem frühen Entwicklungsstadium (zweites Stadium) ein Maximum, um sodann bis zum Gelbwerden der Blätter dauernd abzunehmen. Diese mit dem Alter der Blätter einhergehende Veränderung und diejenige der Geschwindigkeit im Abtransport der Nichteiweiße bestimmen den Eiweißgehalt in den Blättern in den einzelnen Lebensabschnitten sowohl des Blattes selbst als auch der ganzen Pflanze.

Während der ersten Lebensperiode der Pflanze findet eine gesteigerte N-Aufnahme aus dem Boden statt, was in einer starken Zunahme des Nitrat-N in den Blättern zum Ausdruck kommt; zu dieser Zeit haben die Blätter das Maximum ihrer synthetisierenden Fähigkeit erreicht, und es wird ein Anwachsen aller N-Formen beobachtet. Obwohl zu dieser Zeit ein gesteigerter Aufbau der Eiweiße stattfindet, tritt Speicherung von Amino-, Amid- und Nikotin-N ein, was auf eine energische Assimilation des aus dem Boden aufgenommenen mineralischen N und gesteigerte Bildung von Produkten der primären Synthese der organischen N-haltigen Verbindungen schließen läßt.

Die Abnahme des Eiweiß-N in den ausgewachsenen Blättern während des Stadiums des Blühens wird von einer Speicherung von Aminosäuren begleitet. Die Geschwindigkeit, mit der die letzteren zu den blühenden Stengelteilen abgeleitet werden, ist geringer als die Geschwindigkeit, mit der die Aminosäuren als Ergebnis des Eiweißzerfalles und der unmittelbaren Synthese aus mineralischem N gespeichert werden.

Die Ursache der Nichtverwendung der gespeicherten Aminosäuren in den Tabakblättern für die Eiweiß-Synthese während des Blühens kann

außer mit Mangel an Energie infolge geschwächter Atmung auch mit einer unregelmäßigen Ableitung der Aminosäuren aus den Blättern zusammenhängen; diese Unregelmäßigkeiten der Ableitung der Aminosäuren beruhen einerseits auf der verschiedenen Permeabilität der Plasmamembranen, andererseits aber auf der verschiedenen Geschwindigkeit, mit der die Aminosäuren für den Aufbau verwendet werden. Wenn die in den Blättern gespeicherten Aminosäuren andere quantitative Verhältnisse als in den Blatteiweißen aufweisen, und wenn dabei eine Verzögerung in ihrem Umbau zu den für die Eiweißsynthese nötigen Zwischengliedern stattfindet, so muß diese Synthese bei sonst günstigen Bedingungen bedeutend verlangsamt werden. TH. OSBORNE (75) hat festgestellt, daß die Zusammensetzung der Reserveeiweiße des Weizenendosperms stark von derjenigen der Eiweißstoffe des Embryos abweicht. Erstere bestehen hauptsächlich aus Gliadin und Glutamin, während Globulin und Leukosin nur in geringen Mengen vorhanden sind. Im Gegensatz dazu sind die Eiweiße des Weizenembryos hauptsächlich durch das Leukosin und Globulin vertreten, während der Gehalt an Gliadin und Glutamin vermindert ist¹. Daraus konnte entnommen werden, daß die Eiweiße der vegetativen Organe einen anderen Charakter haben als die Reserveeiweiße der Samen. Tatsächlich gehören die Reserveeiweiße der Mehrzahl der Samen zur Gruppe der Globuline, während diejenigen der Blätter nach UNO (108) den Charakter von Albuminen aufweisen.

Nach Vorschlag des Verfassers wurde im Jahre 1922 im Laboratorium von Prof. D. N. PRIANISCHNIKOW durch O. W. SARUBINA eine N-Bestimmung einiger Eiweißfraktionen unternommen, die sich durch verschiedene Löslichkeit charakterisierten und in Samen und etiolierten, 2 Wochen alten Weizenkeimlingen enthalten waren, aus denen die Endospermreste vorher entfernt waren. Die einzelnen Fraktionen unterschieden sich voneinander, was aus den unten angeführten Zahlen zu ersehen ist (der N-Gehalt der einzelnen Fraktionen ist in Prozenten des gesamten Eiweiß-N ausgedrückt).

	Wasserfraktion	Alkoholfraktion (76%)	Salzfraktion (1% NaCl)	Alkalifraktion (0,2% NaOH)	Summe d. Eiweiß-N
Samen . . .	3,5	25,9	4,64	65,95	100
Achsenorgane	7,19	10,31	10,31	72,19	100

Die Eiweiße wurden durch folgende Lösungsmittel (der Reihe nach) fraktioniert: Alkohol, Wasser, Salzlösung und Alkalilösung. Der Eiweiß-N einer jeden Fraktion wurde nach BARNSTEIN bestimmt.

¹ In der gereinigten Weizenkleie fehlen die alkalilöslichen Eiweiße vom Glutaminotyp vollständig (JONES und GERSDORF [41]).

Dieser Autor konnte nachweisen, daß im Blattplasma bedeutende Mengen von wasserlöslichem Eiweiß vorkommen, welches in den Samen gewöhnlich nicht enthalten ist. Die Unterschiede in der Zusammensetzung der Eiweiße¹ in Samen und in vegetativen Organen sind wahrscheinlich eine der wichtigsten Ursachen für die Speicherung von Aminosäuren, sowohl bei der Samenkeimung als auch bei der Ableitung von Zerfallsprodukten der Blatteiweiße in die reproduktiven Organe. Bei der Samenkeimung findet ein Zerfall der Reserveeiweiße statt, und die Zerfallsprodukte werden zum Aufbau von den vegetativen Organen ungleichmäßig ausgenutzt, weil die Eiweiße dieser Organe nach ihrer Zusammensetzung von den Reserveeiweißen abweichen (56). Ebenso werden auch nicht alle aus den Blättern in die reproduktiven Organe abgeleiteten Zerfallsstoffe der Blatteiweiße für den Eiweißaufbau der Geschlechtszellen und der Samen verwendet. Die nicht verbrauchten oder nur schwach ausgenutzten Aminosäuren wirken hemmend auf die weitere Ableitung dieser Produkte aus den Blättern. Die für die Synthese nicht verwendeten Aminosäuren müssen entweder umgebaut werden, indem sie das Stadium des Ammoniaks oder des Asparagins durchmachen, oder als solche gespeichert werden.

In den ausgewachsenen Tabakblättern findet während des Blühens keine Steigerung von Ammoniak- und Amino-N statt, und das ist ein Zeichen dafür, daß der Umbau von Aminosäuren recht langsam verläuft. Es wird zu dieser Zeit nicht nur keine Steigerung von Ammoniak- und Amino-N beobachtet, sondern der Gehalt an diesen Verbindungen nimmt in den Blättern infolge der Ableitung sogar ab.

Nach der Beendigung des Blühens nimmt in den Blättern während der Kapselbildung der Aminosäuregehalt ab, was wahrscheinlich mit dessen fortdauernder Ableitung zu den reifenden Samen und zu den Blättern der oberen Etagen und mit dem Ausbleiben neuer Reserven aus den Eiweißen, deren Zerfall zu dieser Zeit schwächer wird, zusammenhängt. Der aus den Blättern zugeleitete N wird in Form von Säureamiden gespeichert. Die Speicherung von Amid-N in den Blättern geköpfter Pflanzen ist merklich größer als bei normalen fruchttragenden Pflanzen; das ist auch gut verständlich, weil aus den Blättern der fruchttragenden Pflanzen der Abtransport von Amid-N nicht nur zu den oberen Blättern, sondern auch zu reifenden Samen stattfindet. Der prozentuale Gehalt an Amid-N ist in den Blättern der geköpften Pflanzen im Zusammenhang mit dem größeren Gehalt an Gesamt-N geringer (Stadium V). In alternden Blättern der geköpften Pflanzen wird im späten Lebensstadium der Stickstoff in Form von Aminosäuren, Säureamiden und sogar als Ammoniak gespeichert. Der Gehalt an den zwei letzteren N-Formen

¹ Auch solcher Eiweiße, die nach ihrer Löslichkeit gleich sind, z. B. Albumin der Weizenkleie und Albumin der Embryonen (4).

wird besonders im Stadium der gelbwerdenden Blätter, wenn die Aufnahme von N aus dem Boden beendigt ist und der Eiweißzerfall von neuem beginnt, stark gesteigert. Die Speicherung von Ammoniak deutet darauf hin, daß in diesem Stadium nicht nur die Synthese der Eiweiße, sondern auch die der Aminosäuren beendet ist, obwohl Kohlehydrate, wie aus Tabelle 6 zu sehen ist, in dieser Zeit in den Blättern im großen Überschuß vorkommen.

Das spezifische N-haltige Produkt des Tabaks, das Nikotin, wird in den Blättern während der ganzen Lebenszeit gespeichert. In den Tabaksamen ist dieses Alkaloid nach einigen Angaben nicht enthalten (13, 22. III. 26), während nach anderen Angaben die Samen sehr geringe Mengen von Nikotin aufweisen (47). In dieser Beziehung unterscheidet sich der Tabak von anderen alkaloidhaltigen Pflanzen, z. B. von der Lupine. Bei dieser sind Alkaloide in bedeutenden Mengen in allen Pflanzenteilen, die Samen mit inbegriffen, enthalten, wahrscheinlich weil der Gang der Veränderungen im Alkaloidgehalt der Blätter und anderer vegetativer Organe dieser Pflanze ein anderer als bei Tabak ist. Nach den Angaben von SABALITSCHKA und C. JUNGERMANN (91) nimmt der Alkaloidgehalt bei keimenden Lupinensamen in den vegetativen Organen der ersten Wochen ab, um bis zum Blühen gesteigert zu werden; zu dieser Zeit findet ein scharfer Umschlag im Alkaloidgehalt der vegetativen Organe statt, insofern er wieder stark abnimmt. Die Veränderungen des Nikotingehaltes in den Tabakblättern während der Vegetationsperiode stellen keine solche wellenförmige Linie dar wie bei der Lupine; vielmehr nimmt der Nikotingehalt die ganze Zeit bis zum Gelbwerden der Blätter bei geköpften Pflanzen dauernd ab. Nach den Angaben von G. KLEIN (47) erfolgt diese Abnahme erst in ihrem allerletzten Lebensstadium vor dem Absterben, wo ein verstärkter Abtransport aller Stoffe in den Stengel beginnt. Von unseren Analysen wurde dieses Stadium nicht berührt. Wir finden aber auch einen Hinweis darauf, daß im vorgeschrittenen Lebensstadium der Nikotingehalt der ausgewachsenen Blätter normaler Tabakpflanzen während der Fruchtbildung abnimmt; die Kurve des Nikotin-N weist in diesem Stadium eine bestimmte Tendenz zum Fallen auf (Abb. 9).

Inwiefern das Anwachsen des Nikotingehaltes in den Blättern mit Veränderungen anderer N-haltiger Stoffe zusammenhängt, ist gegenwärtig ziemlich schwer zu sagen. Teilweise kann es mit der Zunahme des Eiweißzerfalles zusammenhängen. Es wird angenommen, daß das Nikotin als Resultat der Umwandlungen von Eiweißstoffen (aus Tyrosin, Cystidin, Prolin) und auch auf synthetischem Wege aus Ammoniak und aus Stoffen der Pyronreihe gebildet werden kann (6). Außerdem wird nach den Versuchen von BAUDISCH und MEYER (4) außerhalb der Pflanze in einer Lösung von Kaliumnitrit und Formaldehyd unter dem Einfluß von Lichtstrahlen eine alkaloidähnliche, ölige Flüssigkeit gebildet (intermediär entsteht dabei Formhydroxalsäure und Methylamin¹), die in ihrer Wirkung auf Tiere (Frosch) die Eigenschaften des Nikotins zeigt. Welcher der möglichen Wege der Nikotinbildung im Tabakblatt eingeschlagen wird, müssen weitere Untersuchungen zeigen. Die nähere physiologische Bedeutung des Nikotins im Leben des Tabaks bleibt ebenso wie die anderer Alkaloide für andere Pflanzen noch unklar.

Die absolute und relative Zunahme des Nikotins wird während der

¹ Nach FODOR und REIFENBERG (31) erfährt das Nikotin im Oxydationsprozeß eine fermentative Spaltung, wobei Methylamin, Pyridin und CO₂ gebildet wird.

ganzen Lebenszeit der Tabakpflanze beobachtet; besonders stark nimmt das Nikotin in Blättern geköpfter Pflanzen in den letzten Perioden ihres Lebens mit dem Beginn ihres Gelbwerdens zu. Während dieser Zeit ist der N-Stoffwechsel deutlich geschwächt, was in einer Ansammlung von Ammoniak und Amiden trotz des bedeutenden Kohlehydratgehaltes in den Blättern zum Ausdruck kommt. Von allen Gliedern der N-haltigen Gruppe des Tabakblattes ist das Nikotin eines von denen, das während der Vegetationsperiode am beständigsten gespeichert wird. Die in den Blättern von *normalen* Pflanzen angedeutete Verminderung des Nikotingehaltes nach dem Blühen fehlt vollständig in denen *geköpfter* Pflanzen. Das Köpfen gibt den Blättern vom neuen die Fähigkeit zum weiteren Wuchs und zur weiteren Eiweißsynthese und fördert in ihnen die Speicherung von Nikotin. Betrachtet man aus diesen Gründen das Köpfen der Pflanzen als eine Verjüngung der vegetativen Organe, so muß man zum Schlusse kommen, daß die Nikotinsynthese nur dem jungen Blattalter eigen ist. Die geringere Ansammlung von Nikotin in den Blättern der jungen Pflanzen ist wahrscheinlich nicht durch eine geringere Fähigkeit zur Nikotinbildung im Vergleich zu alten Blättern bedingt, sondern beruht auf Mangel an Baumaterial, welches im jungen Alter in größeren Mengen für den Eiweißaufbau als zur Nikotinbildung verbraucht wird. Bei ausgewachsenen Blättern, bei denen die Eiweißsynthese aufgehört hat, wird die Nikotinbildung noch eine Weile fortgesetzt; dadurch wird das Nikotin, da es weder zerfällt noch abgeleitet wird, in den ausgewachsenen Blättern gespeichert. Erst nach dem Abblühen der Pflanzen büßen die ausgewachsenen Pflanzen ihre Fähigkeit der Nikotinspeicherung ein, und es findet in den Blättern der fruchttragenden Pflanzen eine gewisse Abnahme des Nikotingehaltes statt. Wird das Blühen durch Köpfen beseitigt, so ruft das in der ersten Zeit eine scheinbare Hemmung in der Nikotinspeicherung ebenso wie auch in der Eiweißspeicherung pro Blattflächeneinheit infolge verstärkten Wachstums der Blattfläche hervor. Im weiteren wird ein verstärktes Anwachsen sowohl von Nikotin, als auch von Eiweiß beobachtet. Das Köpfen der Pflanzen bewirkt eine bedeutend größere Speicherung von Gesamt-N pro Blattflächeneinheit im Vergleich zu Eiweiß-N; es beginnt zwar bei geköpften Pflanzen die Eiweißsynthese vom neuen, doch wird für diese Synthese hier weniger N als in Blättern von jungen Pflanzen verbraucht. Der dabei nicht verbrauchte N findet sich hier für den Aufbau von Nikotin in größeren Mengen vor als in Blättern junger Pflanzen. Welche N-haltigen Stoffe das Baumaterial für die Synthese des Nikotins liefern, bleibt unklar.

Mit dem Alter des Tabakblattes werden von den N-haltigen Verbindungen (Nichteiweißen) außer Nikotin auch Ammoniak und Amide gespeichert, doch geht die Speicherung dieser Stoffe nicht so regelmäßig

vor sich. Während der Amid-N sowohl beim Aufbau als auch bei Wanderungsvorgängen ausgiebig verbraucht wird, was seine Abnahme in Zeiten gesteigerter Stoffwandlung (Periode des Blühens und des gesteigerten Wachstums der oberen Blätter) und eine Stockung in seiner relativen Speicherung in der Periode der Eiweißregeneration bei geköpften Pflanzen bedingt, tritt der Nikotin-N als eine passive Form auf, die bei dem N-Stoffwechsel und bei der Stoffwanderung nur schwach ausgenutzt wird. Weder zu Zeiten gesteigerter Stoffwandlung, noch bei der Eiweißregeneration wird die Speicherung des Nikotin-N aufgehoben. Insofern das Nikotin als eine passive Verbindung im Stoffwechsel dient, kann es mehr als irgendwelcher andere N-haltige Stoff (Nichteiweiße) als Kennzeichen für das Alter des Tabakblattes während des größten Teiles seiner Vegetationszeit dienen.

Der Gang der Veränderungen des Gehaltes an Nitrat-N in den Tabakblättern zeigt, daß seine Aufnahme in die Blätter am intensivsten im jungen Alter erfolgt. Das Maximum der Nitratspeicherung erfolgt im zweiten Stadium, wenn die Pflanzen 5—6 Blattpaare besitzen. Zu dieser Zeit vermögen die Pflanzen eine bedeutende aufnehmende Fläche des Wurzelsystems zu entwickeln. Die Geschwindigkeit der Nitrataufnahme in den Blättern ist so groß, daß trotz der Lebhaftigkeit der synthetischen Prozesse in diesem Stadium, die in einer maximalen Ausnutzung der N-haltigen Verbindungen für den Eiweißaufbau zum Ausdruck kommt, eine maximale Speicherung der Nitrate stattfindet. Doch bleibt deren Reduktionsgeschwindigkeit hinter derjenigen, mit der die Nitrate den Blättern zugeleitet werden, bedeutend zurück. Während der Periode des Blühens und der Fruchtbildung wird der Nitratgehalt in den ausgewachsenen Blättern bedeutend vermindert. In der Periode nach dem Blühen verschwinden die Nitrate fast ganz. Dieser letztere Vorgang wird durch das Köpfen in den Blättern aufgehoben. Der Einfluß des Köpfens wird wahrscheinlich durch mehrere Momente bedingt. Bei normalblühenden und fruchttragenden Pflanzen wird ein Teil des aus dem Boden aufgenommenen N möglicherweise unmittelbar durch den Stengel zum Gipfel der Pflanze geleitet, ohne in den erwachsenen Blättern aufgehoben zu werden, außerdem findet aus denselben Blättern eine gesteigerte Ableitung von Stoffen einschließlich auch von Nitraten zum Gipfel der Pflanze statt; was zu einer Abnahme des Gesamt-N in diesen Blättern führt. Bei geköpften Pflanzen entwickelt sich die Blattoberfläche stärker, bei verminderter Ableitung der Stoffe aus den Blättern zum Gipfel des Stengels; diese stark entwickelte Oberfläche besitzt auch eine größere Saugkraft; deshalb muß auch die Zuleitung von Boden-N zu den Blättern geköpfter Pflanzen kräftiger als zu denen normaler Pflanzen erfolgen. Dieser Unterschied spiegelt sich, wie wir gesehen haben, im Gehalt an Gesamt-N wider.

Bei Beginn des Gelbwerdens der Blätter steigen die Nitrate in ihnen wieder einigermaßen an; doch ist dieses Anwachsen zweifellos jetzt mit einer Reduktionsverminderung verbunden, da die Nitratzuleitung aus dem Boden in dieser Zeit das Minimum erreicht. Der in den gelbwerdenden Blättern angehäufte Ammoniak stellt nicht ein Erzeugnis der Nitratreduktion dar, sondern ist ein Ergebnis der gesteigerten Desaminierung von Aminosäuren. Diese verläuft in gelbwerdenden Blättern derart energisch, daß trotz der bedeutenden Anhäufung von Kohlehydraten das Ammoniak nicht schnell genug in Amide übergeführt wird und sich als solches ansammelt. Nach seinem Betrage nimmt das Ammoniak unter den N-haltigen Stoffen (Nichteiweißen) in der Periode des Gelbwerdens der Blätter die zweite Stelle ein.

Die Eigentümlichkeiten im N-Stoffwechsel der Tabakblätter, die sich mit dem Älterwerden der Pflanzen in verschiedenen Perioden zeigen, können auch bei gleichzeitiger Feststellung der täglichen Bilanz der N-haltigen Gruppe in den Blättern der oberen und unteren Etagen hervortreten. Die Blätter wurden nur von normalen Pflanzen nach dem Blühen am 17. VIII. 1926 abgenommen.

Tabelle 11. N in mg pro 1 qm Blattfläche. *Tabak*.

	Blätter der unteren Etage			Blätter der oberen Etage		
	6 Stunden	12 Stunden	18 Stunden	6 Stunden	12 Stunden	18 Stunden
Gesamt-N . . .	1425,0	1569,0	1872,0	2727,0	2689,0	2623,0
Eiweiß-N . . .	1172,0	1019,0	1231,0	2035,0	1656,0	2144,0
N n. SÖRENSEN .	31,8	60,5	101,5	40,3	104,3	80,0
Amid-N	50,5	56,1	32,9	49,9	64,6	57,2
Nikotin-N . . .	—	—	—	16,43	18,61	17,58
Ammoniak-N . .	56,5	55,1	44,7	66,3	44,8	39,8
Nitrat-N	10,5	10,1	12,6	31,4	36,4	42,9
	In Prozent des Gesamt-N.					
Eiweiß-N . . .	82,24	64,95	65,75	74,62	61,58	81,7
N n. SÖRENSEN .	2,23	3,86	5,42	1,48	3,88	3,30
Amid-N	3,54	3,58	1,76	1,85	2,40	2,18
Ammoniak-N . .	3,97	3,51	2,39	2,43	2,41	1,52
Nitrat-N	0,73	0,64	0,67	1,15	1,34	1,64

Die jungen oberen Blätter enthalten während des ganzen Tages eine größere Menge von Gesamt-N als alte ausgewachsene. Der Gehalt an Gesamt-N übertrifft in den oberen, in Entwicklung begriffenen Blättern der erwachsenen Pflanzen den der unteren Blätter nicht nur während derselben Entwicklungsperiode der Pflanzen, sondern auch den junger Blätter in frühem Entwicklungsstadium, wenn der Stengel noch nicht seine Entwicklung abgeschlossen hat und die Blätter noch nicht vollzählig sind. Das ist zweifellos eine Folge der gesteigerten Saugkraft,

welche die oberen Blätter nicht nur im Vergleich zu den unteren, sondern auch zu den jungen Blättern des frühen Entwicklungsstadiums der Pflanzen aufweisen. Eine spätere Blattknospenanlage bedingt nach ZALENSKY und MAXIMOW (64) einen größeren Xeromorphismus des sich bildenden Blattgewebes. Die oberen Blätter, als stärker xeromorphe, müssen nicht nur den Boden-N stärker aufsaugen, sondern sie werden auch einen Teil des N aus den älteren, weniger xeromorphen Blättern der unteren Etagen absaugen.

Die Abwanderung von N aus den Blättern der unteren Etagen zum Gipfel des Stengels während des Tages wird von diesen Blättern durch Ansaugen des Boden-N reichlich überkompensiert; dieses Ansaugen wird parallel mit der Zunahme der Lufttemperatur und des Defizits der Luftfeuchtigkeit gegen Abend noch gesteigert (46, 112, 113). Eine derartige Zunahme der Saugkraft der unteren Blätter während des Tages muß gegen Abend die Ableitung von N aus diesen Blättern erschweren. Deshalb ist der Unterschied im Gesamt-N-Gehalt zwischen den oberen und unteren Blättern in den Abendstunden geringer als am Morgen und am Tage. Die Erschwerung der N-Abführung aus den Blättern der unteren Etagen kann als eine der Ursachen einer gewissen Abnahme des Gesamt-N in den Blättern der oberen während des Tages angesehen werden; die verlangsamte Zuleitung von N in die oberen Blätter gegen Abend kann die aus ihnen stattfindende Ableitung von N in die fruchttragenden Pflanzenteile bei normalen fruchttragenden Pflanzen nicht ausgleichen.

Der N-Gehalt der Blätter ist während des Tages nicht beständig, was mit den Geschwindigkeiten der in umgekehrten Richtungen verlaufenden Zu- und Ableitung des N zusammenhängt. Das Verhältnis zwischen diesen beiden Vorgängen wird durch den Verlauf der meteorologischen Faktoren während des Tages, die auch den physiologischen Zustand des Blattgewebes beeinflussen, bestimmt. Der Sättigungsgrad der Blattzellen mit Wasser wird nicht nur die Saugkraft der Blattzellen beeinflussen, sondern auch auf die Permeabilität der Plasmamembranen einwirken (8, 112, 113).

In alten Blättern der unteren Etagen ist der N-Gehalt am Abend größer als am Morgen, das stimmt mit den Beobachtungen von MOTHES (68) und CHIBNALL (17) über die Veränderungen des N-Gehaltes der ausgewachsenen Blätter während der Nachtperiode überein. In den oberen, noch wachsenden Blättern ist das Verhältnis umgekehrt, was wahrscheinlich durch die in der Nacht stattfindende Stoffwanderung hervorgerufen wird.

Der Eiweiß-N ist in jungen Blättern während des Tages pro Blattflächeneinheit in größeren Mengen als in erwachsenen enthalten. Sowohl in jungen als auch in erwachsenen Blättern ist der Gehalt von Eiweiß-N

während der Mittagsstunden am geringsten. Nach den Angaben von MOTHEs (68) werden durch Temperaturerhöhung der Eiweißzerfall und die Speicherung von Nichteiweiß-N sowohl in den Stengelblättern, als auch in abgeschnittenen Blättern gesteigert. In Übereinstimmung damit werden der geringste Eiweißgehalt und der größte Gehalt an Nichteiweiß-N während der Stunden der stärksten Wärmestrahlung der Sonne beobachtet. Gegen Abend wird der Gehalt an Eiweiß-N in den Blättern stark gesteigert; besonders gilt das für junge Blätter, was nochmals auf ihre größere synthetisierende Fähigkeit im Vergleich zu ausgewachsenen hindeutet. Der absolute und relative Ammoniak- und Amidgehalt, bei jungen Blättern auch der Gehalt an Amino-N, nimmt gleichzeitig mit dem Ansteigen des Eiweißes ab. In den ausgewachsenen Blättern der unteren Etagen nehmen sowohl der absolute als auch der relative Gehalt an Amino-N gegen Abend zu. Folglich werden bei ausgewachsenen Blättern die Aminosäuren nicht im vollen Maße für die Eiweißsynthese ausgenutzt, obwohl, wie oben gezeigt (Tabelle 7), gegen Abend bei diesen Blättern eine starke Zunahme von Kohlehydraten gefunden wird. Gegen Abend wurde in den oberen Blättern ein Zuwachs von 488 mg Eiweiß-N beobachtet, während er in den unteren Blättern nur 212,0 mg betrug. Der größere Zuwachs der Eiweiße in jungen Blättern der oberen Etagen wird gegen Abend von einer Abnahme der Kohlehydrate und Nichteiweiße begleitet; diese letzteren werden mehr in der Synthese verbraucht als abgeleitet. Dafür spricht der Vergleich des Verlustes an Gesamt-N in den oberen Blättern, verbunden mit dem Zuwachs an Protein-N. Die erste Größe betrug 46,0 mg, die zweite 488,0 mg. Die Blätter enthalten die größten Mengen von Ammoniak-N in den Morgenstunden; der Ammoniak-N tritt hier als Ergebnis des Eiweißzerfalls und der Desaminierung von Aminosäuren in der Nacht (CHIBNALL 1923, MOTHEs 1926) auf. In den nachfolgenden Tagesstunden nimmt der Gehalt an Ammoniak-N ab, wobei diese Abnahme gegen Mittag in jungen und ausgewachsenen Blättern geringer als in den späteren Stunden ist. Durch den gesteigerten Eiweißzerfall und die maximale Ansaugung von Boden-N während der heißen Tagesstunden wird der Verbrauch an Ammoniak-N in den Blättern der unteren Etagen ausgeglichen. Er wird während der Mittagsstunden mehr in den oberen jungen Blättern verbraucht; als Folge davon wird in diesen Blättern mehr Amid- und Amino-N als in den unteren ausgewachsenen angesammelt. Sowohl die Bildung von Amid- als auch die von Aminosäuren verläuft in den oberen jungen Blättern kräftiger, was wahrscheinlich mit einem im Vergleich zu alten Blättern größeren Gehalt an Kohlehydraten zusammenhängt (Tabelle 7). Der Zuwachs von Amino- und Amid-N während der Mittagsstunden ist nicht nur das Ergebnis einer Synthese, welche in den oberen Blättern stärker auftritt, sondern auch

die Folge eines Eiweißzerfalls (die oberen Blätter werden von der Sonnenstrahlung stärker als die unteren erwärmt).

Die Nitratspeicherung in den Blättern während der zweiten Tageshälfte steht im umgekehrten Verhältnis zum Ammoniakgehalt und kann entweder durch die Abnahme der Reduktionsfähigkeit der Blätter oder durch eine gesteigerte Aufnahme aus dem Boden im Zusammenhang mit der Zunahme des Wasserdefizits erklärt werden. Der größere Gehalt und eine, verglichen mit den unteren Blättern, stärkere Speicherung von Nitraten in den oberen Blättern machen die zweite Annahme wahrscheinlicher.

Der Gehalt an Nikotin-N in den oberen Blättern ist während des Tages im Vergleich zu anderen löslichen N-Verbindungen viel beständiger. In den Mittagsstunden, wo ein starker Zerfall von Eiweißstoffen stattfindet, wird ein Anwachsen des Nikotin-N beobachtet, doch ist dieses hier viel schwächer als bezüglich anderer löslicher N-Verbindungen. Die abendliche Eiweißregeneration wird nicht von merklichen Veränderungen des Nikotingehaltes begleitet. In den jungen oberen Blättern der erwachsenen Pflanzen ist mehr Nikotin enthalten als in solchen von jüngeren Pflanzen. Doch kann dieser Umstand nicht als ein Zeichen für eine größere Fähigkeit der oberen jungen Blätter, Nikotin zu bilden, angesehen werden. Die Ursache des Nikotinreichtums der oberen Blätter liegt wohl in dem Transport von Nikotin und des zu seinem Aufbau nötigen Materials aus den unteren Blättern in die oberen. Auf die Translokation von Nikotin wurde in der Literatur schon mehrmals hingewiesen (34, 66). Der Zusammenhang zwischen der Speicherung von Nikotin und den Mengen von nicht proteinartigem N ist aus Tabelle 10¹ zu ersehen.

Auf Grund der über die N-Verteilung in den Blättern in verschiedenen Entwicklungsstadien erhaltenen Ergebnisse kommen wir zu folgenden Schlußfolgerungen: Der Gehalt an Gesamt-N ist für das Alter des Blattgewebes nicht charakteristisch. Die Menge des Gesamt-N kann in den Blättern in bedeutendem Grade schwanken, was mit Stoffzuführung und Abwanderung aus den Blättern zusammenhängt. *Die Blätter der oberen Etagen sind an Gesamt-N reicher, doch ist das nicht durch ihr Alter bedingt, sondern steht mit ihrer größeren Saugkraft in Zusammenhang; diese*

¹ In unserer Arbeit konnten wir die eben erschienene, sehr eingehende Arbeit von K. MOTHES „Das Nikotin im Stoffwechsel der Tabakpflanze“ (Planta 5, 563 [1928]) nicht in vollem Maße berücksichtigen. In dieser Arbeit wird festgestellt, daß das Nikotin im Gegensatz zu anderen nichtproteinartigen N-Verbindungen keine merkliche Fähigkeit zum Abtransport vom Ort seiner Bildung aufweist; das stimmt mit unseren Angaben überein. Deshalb glauben wir, daß die Ursache der gesteigerten Nikotinspeicherung in den oberen jungen Blättern der erwachsenen Pflanzen nicht in der Zuführung von Nikotin aus den unteren Blättern liegt, sondern mehr in der Zuführung von N-Verbindungen, die zum Aufbau von Nikotin dienen, gesucht werden muß.

verursacht die N-Anreicherung der oberen Blätter auf Kosten der unteren. Das Stadium des Blühens wird durch eine gut ausgeprägte Abnahme des absoluten Gehaltes an Gesamt-N in den ausgewachsenen Blättern charakterisiert. Durch das Köpfen der Pflanzen werden die schon ausgewachsenen Blätter in bedeutendem Maße mit N angereichert.

Im frühesten Stadium der Blattentwicklung sind bei ganz jungen Pflanzen die allergeringsten Mengen von Eiweiß-N enthalten, was durch Mangel an plastischem Material für die Eiweißsynthese bedingt ist. Die jungen Blätter der oberen Etagen einer mit plastischem Material versorgten erwachsenen Pflanze enthalten im Gegensatz dazu Eiweiß-N in größten Mengen.

Die Eiweißbildung in den Blättern ist funktionell sowohl vom Kohlehydratgehalt, der Atmungsenergie, als auch von anderen, inneren, noch nicht näher bekannten Faktoren abhängig. *Die Abhängigkeit der Eiweißbildung von den Kohlehydraten in den Blättern tritt in der ersten Lebenshälfte der Pflanze vor dem Blühen, der Einfluß der bei der Atmung freierwerdenden Energie dagegen in der zweiten Hälfte der Vegetationsperiode bei Beginn des Blühens deutlicher hervor.*

Wird das Blühen der Pflanzen durch Köpfen verhindert, so erhalten die ausgewachsenen Blätter wieder die Fähigkeit, N zu speichern, auch wird durch das Köpfen die Eiweiß- und Nikotinsynthese wieder hergestellt. Bei Sonnenblumenblättern, die eine größere Fähigkeit zur Eiweißsynthese als die Tabakblätter besitzen, ruft das Köpfen nur eine Steigerung des Gesamt-N hervor, die Fähigkeit zur Eiweißsynthese wird nicht gesteigert. Im Unterschied zu den Tabakblättern wird in den Sonnenblumenblättern nach dem Blühen die Fähigkeit zum Eiweißaufbau selbsttätig, ohne den Eingriff des Köpfens, wieder hergestellt. Während des Blühens ist die Abnahme an Gesamt-N und Eiweiß-N in den ausgewachsenen Sonnenblumen größer als in den Tabakblättern.

Der Gehalt an Eiweiß-N, auf den Gesamt-N bezogen, verändert sich während der Vegetationsperiode weniger als in Tabakblättern; beim Tabak wird eine ununterbrochene Abnahme des prozentualen Gehaltes an Eiweiß-N mit dem Altern der Blätter beobachtet.

Die Steigerung des Kohlehydratgehaltes und der Atmungsenergie durch Köpfen ruft nicht immer eine Erhöhung der Fähigkeit der Blätter zur Eiweißsynthese hervor. Bei geköpften Pflanzen ist der Gehalt an Eiweiß-N (in Prozenten vom Gesamt-N) geringer als in Blättern von normalen Pflanzen, was mit einer geringeren Ableitung von nicht-proteinartigen N-Verbindungen aus den letzteren zusammenhängt.

Der Nikotin-N der Tabakblätter wird von der Pflanze nur schwach ausgenutzt, er nimmt in den Blättern parallel mit ihrem Alter und der Verminderung der Eiweißsynthese zu. *Trotz des Vorhandenseins von genügenden Mengen von Reservekohlehydraten tritt gegen Lebensende des*

Blattes, als Folge der verminderten Eiweißsynthese, eine bedeutende Speicherung von Ammoniak und Säureamiden auf.

Der Tagesstoffwechsel der N-haltigen Verbindungen in alten und jungen Tabakblättern wird durch eine starke Abnahme an Eiweiß-N während der Tagesstunden charakterisiert. Bei den jungen oberen Blättern wird nach dieser Abnahme der Gehalt an Eiweiß-N stärker als in alten unteren Blättern erhöht. Der relative Maximalgehalt an Eiweiß-N, auf den Gesamt-N bezogen, wird in den Blättern der unteren Etagen während der Morgenstunden, in den jungen oberen Blättern während der Abendstunden beobachtet. Dieser Unterschied in der Veränderung des relativen Eiweiß-N ist möglicherweise einerseits durch die während der Nacht stattfindenden Abführung von nichtproteinartigem N aus den unteren Blättern in die oberen bedingt; andererseits kann dieser Sachverhalt durch die lebhaftere Eiweißsynthese in den jungen oberen Blättern während der Nachmittagsstunden mit der Abnahme der Wärmestrahlung der Sonne zusammenhängen.

Die maximale Speicherung von Aminosäuren in den alten Blättern der unteren Etagen wird während der Abendstunden und in jungen oberen Blättern während der Mittagsstunden gefunden; das hängt wahrscheinlich mit den während des Tages stattfindenden Verschiebungen von Stoffen aus den unteren Etagen in die oberen und mit der größeren Fähigkeit der jungen Blätter, während der Abendstunden für die Eiweißsynthese Aminosäuren auszunutzen, zusammen.

Die Blätter der oberen und unteren Etagen haben einen maximalen Ammoniakgehalt während der Morgenstunden; er tritt hier als Ergebnis des in der Nacht stattfindenden Eiweißzerfalls auf. Der absolute Ammoniakgehalt ist in jungen Blättern größer als in alten. Während des Tages wird der Ammoniak von den jungen Blättern besser als von alten ausgenutzt.

Der Gehalt an Nitrat-N wird während des Tages gesteigert, besonders ist das für die oberen, jüngeren Blätter der Fall; diese besitzen nach URSPRUNG (109) eine größere Saugkraft als die unteren. Die Anreicherung des Nitrat-N hängt mit seiner größeren Aufnahme aus dem Boden während der Tagesstunden und mit seiner Überführung aus den unteren Blättern in die oberen zusammen.

Organische Säuren.

Die Bildung von Säuren im pflanzlichen Organismus ist bis jetzt unaufgeklärt geblieben. Die zahlreichen in der Literatur vorhandenen Angaben über das Vorkommen von organischen Säuren bei höheren Pflanzen wurden im Jahre 1923 in den Arbeiten von H. FRANZEN und E. KEYSNER (32) sowie H. FRANZEN und F. HELWERT (33) kritisch nachgeprüft. Nach der Meinung dieser Verfasser sind die meisten Angaben über das

Vorkommen von Äpfel- und Zitronensäure bei höheren Pflanzen zu wenig bewiesen, müssen deshalb von neuem und sorgfältig geprüft werden. Von 235 Pflanzen, für die in der Literatur das Vorkommen von Äpfelsäure angegeben ist, enthalten nur 15 nach FRANZEN und KEYSSNER wirklich diese Säure; für 11 weitere Pflanzen, unter denen sich auch der Tabak befindet (Blätter von *Nicotiana tabac.*), halten die Verfasser das Vorkommen von Äpfelsäure für wahrscheinlich. Ebenso unbestimmte Angaben findet man auch über das Vorkommen von Zitronensäure in höheren Pflanzen. Von 137 Pflanzen, die nach den Literaturangaben Zitronensäure enthalten, kommt nach FRANZEN und HELWERT Zitronensäure nur bei 16 wirklich vor, für 3 weitere Pflanzen halten die Verfasser das Vorkommen von Zitronensäure für mehr oder weniger wahrscheinlich. Unter diesen letzteren befinden sich auch Tabakblätter. Die zuverlässigsten Angaben über das Vorkommen von Äpfel- und Zitronensäure in den Tabakblättern machte schon im Jahre 1846 E. GOUPIL, doch wurden die Säuren von ihm nicht ausreichend identifiziert (33).

Der sichere Nachweis von organischen Säuren ist infolge der Abwesenheit von bequemen und genauen Methoden für ihre quantitative Bestimmung für viele Pflanzen noch nicht erbracht; das hängt auch damit zusammen, daß die Säuren aus dem komplizierten Gemisch der organischen Stoffe, in welchem sie in der Mehrzahl der Fälle nur in sehr geringen Mengen vorkommen, schwer zu isolieren sind. Aus diesen Gründen ist unsere Vorstellung über die Dynamik der organischen Säuren und über ihre physiologische Rolle bei höheren Pflanzen noch recht unklar.

Die Bildung von organischen Säuren in Pflanzen wurde in den letzten Jahren hauptsächlich bei Schimmelpilzen und Hefen untersucht, die dafür ein bequemerer Objekt als die höheren Pflanzen bilden. Die neuesten Angaben über die Bildung von Säuren bei Schimmelpilzen und Hefen und sehr ausführliche Literaturlisten über diesen Gegenstand finden wir in den Arbeiten von AMELUNG (1a) und W. BUTKEWITSCH (11) [vergleiche dort auch die anderen Arbeiten des Verfassers], BERNHAUER (7), KOSTYTSCHEW und TSCHERNOKOW (59) und WETZEL (116).

Hier möchten wir nur darauf hinweisen, daß die Speicherung von Säuren durch Schimmelpilze nach den in der Literatur vorhandenen Angaben von einer Reihe von Bedingungen abhängt. Von größter Bedeutung sind dabei der Charakter des Nährmediums, die Wasserstoffionenkonzentration, die Mengen und die Form der N-Quellen, die Art und sogar die Rasse der Organismen, die Versuchstemperatur und, was für uns am wichtigsten ist, das Alter und die Wachstumsintensität des Organismus.

In schnell wachsenden Kulturen von Schimmelpilzen, besonders bei relativem Mangel an Zucker im Nährmedium, findet keine Speicherung von Säuren statt. Bei hoher Zuckerkonzentration und gehemmttem Wachstum wird dagegen der

Gehalt an Säuren gesteigert. Nach BUTKEWITSCH (11) und BERNHAUER (7) steht die Bildung von Zitronensäure in irgendeinem Zusammenhang mit der Umwandlung von N-haltigen Stoffen. Doch bilden das Material für den Aufbau von Zitronensäure, wie BUTKEWITSCH (11) gezeigt hat, die N-freien Stoffe, hauptsächlich Kohlehydrate, und nicht die im Zerfall begriffenen Eiweiße oder ihre Spaltungsprodukte. Nach KOSTYTSCHEW (59) hängt die Bildung von Zitronensäure mit der N-Assimilation zusammen. Wird sie gesteigert, so nimmt die Säurespeicherung ab; der Verfasser sieht in diesen Tatsachen einen ursächlichen Zusammenhang. Die bei N-Mangel gebildeten Ketonsäuren werden nach KOSTYTSCHEW nicht zum Aufbau von Aminosäuren verwendet; sie sind physiologisch labil und werden zu Oxysäuren reduziert, ganz analog der Oxysäurenbildung aus Ketonsäuren bei der Desaminierung in Hefenkulturen.

WETZEL (116) hält die von KOSTYTSCHEW zum Beweise seiner Theorie angeführten Angaben für ungenügend, weil unter diesen Angaben auch solche vorhanden sind, die der Annahme, daß die Säuren auf dem Wege der Eiweißsynthese entstehen, widersprechen. Auf Grund der Arbeiten von MOLLARD kann der Zuckerzerfall in den Kulturen von *Aspergillus niger* und die diesen Zerfall begleitende Säurebildung auch unter dem Einfluß eines Nährsalzmangels gesteigert werden. Deshalb nimmt WETZEL an, daß die Speicherung von Säuren nicht nur mit einer Abnahme der N-Assimilation, sondern überhaupt mit einer Veränderung des Stoffwechsels und einer Wachstumssistierung verbunden ist. Sowohl nach KOSTYTSCHEW als auch nach WETZEL werden die Säuren nicht als Zwischenprodukte des Zuckerzerfalls bei der Atmung gebildet, wie das andere Forscher annehmen (22—111), und wie das in letzter Zeit BUTKEWITSCH für Zitronensäure behauptet (11). KOSTYTSCHEW und WETZEL halten die Säuren für das Endprodukt der Kohlehydratveränderung, wobei diese Veränderung der Kohlehydrate einen ganz besonderen Charakter aufweist und nichts Gemeinsames mit derjenigen im normalen Atmungsvorgang hat; doch können die gebildeten Säuren bei bestimmten Versuchsbedingungen auch weiter verarbeitet werden.

Die in der Literatur vorhandenen Angaben über die Säurebildung bei Schimmelpilzen geben nur über die Bildung von Glukonsäuren, die unmittelbar aus den Kohlehydraten erfolgt, eine bestimmte Vorstellung (1 a, 11, 116). Oxalsäure kann in den Organismen bei der Oxydation von verschiedenen N-haltigen und N-freien Verbindungen gebildet werden; doch ist es nicht in jedem Fall leicht zu beurteilen, aus welchen Stoffen Oxalsäure gebildet wurde. Der Parallelismus zwischen der Speicherung von Ammoniak und Oxalsäure in den Kulturen von *Aspergillus niger* und *Penicillium glaucum*, wobei diese beiden Stoffe in gleichen Mengen angehäuft werden, deutet auf einen Zusammenhang, der zwischen der Desaminierung von Aminosäuren und der Oxalsäurenbildung besteht.

WETZEL (116) nimmt auf Grund der Speicherung von Oxalsäure in den Hefe- und Schimmelpilzkulturen auf Pepton und Aminosäuren an, daß diese Säure aus verschiedenen Ketonsäuren, welche als Zwischenprodukt bei der Desaminierung entstehen, gebildet werden kann. Werden Ketonsäuren, sobald sie gebildet sind, reduziert, so entstehen entsprechende Oxysäuren; wenn sie aber schnell eine Einwirkung von Karboxylase erfahren, so werden Ketten mit einer verminderten Zahl von C-Atomen gebildet, die bei weiterer Oxydation zu einer Speicherung von Oxalsäure führen. Die Angaben von BUTKEWITSCH (11) über die Fähigkeit von *Aspergillus niger*, durch unmittelbare Zuckeroxydation Oxalsäure zu bilden, erklärt WETZEL (116) mit den physiologischen Eigentümlichkeiten dieses Organismus; doch glaubt er, daß es unmöglich ist, diese Bildungsweise der Oxalsäure ohne einer besonderen Nachprüfung auch auf höhere Pflanzen zu übertragen.

Die Bildung und die Umwandlungen von organischen Säuren sind bei höheren Pflanzen noch weniger als bei Schimmelpilzen und Hefen aufgeklärt.

Nach RUHLAND und WETZEL (20) hängen die Bildung und die Speicherung des größten Teils der organischen Säuren bei höheren Pflanzen eng mit der Desaminierung zusammen. Die Speicherung von Oxalsäure bei *Begonia semperflorens* ist von dem Kohlehydratstoffwechsel vollkommen unabhängig und hängt mit der Anhäufung von Ammoniak direkt zusammen. Nach ULLRICH (107), der die Veränderung des Gehaltes an Oxal-, Milch-, Äpfel- und Bernsteinsäure in den ausgewachsenen Blättern (von *Anemone nemorosa*, *Rubus idaeus*, *Begonia semperflorens* und *Lactuca sativa*) untersucht hat, entsteht nur die Milchsäure als Erzeugnis des Kohlehydratstoffwechsels. G. G. PETROW (85) kommt zum Schluß, daß bei höheren Pflanzen Oxalsäure als Folge der Oxydation des Kohlenstoffes des Asparagins, nach Abspaltung von Ammoniak, entsteht.

Eine sehr ausführliche kritische Übersicht der Literatur über die Physiologie der organischen Säuren in grünen Pflanzen wurde in letzter Zeit durch WETZEL (116) gegeben. Verfasser kommt zum Schluß, daß organische Säuren in grünen Pflanzen im Verlauf verschiedener Prozesse der Umwandlungen von N-haltigen und N-freien Stoffen entstehen können; doch erscheint ihre Bildung am wahrscheinlichsten und verständlichsten bei der Desaminierung von Aminosäuren. Dabei werden die anfänglich gebildeten physiologisch-labilen Ketonsäuren entweder decarboxyliert (wobei eine verkürzte Kohlenstoffatomkette entsteht, die weiter bis zur Oxalsäure oxydiert werden kann), oder sie werden reduziert, wobei Oxysäuren, die einen den Ausgangsaminosäuren entsprechenden Bau aufweisen, gebildet werden. Je nach der physiologischen Stabilität der erhaltenen Oxysäuren und dem Zustand des Mediums, in dem sie gebildet werden, werden diese Säuren entweder gespeichert, oder sie erfahren weitere Veränderungen.

Die Bildung von Säuren aus Kohlehydraten auf dem Wege der Eiweißsynthese, wie das KOSTYTSCHEW (59) für Schimmelpilze vermutete, hält WETZEL (116) zwar für wahrscheinlich, aber experimentell schwer nachweisbar. Die Umwandlungen von Eiweißstoffen im Organismus verlaufen gewöhnlich nach zwei Richtungen: neben der Synthese der Eiweiße erfolgt auch gleichzeitig ihr Abbau, und das feststellbare Ergebnis ist nur die algebraische Summe der in entgegengesetzten Richtungen verlaufenden Vorgänge. Deshalb ist es unklar, ob die Säuren als Resultat der Desaminierung der Aminosäuren oder infolge einer Nichtausnutzung der Kohlenstoffskette beim Aufbau der Aminosäuren auftreten. WETZEL hält die Synthese von Aminosäuren auf Kosten von NH_3 und der Ketonsäuren für sehr möglich; doch glaubt er, daß irgendwelche Vermutungen über die Speicherung von organischen Säuren bei der Eiweißsynthese verfrüht sind, da bis jetzt der eigentliche Chemismus der Eiweißsynthese ungeklärt ist und darüber recht verschiedene Vorstellungen existieren (53).

Ausgehend von den Literaturangaben über die Abhängigkeit der Säurespeicherung vom Alter der Pflanzen und vom Gang der Umwandlungen von Eiweißen und Kohlehydraten schien es uns sehr lohnend, neben den Kohlehydraten und N-haltigen Stoffen auch die Verände-

rungen im Säuregehalt der Blätter auf verschiedenen Entwicklungsstadien zu verfolgen.

Die Natur der organischen Säuren in den Sonnenblumen- und Tabakblättern bleibt ebenso wie auch für andere Pflanzen unaufgeklärt. Doch findet man für Tabak (vergleiche oben) in der Literatur Angaben über das wahrscheinliche Vorkommen von Äpfel- und Zitronensäure in den Blättern (32, 33). Wir unterließen es, eine spezielle Identifikation der Säuren für Tabak- und Sonnenblumenblätter auszuführen. Im Wasserauszug aus Tabakblättern wurde nur die Reaktion von DENIGES auf Äpfelsäure mit essigsaurem Quecksilber ausgeführt, auch gab die STARRÉSche Reaktion auf Zitronensäure mit Bildung von Pentabromaceton ein positives und sicheres Resultat.

Die quantitative Bestimmung der Fraktionen von Äpfel- und Zitronensäure nach der Methode von FLEISCHER (29) zeigte, daß die Speicherung der Säuren in den Blättern mit dem Alter zunimmt. Im frühesten Alter wurde weder in den Tabak- noch in den Sonnenblumenblättern Äpfel- und Zitronensäure festgestellt. Bei der Sonnenblume treten Äpfelsäure und Spuren von Zitronensäure nur während des Blühens auf. In der Periode der Fruchtbildung enthalten die Sonnenblumenblätter nur Spuren von diesen Säuren. Doch enthalten die Blätter gleichaltriger geköpfter Pflanzen schon bestimmbare Mengen, wobei Zitronensäure über Äpfelsäure vorherrscht. Die H.-Konzentration im Wasserauszug von Sonnenblumenblättern nimmt mit dem Alter ab (Tabelle 12).

Tabelle 12. Säuregehalt in Milligramm pro 1 qm der Blattfläche bei der Sonnenblume.

	Äpfelsäure	Zitronensäure	pH ¹
I. Stadium, 24. V.	0	0	7,4
II. „ 17. VI.	0	0	7,5
III. „ 12. VII., Blühen	Spuren	8,33	7,6
IV. „ 27. VIII. {	normaler Pflanzen . .	„	7,9
	geköpfter Pflanzen .	10,79	21,53

Die erste merkbare Speicherung von Oxyssäuren in Sonnenblumenblättern während des Blühens fällt mit dem gesteigerten Verbrauch sowohl der Gesamtkohlehydrate als auch der Eiweiße zusammen; es läßt sich daher der Zusammenhang der Säurebildung mit der Umwandlung einer bestimmten Stoffgruppe nicht verfolgen. Die Abnahme der Atmungsenergie der Blätter während dieser Periode deutet darauf hin, daß der Rückgang der physiologischen Verbrennung die Bildung von Oxyssäuren nicht verhindert, im Gegenteil ist dieser Rückgang eher für ihre Bildung günstig. Obwohl in diesem Moment die Ablei-

¹ pH wurde kolorimetrisch im Komparator nach SÖRENSEN bestimmt.

tung von Stoffen aus den Blättern am stärksten ist, findet eine Speicherung von Oxysäuren statt. Im nächsten Stadium (Fruchtbildung) fällt die Menge der Zitronensäure bis zu Spuren; doch steht dies wahrscheinlich nicht mit einer Steigerung der Atmungsenergie in Zusammenhang, weil in den Blättern der geköpften Pflanzen sowohl eine Speicherung von Äpfel- als auch von Zitronensäure, trotz größerer Zunahme der Oxydationsvorgänge (Atmung) erfolgt. Der größere Säuregehalt in den Blättern der geköpften Pflanzen im Vergleich zu normalen wird wahrscheinlich durch die geringere oder ganz ausbleibende Ableitung der Säuren oder durch ihren geringen Verbrauch im Stoffwechsel bedingt. Nach der Speicherung von Säuren in den Blättern läßt sich noch nicht die Bildung dieser Verbindungen beurteilen. Die in den Blättern der Sonnenblume gebildeten Säuren sind ausschließlich in gebundener Form vorhanden (das p_H des Wasserauszuges bewegt sich die ganze Zeit in der alkalischen Zone), wobei mit dem Älterwerden der Blätter trotz Zunahme des Säuregehaltes das p_H größer wird.

Die Reaktion des Wasserauszuges aus den Spreiten der Sonnenblumenblätter wird nicht nur mit dem Alter alkalischer, sondern gewinnt auch an Pufferwirkung; wird der Wasserauszug mit den Blättern längere Zeit stehen gelassen, so nimmt die Pufferwirkung in der sauren Lösung zu. Eine stabile Reaktion tritt erst ein, nachdem der Auszug 17—18 Stunden mit den Blättern stehen gelassen wurde¹. Zur Bestimmung der Pufferwirkung wurden trockene Blattspreiten ohne Blattnerven, die bei Zimmertemperatur getrocknet waren, gebraucht.

Die p_H -Bestimmung wurde mit einem elektrischen Potentiometer von MISLOWITZER, ohne den unlöslichen Teil des Materials abzufiltrieren, ausgeführt.

Tabelle 13. Pufferwirkung der Sonnenblumenblätter.

							Zeitdauer d. Infundierens bei Zimmertemperatur
Menge des dest. Wassers in ccm .	10	9,5	9,0	8,0	5,0	0	
n/10 ccm HCl	0	0,5	1,0	2,0	5,0	10	
p_H des Lösungsmittels (Kontrolle).	5,67	2,67	2,37	2,07	1,72	1,47	
p_H des Gemisches mit Trockensubstanz der Blätter (1 g)							
I. Stadium	7,2	6,88	6,56	6,06	4,64	3,24	18 Stund.
II. „	7,47	7,19	6,94	6,52	5,01	3,61	18 „
III. „	7,79	7,64	7,42	7,11	6,01	4,25	18 „
IV. „ { normale Pflanzen	8,0	7,88	7,69	7,68	7,11	4,74	18 „
„ { „	7,25	6,83	6,5	6,15	5,33	4,02	1 „
„ { geköpfte „	7,75	7,72	7,58	7,53	6,38	4,05	18 „
„ { „	7,18	6,78	6,53	5,75	5,14	3,67	1 „

¹ In Gegenwart eines Antiseptikums.

Die Pufferwirkung des Materials bleibt bei Ansäuerung mehr oder weniger beständig, wie das aus Abb. 10 für die Blätter des dritten Entwicklungsstadiums, während des Blühens, zu ersehen ist. Vor und nach dem Blühen wird die Pufferwirkung des Blattmaterials bei Ansäuerung verändert, wobei bei jungen Blättern des ersten und zweiten Stadiums die Pufferwirkung der Trockensubstanz bei Beginn der Ansäuerung schwächer ist als bei ihrer Beendigung; bei ausgewachsenen Blättern ändert sich die Pufferwirkung im umgekehrten Sinne (viertes Stadium). Dieser Unterschied beruht wahrscheinlich darauf, daß der isoelektrische Punkt der Kolloide infolge verschiedenen Gehaltes an Puffern und Elektrolyten für jedes Entwicklungsstadium des Blattgewebes mit verschiedener Geschwindigkeit erreicht wird (8, 38, 61, 62 a).

Die alkalische Reaktion der Sonnenblumenblätter, welche mit dem Alter des Blattgewebes zunimmt, kann in gewissem Maße den stabilen Gehalt des Eiweiß-N in allen Entwicklungsstadien der Blätter erklären, und zwar aus dem Grunde, weil das Optimum der spaltenden Wirkung der Proteasen bei höheren Pflanzen in der Mehrzahl der Fälle in der unterhalb des Neutralpunktes liegenden Zone des p_H zu liegen kommt (74).

Es ist interessant, hervorzuheben, daß das p_H der Blätter von geköpften Pflanzen ein geringeres ist als in solchen von normalen, fruchttragenden Pflanzen. Folglich sind die Blätter der geköpften Pflanzen auch nach diesem Merkmal physiologisch jünger als gleichaltrige von fruchtenden Pflanzen.

Tabak hat eine größere Fähigkeit zur Speicherung von Säuren als die Sonnenblume. Nach RUHLAND und WETZEL (90) können die höheren Pflanzen auf Grund des N-Stoffwechsels in zwei physiologische Gruppen

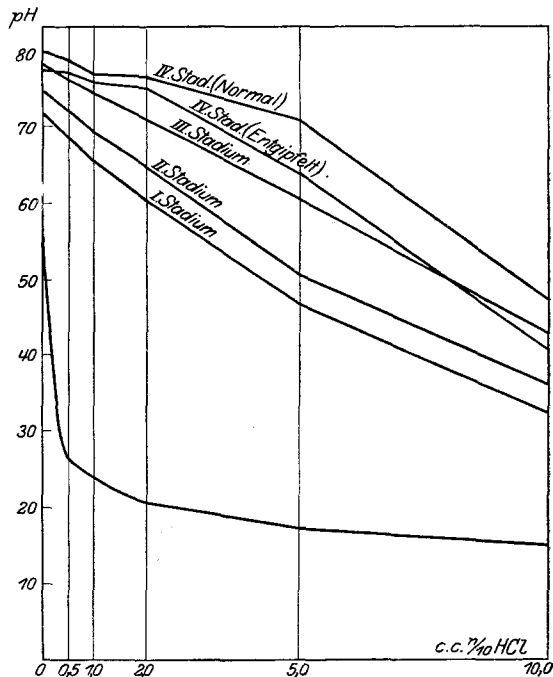


Abb. 10. Sonnenblumenblätter.
Pufferwirkung der Trockensubstanz.

geteilt werden. Die Pflanzen der einen Gruppe werden durch eine geringe Speicherung von Ammoniak-N und von Säuren charakterisiert und haben die Fähigkeit, in bedeutendem Maße Säureamide zu synthetisieren (Asparagin, Glutamin); in die Form der Säureamide wird der Ammoniak, der bei der Desaminierung von Aminosäuren abgespalten oder auch von außen aufgenommen würde, übergeführt. Die andere Gruppe der Pflanzen, die besonders gut durch *Begonia semperflorens* charakterisiert wird, speichert in ihren Geweben Ammoniak in Form von organischen Salzen, welche für diese Gruppe physiologisch die Säureamide ersetzen. Die Fähigkeit der Pflanzen, freie Säuren zu speichern, ist nach RUHLAND und WETZEL eine Bedingung, die den N-Stoffwechsel sowohl der höheren, als auch der niederen Pflanzen bestimmt. Doch scheint es in dieser Beziehung, wie auch in vielen anderen, eine Reihe von Übergangsformen zu geben. Gleich wie die Schimmelpilze, je nach der Art und den Kulturbedingungen (BUTKEWISCH [11], BERNHAUER [7]), den einen oder den anderen Typus des Stoffwechsels aufweisen, müssen auch unter den höheren Pflanzen zweifellos Formen vom Übergangstypus vorhanden sein.

Die Tabakblätter, welche im Vergleich zu Sonnenblumenblättern eine größere Fähigkeit zur Säurespeicherung besitzen, enthalten größere Mengen von Ammoniak-N. Aber gleichzeitig haben die Tabakblätter auch eine größere Fähigkeit zur Speicherung von Säureamiden, und zwar sowohl absolut als auch relativ. Im Stadium des Gelbwerdens der Tabakblätter ist die Speicherung von Amid-N am größten; das steht zweifellos mit dem gesteigerten Eiweißzerfall in Zusammenhang, ebenso wie auch mit der nachfolgenden Desaminierung von Aminosäuren und mit der Abnahme des Äpfelsäuregehaltes, welches letztere das Ausgangsmaterial für den Aufbau von Asparagin darstellt (97).

In den Tabakblättern fängt die Speicherung von Säuren in einem früheren Stadium an als bei der Sonnenblume. Bei jungen Tabakpflanzen, welche 5—6 Blattpaare haben, findet man neben Zitronen- und Äpfelsäure, die auch in allen weiteren Entwicklungsstadien vorkommen, auch Oxalsäure. Die Anwesenheit von Oxalsäure während dieser Periode scheint mit dem energischen N-Stoffwechsel und dem gesteigerten Wachstum in Zusammenhang zu stehen. Im nächsten Entwicklungsstadium wird mit der Verlangsamung des Blattwachstums und dem Rückgang des N-Stoffwechsels, was in einer Verminderung des relativen Gehaltes an Eiweiß-N (in Prozenten des Gesamt-N ausgedrückt) zum Ausdruck kommt, Oxalsäure in den Blättern nicht mehr vorgefunden, wogegen der Gehalt von Zitronen- und Äpfelsäure gesteigert wird. Wir haben das schon im Jahre 1925 festgestellt, als wir mit einer anderen Tabaksorte gearbeitet haben, bei der junge Blätter weder Zitronen- noch Äpfelsäure, sondern Oxalsäure und Spuren von Weinsäure enthielten; in alten ausgewachsenen Blättern war dagegen sowohl Äpfel- als auch Zitronensäure vor-

handen, aber sie enthielten weder Oxal- noch Weinsäure (95). Der Säuregehalt der Tabakblätter während der Vegetationsperiode 1926 ist in der Tabelle 14 angegeben.

Tabelle 14. Säuregehalt in Milligramm pro 1 qm der Tabakblattfläche.

		Äpfelsäure	Zitronensäure	p _H
I. Stadium,	1. VI.	0	0	6,0
II. „	30. VI.	12,6		
III. „	20. VII.	0,52	Spuren	5,6
IV. „	2. VIII., Blühen	0,90	„	5,6
V. „	2. VIII. {	normaler Pflanzen .	15,0	5,5
		geköpfter „ .	8,0	5,35
VI. „	27. VIII., „ „ .	25,0	111,0	5,35
VII. „	16. XI. „ „ .	17,0	89,0	5,6

Oxalsäure wurde erst im zweiten Entwicklungsstadium der Pflanzen in einer Menge von 18,82 mg pro 1qm Oberfläche festgestellt; zu dieser Zeit enthielten die Blätter den größten relativen Gehalt an Eiweiß-N (Tabelle 10).

Die Tabakblätter zeigten die ganze Zeit saure Reaktion, wobei die Azidität mit dem Alter etwas zuzunehmen pflegt. Erst im Stadium des Gelbwerdens der Blätter, wenn in ihnen eine maximale Menge von Ammoniak und Nikotin angehäuft wird und der Gehalt an Äpfel- und Weinsäure etwas abnimmt, wird das p_H wieder etwas größer.

Mit dem Moment des Auftretens von Äpfel- und Zitronensäure in den Tabakblättern und bis zur technischen Reife herrscht Äpfelsäure über Zitronensäure vor. Die Abnahme des Äpfelsäuregehaltes bei technisch reifen Blättern und ein noch größerer Rückgang der Äpfelsäure in gelbwerdenden Blättern wird wahrscheinlich durch ihren energischen Verbrauch für die Asparaginsynthese verursacht, denn in dieser Zeit erfolgt ein gesteigertes Anwachsen des Amid-N. Der Gehalt von Zitronensäure wird im Stadium der technischen Reife der Blätter stark gesteigert. Das kann einerseits durch die mit der Beendigung des Wachstums verminderte Ableitung von Zitronensäure erklärt werden, andererseits kann die Zunahme des Zitronensäuregehaltes infolge der Beendigung des Blattwachstums und der gesteigerten Speicherung von Kohlehydraten in den Blättern zu dieser Zeit bedingt sein; das letztere trifft nur dann zu, wenn man annimmt, daß die Bildung von Zitronensäure bei höheren Pflanzen ebenso vom Wachstum und der Anwesenheit von Kohlehydraten abhängt, wie es bei Schimmelpilzen der Fall ist (116). Diese Analogie gilt in bezug auf Zitronensäurespeicherung auch für Sonnenblumenblätter. Die Abnahme des Zitronensäuregehaltes in den gelbwerdenden Tabakblättern wird wahrscheinlich nicht durch den Rückgang ihrer Bil-

dung, sondern durch ihre Ableitung in den Stengel, ebenso wie das für andere Stoffe der Fall ist, bedingt.

Der Säuregehalt der Blätter, welcher durch die Analyse in jedem einzelnen Lebensmoment der Pflanze bestimmt wird, hängt vom Gleichgewichtszustand zwischen mehreren gleichzeitig verlaufenden Vorgängen ab. Einerseits wird der Säuregehalt durch die Bildung von Säuren, andererseits durch ihren Verbrauch und die Ableitung nach entgegengesetzten Richtungen bestimmt. Bei genügender Luftzufuhr können die Oxysäuren Sauerstoff addieren, besonders dann, wenn Katalysatoren, die den Sauerstoff aktivieren, zugegen sind; bei diesem Vorgang entstehen Ketonsäuren. Diese sind physiologisch labil und werden je nach den Bedingungen des Mediums entweder zur Synthese von Aminosäuren (53, 97) verwendet, oder sie unterliegen der Wirkung der Karboxylase, wobei Aldehyde mit einer verkürzten C-Kette gebildet werden. Die Umwandlungen von Äpfelsäure in die Oxalessigsäure und ihr weiterer Verbrauch für die Synthese der Asparaginsäure und des Asparagins scheint in Pflanzen ziemlich verbreitet zu sein (53, 55, 62a, 97). Die Oxalessigsäure wird, wenn Bedingungen für ihren unverzüglichen Verbrauch zur Synthese des Asparagins fehlen, und falls Bedingungen für Reduktionsvorgänge vorhanden sind, wieder in Äpfelsäure reduziert; oder sie spaltet unter der Einwirkung von Karboxylase zwei Moleküle CO_2 ab und bildet Acetaldehyd, wie NEUBERG und KARZAG (69) experimentell festgestellt haben. Die Anwesenheit von Acetaldehyd in den Tabakblättern wurde unlängst durch NEUBERG und KOBEL (70) entdeckt. Selbstverständlich wollen wir damit nicht sagen, daß die Bildung des Acetaldehyds in Tabakblättern nur auf diese Reaktion beschränkt ist. Acetaldehyd kann in höheren Pflanzen, wie bekannt, auf dem Wege des Kohlehydratzerfalls bei der normalen Atmung gebildet werden (45). Die Kompliziertheit und die große Anzahl der Reaktionen, in denen Oxysäuren sowohl gebildet, als auch verbraucht werden, bedingt es, daß eine bestimmte Lösung der Frage über die Dynamik der Oxysäuren in den Blättern lebender Pflanzen äußerst schwierig ist; die Lösung dieser Frage wird noch dadurch erschwert, daß sowohl die Oxysäuren selbst als auch die Ausgangsstoffe, aus denen sie gebildet werden, und die Umwandlungsendprodukte der Oxysäuren abgeleitet werden.

Um die störende Wirkung der Säureableitung zu beseitigen, wurden die Blätter von den Pflanzen abgetrennt und während 6 Tagen (nach Entfernung der Mittelnerven) in einer Masse, die mit einem reinen Handtuch umhüllt war, bei Zimmertemperatur aufbewahrt; dadurch wurde ihr vorzeitiges Absterben durch Austrocknung vorgebeugt. Die Einwirkung von Oxydationsvorgängen auf die Säurespeicherung in den Blättern wurde durch 6tägige Autolyse bei Zimmertemperatur ermittelt. Im südlichen Klima des Nordkaukasus stieg die Zimmertemperatur im Sommer

zur Zeit der Beobachtungen bis zu 27—35° C an. Die Autolyse der Tabakblätter (ohne Mittelnerven) wurde sowohl in Wasser als auch im gasförmigen Medium durchgeführt. Im letzten Fall wurde eine Blattportion unter aerobe (Luftstrom) und die anderen in anaerobe (N-Atmosphäre) Bedingungen gebracht. Um die Autolyse im Wasser durchzuführen, übergossen wir 100—150 g grob zerkleinerter Blattspreiten mit 500 ccm destillierten Wassers, dem 10 ccm eines antiseptischen Gemisches (Chloroform + Toluol 1 : 3,5) zugegeben waren. Bei der Autolyse im gasförmigen Medium wurden die Blatthälften frischer Blätter in einen 1 l-Zylinder von FRESSENIUS eingelegt und ebenfalls mit den erwähnten Antiseptics versehen. Die Autolyse unter aeroben Bedingungen erfolgte bei ständigem Durchleiten von Luft durch die Zylinder und täglichem Zugießen von 15 ccm der Antiseptica. Für die anaerobe Autolyse wurde die Luft aus dem Zylinder von FRESSENIUS durch N verdrängt, 75 ccm eines antiseptischen Gemisches zugegeben und der Zylinder mit Gummistopfen abgeschlossen. Unter den aeroben Bedingungen wurden die Blätter schnell braun, unter den anaeroben blieben sie bis zum Abschluß der Autolyse grün.

Tabelle 15. Veränderungen im Säuregehalt bei der Autolyse und beim Hungern der Tabakblätter, in Prozenten des Ausgangsgehaltes an Säure.

Stadien	II	III	IV	V		VI	VII	
				normal	geköpft			
Autolyse in Wasser .	- 100	+ 100	+ 100	+ 38,34	+ 109,44	+ 147,45	+ 185,54	Äpfelsäure
				+ 9,23	+ 680,1	- 30,76	+ 50,02	Zitronensäure
Autolyse in N . . .	- 100	+ 200	+ 75	—	+ 95,45	+ 21,1	+ 124,95	Äpfelsäure
				—	+ 299,82	- 12,8	+ 245,6	Zitronensäure
Autolyse in Luft . .	+ 50	- 50	+ 75	—	- 13,0	- 31,6	+ 94,8	Äpfelsäure
				—	+ 240,0	- 42,3	+ 100	Zitronensäure
Hungern	+ 925	- 50	+ 100	+ 244,04	+ 119,13	—	+ 124,95	Äpfelsäure
				+ 9,23	+ 239,95	—	+ 75,03	Zitronensäure

Die Veränderung im Säuregehalt war sowohl vom Alter des Blattgewebes als auch von der Sauerstoffversorgung abhängig. Beim Hungern und beim Fehlen einer Ableitung von Stoffen aus den Blättern fällt das relative Maximum des Säurezuwachses auf das junge Stadium. Das deutet darauf hin, daß ein Fehlen der Säurespeicherung in jungen Tabakblättern unter normalen Bedingungen nicht von mangelnder Fähigkeit zur Bildung von Oxysäuren herrührt, sondern durch den schnelleren Verbrauch und die Ableitung der Säuren aus den Blättern bedingt ist. Gewiß gibt es auch noch eine andere Möglichkeit, die Abwesenheit von Säuren in den Blättern junger Pflanzen zu erklären, nämlich den unter normalen Bedingungen schnellen Verbrauch der als Ausgangsmaterial zum Aufbau der Säuren dienenden Stoffe; insbesondere bezieht sich das auf den be-

deutenden Verbrauch von Kohlehydraten in jungen Blättern für die Atmung und die Synthese von N-haltigen Verbindungen. Das Verhältnis zwischen den Kohlehydratreserven und ihrem Verbrauch ist, wie aus obigen Ausführungen zu ersehen, in jungen Blättern weniger günstig als in ausgewachsenen.

Sowohl bei Luftzufuhr als auch unter anaeroben Bedingungen findet der größte Zuwachs der Säuren in den ausgewachsenen Blättern statt. Stellen wir die Veränderungen der Säuren bei der Autolyse und beim Hungern zusammen, so können wir an ihnen zwei Gruppen unterscheiden. Zur ersten gehören die Veränderungen der Säuren während der Autolyse in Wasser und in einer N-Atmosphäre, zur zweiten Gruppe diejenigen während der Autolyse bei Luftzufuhr und beim Hungern der Blätter. Die Autolyse in Wasser erfolgte bei O₂-Mangel, und deshalb sind die Resultate der Säureveränderungen in quantitativer Beziehung denjenigen der Autolyse in einer N-Atmosphäre analog; in einigen Fällen stimmen die in beiden Fällen erhaltenen Befunde auch ganz überein.

Die Blätter des frühen Entwicklungsstadiums (II. Stadium) verlieren bei anaerober Autolyse (in Wasser und in N-Atmosphäre) gänzlich die in ihnen enthaltenen Säuren. Es verschwindet dabei nicht nur die Summe der Äpfel- und Zitronensäure, sondern auch die Oxalsäure, welche nur in dieser Entwicklungsperiode der Pflanzen feststellbar ist. In den Blättern älterer Pflanzen findet bei anaerober Autolyse eine Speicherung von Äpfel- und Zitronensäure statt, und nur in den Blättern des VI. Entwicklungsstadiums beobachtet man einen gewissen Verlust von Zitronensäure.

Unter den Bedingungen unserer Versuche, sowohl bei der Autolyse im Wasser als auch bei derjenigen in einer N-Atmosphäre, war zweifellos der Sauerstoff nicht ganz beseitigt; es handelte sich bei diesen Autolysen nur um eine O₂-Verminderung im Reaktionsmedium. Bei der Autolyse in Wasser waren außer der in ihm gelösten Luft auch Luftbläschen vorhanden, die an der Blattoberfläche und in den Intercellularen hafteten. Bei der Autolyse in einer N-Atmosphäre konnte auch etwas Luft in den Intercellularen festgestellt sein, außerdem ging die Autolyse in den ersten Stadien zweifellos im Beisein von Luftsauerstoff, der durch den N noch nicht ganz verdrängt worden war, vor sich. Die geringe Sauerstoffmenge, welche unter unseren Bedingungen der anaeroben Autolyse vorhanden sein konnte, reicht wahrscheinlich aus, um bei gewissen Bedingungen des Mediums Säuren zu speichern und weiter zu oxydieren. Die gesteigerte Fähigkeit der jungen Blattgewebe zu Oxydationsprozessen verursachte beim geringen Sauerstoffgehalt im Medium das Verschwinden der Oxyssäuren, was wahrscheinlich auch mit einem Mangel an Ausgangsmaterial für die Säurebildung zusammenhängen dürfte. Die Veränderung des Oxyssäuregehaltes im lebenden Gewebe und auch bei der

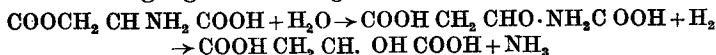
Autolyse wird durch das Verhältnis zwischen den Bildungsgeschwindigkeiten der Oxysäuren und der Geschwindigkeit ihrer weiteren Umwandlungen bedingt. Sowohl der erste als auch der zweite Vorgang ist in gewissem Maße mit einer Oxydation verbunden. War gleichzeitig Mangel an Sauerstoff im Medium und an Ausgangsmaterial für die Bildung von organischen Säuren vorhanden, so nahm der Säuregehalt ab. Bei ausgewachsenen Blättern, die mehr Reservestoffe enthalten, werden bei anaerober Autolyse mehr Säuren gebildet, als Sauerstoff für ihre weitere Oxydation zur Verfügung steht. Wahrscheinlich üben auch die Bedingungen des Mediums, die mit dem Chemismus des Substrates, in dem die Einwirkung der Oxydationsfermente sich abspielt, verbunden und die für einzelne Entwicklungsstadien des Blattgewebes zweifellos verschieden sind, einen bedeutenden Einfluß auf das Verhältnis zwischen den Geschwindigkeiten aus, mit denen einerseits die Oxydation der Oxysäuren und andererseits diejenige des Ausgangsmaterials, aus dem diese Säuren gebildet werden, vor sich gehen. Eine solche Schlußfolgerung kann auf Grund der bekannten Abhängigkeit der Wirkung der Oxydationsfermente von den Eigenschaften des Substrates (105) und von der Konzentration der Wasserstoff- und Salzionen im Reaktionsmedium, welches mit dem Alter der Blätter wechselt, gezogen werden.

Bei der aeroben Autolyse und beim Hungern der Blätter sind die Veränderungen im Gehalt an Äpfel- und Zitronensäure in der Summe der Fraktionen für das II., III. und IV. Entwicklungsstadium der Pflanzen ihrer Richtung nach analog; doch unterscheiden sich diese Veränderungen qualitativ besonders für das II. Stadium. Nur in den Blättern des V. Stadiums wird eine entgegengesetzte Veränderung im Äpfelsäuregehalt bei aerober Autolyse und beim Hungern festgestellt. Die Bildungs- und Speicherungsbedingungen der Säuren unterscheiden sich zweifellos nicht nur in diesem einen festgestellten Fall, sondern auch in den übrigen Fällen voneinander. Der Hauptsache nach unterscheiden sie sich darin, daß die Reaktionen bei der Autolyse im zerstörten Gewebe und bei größerer Sauerstoffversorgung als beim Hungern verlaufen; in diesem letzten Fall wurden die Blätter dicht zusammengelegt, so daß die Luft nur durch Diffusion zu den Blättern gelangen konnte. Der Unterschied in der Sauerstoffversorgung wurde durch die Veränderung des Oxalsäuregehaltes im Blattgewebe des II. Stadiums festgestellt. Bei aerober Autolyse fand eine Speicherung der Oxalsäure in einer Menge von 6,65% der Ausgangsmenge statt, während beim Hungern der Blätter die Menge der Oxalsäure um 46,87% abnahm; doch verschwand sie dabei nicht ganz, wie dieses bei anaerober Autolyse der Fall war. Oxalsäure fordert für ihre Bildung, unabhängig vom Material, aus dem sie entstanden ist (Kohlehydrate, Aminosäuren, Eiweißstoffe), als eine Verbindung, welche einen großen Sauerstoffbetrag enthält, gute Luftzufuhr und eine

tiefgehende Oxydation. Die Schimmelpilze als stark oxydierende Organismen sind besser als andere Organismen imstande, Oxalsäure zu erzeugen. Der Mangel an Luftzufuhr beim Hungern konnte in unseren Versuchen die Speicherung von Oxalsäure verhindern. Für die Oxydation derselben bis zu CO_2 werden weniger Sauerstoff und ein kleineres Oxydationspotential gebraucht als für ihre Bildung (55). Damit muß nach unserer Meinung der verschiedene Charakter der Veränderungen der Oxalsäure beim Hungern, bei aerober und anaerober Autolyse in unseren Versuchen zusammenhängen. Unter den Bedingungen der anaeroben Autolyse, also bei bedeutendem O_2 -Mangel im Medium, erfolgte nur eine Oxydation der vorhandenen Oxalsäure; die Bildung von Oxalsäure, die eine größere O_2 -Menge bedingt, blieb dagegen aus. Beim Hungern wurde ein Teil der oxydierten Oxalsäure durch Neubildung ergänzt, doch blieb eine vollständige Kompensation der Oxalsäure infolge des langsamen Zufließens von Sauerstoff aus. Unter den Bedingungen der aeroben Autolyse, im Luftstrom, erfolgte nicht nur eine vollständige Ergänzung der Oxalsäure, sondern fand auch eine gewisse Speicherung statt.

Der Gehalt an Äpfelsäure nahm in zwei Fällen von dreien bei der aeroben Autolyse ab (Stadien V, VI, VII) und nur in einem Fall zu, doch ist diese Zunahme bedeutend geringer als bei der anaeroben Autolyse in Wasser und in einer N-Atmosphäre und als beim Hungern, bei dem auch ein gewisser, wenn auch geringerer Sauerstoffmangel vorhanden sein mußte. Das Verschwinden oder eine geringere Speicherung von Äpfelsäure bei der Autolyse im Vergleich zu der bei Sauerstoffabwesenheit oder -mangel erinnert an die bekannte Speicherung von Äpfelsäure in den fleischigen Blättern der Sukkulente während der Nacht und ihr Verschwinden während der Assimilation (55). In den fleischigen Sukkulenteblättern tritt in der Nacht infolge Ausbleibens der Photosynthese ein gewisser Sauerstoffmangel ein, was die Speicherung von Äpfelsäure fördert; letztere erfährt aber mit Beginn der Photosynthese infolge O_2 -Anreicherung der inneren Gewebe eine weitere Oxydation.

Die Speicherung von Äpfelsäure bei Sauerstoffmangel läßt vermuten, daß sie als Folge einer Desaminierung von Asparaginsäure unter dem Einfluß von Oxydations-Reduktions-Reaktionen unter Mitwirkung von Wasser gebildet worden ist; dabei war die weitere Oxydation der Äpfelsäure zu Ketosäure (Oxallessigsäure) infolge O_2 -Mangel im Medium ausgeschlossen. Folglich stellen wir uns die Bildung von Äpfelsäure unter anaeroben Bedingungen nach folgendem Schema vor:



Unter aeroben Bedingungen erfährt die Äpfelsäure wahrscheinlich eine weitere Oxydation bis zu Oxallessigsäure mit nachfolgender Dekarboxylierung (69).

Ebenso wurde auch für die Fraktion der Zitronensäure die größte Speicherung bei anaerober und die größte Verminderung bei aerober Autolyse beobachtet. Die Bedingungen für die Speicherung der Fraktionen der Zitronen- und Äpfelsäure bei der Autolyse und beim Hungern der Blätter verschiedener Entwicklungsstadien sind verschieden. Die größte Speicherung der Äpfelsäurefraktionen wurde in den Blättern des VII. Stadiums, zu einer Zeit, wo der Gehalt an Amid-N (Asparagin) in ihnen sein Maximum erreicht, beobachtet, während das Maximum der Zitronensäurespeicherung in den Blättern des V. Stadiums erreicht wurde, d. h. in Blättern, die ungefähr 1 Monat jünger und an Amid-N ärmer waren. Es ist interessant, die Veränderung der Zitronensäurefraktionen sowohl bei aerober, als auch bei anaerober Autolyse der Blätter des VI. Stadiums, d. h. in einem Stadium zu verfolgen, in dem diese mehr Eiweiß-N als in beiden Nachbarstadien enthielten (Tabelle 10). Das kann als ein indirekter Beweis dafür angesehen werden, daß in den Tabakblättern weder Eiweiße noch Eiweißzerfallsprodukte für die Zitronensäurebildung ausgenutzt werden. Die von KOSTYTSCHEW einige Zeit vertretene Ansicht, daß die Zitronensäurebildung im pflanzlichen Organismus aus Isoleucin und aus anderen Produkten der Eiweißspaltung möglich ist (55), findet somit keine Bestätigung.

Die Verminderung der Zitronensäurefraktion bei der Autolyse der Blätter des VI. Stadiums und, bei aeroben Bedingungen, auch der Äpfelsäurefraktion wird wahrscheinlich durch Erhöhung des Oxydationspotentials hervorgerufen; darauf deutet die verstärkte Bildung von CO_2 bei der Atmung der Blätter dieses Alters (Tabelle 4, Abb. 5). Das Fehlen einer genügenden Menge von Ausgangsmaterial (fertiger Monosaccharide, Tabelle 6) für den Aufbau von Säure, trotz für deren weitere Oxydation günstigen Bedingungen, konnte ausschlaggebend für die Verminderung des Säuregehaltes bei der Autolyse sein; das könnte sowohl in Anwesenheit als auch bei Abwesenheit oder vermindertem Gehalt freien Luftsaauerstoffs der Fall sein.

Das Fehlen passender Methoden für die quantitative Bestimmung der Oxysäuren, die sich in verhältnismäßig geringen Mengen im komplizierten Gemisch mit anderen organischen Stoffen befinden, erlaubt zur Zeit keine sichere Beurteilung der Dynamik ihrer Verwandlungen während der Vegetation der Blätter. Die erhaltenen Ergebnisse können nur ganz allgemein den wahrscheinlichen Gang der Veränderungen der Oxysäuren mit dem Alter der Blätter andeuten. *Die Speicherung von Oxysäuren in den im Zusammenhang mit der Pflanze verbliebenen Blättern wird mit dem Alter gesteigert, hauptsächlich während der zweiten Lebenshälfte der Blätter nach dem Blühen. Diese Säurespeicherung ist wahrscheinlich nicht das Ergebnis ihrer vermehrten Bildung, sondern eher ihres Nichtverbrauchs und ihrer gehemmten Ableitung.* In abgetrennten Blättern findet sowohl beim

Hungern als auch bei der Autolyse eine Speicherung von Säuren in einem früheren Alter statt.

Die Bedingungen, unter denen eine Säurespeicherung in den Blättern eintritt, verändern sich mit dem Alter der Pflanzen nicht gleichartig. Jedem Alter scheint die Speicherung einer bestimmten Säure eigen zu sein. Für die Oxalsäurespeicherung sind die Bedingungen im jungen Zustand, in dem ein gesteigerter N-Stoffwechsel und energische Eiweißbildung stattfinden, am günstigsten. Die größten Mengen von Zitronen- und Äpfelsäure werden in erwachsenen und alternden Blättern gespeichert, wobei zuerst Äpfelsäure über Zitronensäure vorherrscht, was wahrscheinlich mit dem Beginn des nach dem Blühen einsetzenden Umbaus von Aminosäuren in Asparagin und Glutamin zusammenhängt. Weiter nimmt der Gehalt an Äpfelsäure infolge zunehmender (auf Kosten des bei der Desaminierung entstehenden Ammoniaks und der Äpfelsäure stattfindender) Asparaginsynthese ab und Zitronensäure fängt an vorzuherrschen. Die Speicherung dieser letzteren Säure in lebenden Blättern fällt mit dem zweiten Maximum der Atmung und des Eiweißgehaltes zusammen. Deshalb kann die Speicherung von Zitronensäure nicht mit einem Rückgang der Eiweißsynthese oder der Strukturelemente des Eiweißes verknüpft werden, wie das unlängst durch KOSTYTSCHEW (59) für die Bildung einiger Säuren in lebenden Pflanzen getan wurde.

Die Speicherung von Oxysäuren in Gegenwart von Antiseptics und ihre gesteigerte Bildung unter anaeroben Bedingungen der Autolyse sprechen dafür, daß die Oxysäurebildung wahrscheinlich nicht von synthetischen Reaktionen abhängt. Die Oxysäuren entstehen durch Reduktion aus Ketosäuren, die sowohl bei der Desaminierung von Aminosäuren (Äpfelsäure) als auch bei der Spaltung von Kohlehydraten gebildet werden, ohne Beteiligung freien Sauerstoffs im Verlauf von Oxydations-Reduktions-Reaktionen auf Kosten der Elemente des Wassers.

Speicherung oder Abnahme von Säuren im pflanzlichen Organismus werden einerseits durch die Geschwindigkeit, mit der sie gebildet werden, andererseits durch ihren Verbrauch für synthetische Vorgänge sowie durch ihren Zerfall im Oxydationsprozeß mit nachfolgender Dekarboxylierung der Ketosäuren bestimmt.

Literatur.

- 1a. Amelung: Z. physiol. Chem. **164**, 52 (1927). — 1. Bach, A.: J. d. Russ. Physik.-Chem. Ges. **44**, II, 2 (1912). — 2. Bach, A. und Oparin, A.: Biochem. Z. **134**, 183 (1922). — 3. Bach, A. und Wähner: Ebenda **180**, 363 (1927). — 4. Baudisch, O. und Mayer, E.: Ber. dtsh. chem. Ges. **46**, 115 (1913). — 5. Benecke-Jost: Pflanzen-Physiologie. Jena: G. Fischer 1924. I u. II. — 6. Bernardini, L.: Boll. Tech. (1919). — 7. Bernhauer: Bioch. Z. **72**, 4/6, 296, 313, 324 (1926). — 8. Boas, Fr.: Die Pflanze als kolloides System. Naturwiss. u. Landwirtschaft. H. 14 (1928). — 9. Borodin, J.: Trav. Soc. imp. natur. St.-Pétersb. **8** (1876). — 10. But-

- kewitsch, W.:** Biochem. Z. **41**, 441 (1912). — 11. Jb. f. wiss. Bot. **64**, 637 (1925). — 12. **Butkewitsch, W. S. und W. W.:** Biochem. Z. **161**, 468 (1925). — 13. **Chaze:** C. r. Acad. Sci. **185**, Nr 1, 80 (1927). — 14. **Chibnall, A. and Schryver, S. B.:** Biochem. J. **15**, Nr 1, 60 (1921). — 15. **Chibnall, A.:** Ebenda **16**, Nr 3, 344 (1922). — 16. Ebenda **16**, Nr. 5, 595 (1922). — 17. Ann. of Bot. **37**, Nr 147 (1923). — 18. J. biol. Chem. **55**, Nr 3, 333 (1923). — 19. Biochem. J. **18**, Nr. 5, 387, 395, 405 (1924). — 20. **Collorio, H. M.:** Planta **5**, 1 (1928). — 21. **Combes, R. et Echevin, R.:** C. r. Acad. Sci. **185**, Nr 20 (1927). — 22. **Czapek, F.:** Biochemie d. Pflanzen I (1922); II (1925); III (1925). Jena: G. Fischer. — 23. **Egorow, M. A.:** J. exper. Agronom. **14** (1925) (russ.). — 24. **Ehrlich, F. und Sommerfeld, R.:** Bioch. Z. **168**, 263 (1926). — 25. **Ehrlich, F. und Schubert, F.:** Ebenda **169**, 13 (1926). — 26. **Eisler, M. und Portheim, L.:** Planta **2**, 542 (1926). — 27. **Embden, G. und Schmitz, E.:** Biochem. Z. **29**, 423 (1910); **33**, 393 (1912). — 28. **Fellner, H.:** Ebenda **38**, 414 (1912). — 29. **Fleischer, E. nach Rosenthaler, L.:** Grundzüge d. chem. Pflanzenuntersuchung. Berlin 1923. — 30. **Fodor, A.:** Kolloid-Z. **40**, H. 3, 234 (1926). — 31. **Fodor, A. und Reifenberg, A.:** Z. physiol. Chem. **162**, 1 (1927). — 32. **Franzen, H. und Keyßner, E.:** Biochem. Z. **135**, 183 (1923). — 33. **Franzen, H. und Helwert, F.:** Ebenda 384. — 34. **Garner, W.:** Bull. U. S. Depart. Agricult. Nr 79 (1914), prof. pap. — 35. **Gemzugnikow, E. und Vasilew:** Arb. d. Nord-Kauk. Association d. wissensch. Forschungsinstituten, Abt. 1, Nr 5 (1926) (russ.). — 36. **Gemzugnikow, E. und Mitarbeiter:** Ebenda Abt. VII, Nr 22 (1927) (russ.). — 37. **Hahn, A.:** Z. Biol. **71**, 278, 302 (1920). **73**, 10 (1921); **74**, 217 (1922); **76**, 227 (1922). — 38. **Höber, R.:** Physikal. Chemie d. Zelle u. Gewebe I (1922); II (1924). Leipzig. — 39. **Iljin, W.:** Flora **116**, 379 (1923). — 40. **Nach Maximow, N. (64, 337).** — 41. **Jones and Gersdorff:** J. biol. Chem. **64**, Nr 2, 241 (1925). — 42. **Kaho, H.:** Ergebnisse der Biologie **1**, 380 (1926). — 43. **Kiesel, A.:** Ebenda **1**, 257 (1927). — 44. **Klein, G. und Werner, O.:** Biochem. Z. **168**, 361 (1926). — 45. **Klein, G. und Pirschle, K.:** Ebenda **168**, 340. — 6. Ebenda **176**, 20 (1926). — 47. **Klein, G. und Herndlhofer, E.:** Österr. bot. Z. **76**, 222 (1927). — 48. **Klebs:** Willkürliche Entwicklungsänderungen (russ. Übersetzung von Prof. K. Timiriaseff, Moskau 1905). — 49. **Knoop, F.:** Z. physiol. Chem. **67**, 489 (1910). — 50. **Knoop, F. und Kurteß:** Ebenda **71**, 252 (1911). — 51. **Kolkwitz nach Walter (112).** — 52. **Kolthoff, J. M.:** Der Gebrauch von Farbenindikatoren. Berlin 1923. — 53. **Komm, Er.:** Eiweißbildung bei Tier und Pflanze. Naturwiss. u. Landwirtsch. H. 5 (1925). — 54. **Kondo, K.:** Biochem. Z. **38**, 407 (1912). — 55. **Kostytshew, S.:** Pflanzenatmung. Berlin: Julius Springer 1924. — 56. Lehrbuch d. Pflanzenphysiologie **1** (1926). Berlin. — 57. **Kostytshew, S. und Zwetkova:** Z. physiol. Chem. **3**, 171 (1920). — 58. **Kostytshew, S. und Mitarbeiter:** Planta **1**, 679 (1926). — 59. **Kostytshew, S. und Tschernokow:** Ebenda **4**, 181 (1927). — 60. **Krews:** J. exper. Agronom. **17**, 278 (1916) (russ.). — 61. **Lepeschkin, W.:** Kolloidchemie des Protoplasmas. Berlin: Julius Springer 1924. — 62. **Loeb:** Proteins and Theory of colloidal behavior. New York and London 1922. — 62 a. **Leuthardt, Fr.:** Kolloidchem. Beih. **25**, H. 1—4, 1 (1927). — 63. **Lundegårdh, H.:** Der Kreislauf der Kohlensäure in der Natur. Jena 1924. — 64. **Maximow, N.:** The physiological Basis of Drought-Resistance of Plants. Leningrad 1926. — 65. **Mislowitzer, E.:** Biochem. Z. **158/159**, 68 (1925). — 66. **Mohr:** Versuchsstat. **59**, 253. — 67. **Molisch, H.:** Z. f. Bot. **17**, 577 (1925). — 68. **Mothes, K.:** Planta **1**, 472 (1926). — 69. **Neuberg, C. und Karzag, L.:** Biochem. Z. **36**, 68, 76 (1911). — 70. **Neuberg, C. und Kobel, M.:** Ebenda **179**, 459 (1926). — 71. **Neuschloß, S. M.:** Pflügers Arch. **181**, 45 (1920). — 72. **Oosthuizen and Shedol:** Amer. J. chem. Soc. **35**, 1289 (1913). — 73. **Oparin, A.:** Biochem. Z. **182**, 155 (1927). — 74. **Oppenheimer, C. und Kuhn, R.:** Lehrbuch der Enzyme. Leipzig 1927. — 75. **Osborn, Th.:** The vegetable Proteins (1909). —

76. **Palladin, W.:** Rev. gén. Bot. **5**, 449 (1893). **6**, 201 (1894); **13**, 18 (1901). —
 77. Biochem. Z. **18** (1909). — 78. Ber. dtsch. bot. Ges. **26 a**, 125 (1911). — 79. Z.
 Gärungsphysiol. **1**, 91 (1912); **2**, 326 (1913). — 80. Biochem. Z. **27**, 442 (1910). —
 81. Z. physiol. Chem. **55**, 217 (1908). — 82. Rev. gén. Bot. **2**, 81 (1899). —
 83. **Palladin, W. und Kraule:** Biochem. Z. **39**, 290 (1912). — 84. **Parkin, J.:** New
 Phytologist **24**, 57 (1925). — 85. **Petrow, G. G.:** Stickstoffassimilation durch die
 Pflanze. Moskau 1917 (russ.). — 86. **Prianischnikow, D.:** Erg. Biol. **1**, 407 (1926).
 — 87. **Pristley:** New Phytologist **23**, 255 (1924). — 88. **Rippel, A. und Ludwig, O.:**
 Biochem. Z. **177**, H. 4/6, 318 (1926). — 89. **Rona, P.:** Praktikum d. physiol. Chem.
1 (1926). — 90. **Ruhland und Wetzel:** Planta **1**, 558 (1926). — 91. **Sabalitschka,**
Th. und Jungermann, C.: Biochem. Z. **163**, 445 (1925). — 92. **Schulow, J. S.:** Aus
 dem Gebiet der Physiologie der Pflanzenernährung. Moskau 1913 (russ.). —
 93. **Schumacher, W.:** Planta **5**, 161 (1928). — 94. **Smirnow, A. I.:** Arb. landwirtsch.
 Inst., Krasnodar **4**, 2 (1926) (russ.). — 95. Ber. d. zentr. Inst. f. Tabakforschg
 Nr 29, 30 (1926) (russ.). — 96. **Smirnow, A. I. und Erygin, P.:** J. landwirtsch.
 Wiss. **3**, 724 (1926) (russ.); ref. Bot. Zbl. **2**, 153 (1927). — 97. **Smirnow, A.:** Bio-
 chem. Z. **137**, 1 (1923). — 98. **Smirnow, R. und Allissowa, S. W.:** Ebenda **149**, 66
 (1924). — 99. **Smirnow, A. I.:** Ebenda **155**, 1 (1925). — 100. **Spoehr, H.:** Pho-
 tosynthesis. New York 1926. — 101. **Stahlfeld, M. G.:** Biol. Zbl. **46**, 1 (1926). —
 102. Ebenda 11. — 103. **Stoppel, R.:** Pflanzenphysiologische Studien. Jena 1926.
 — 104. **Tollenaar, D.:** Omzettingen von Koolhydraten in het Blad von *Nicotiana*
Tabacum L. Diss. Wageningen 1925. — 105. **Ucho und Bonsi:** Z. physiol. Chem.
164, 52 (1927). — 106. **Uehla:** Planta **2**, 618 (1926). — 107. **Ullrich, H.:** Ebenda
1, 565 (1926). — 108. **Uno, H.:** Bull. Coll. Agricult. Tokyo **4**, 391. — 109. **Ursprung,**
A.: Planta **2**, 64 (1926). — 110. Nach **Walter** (112) und **Maximow** (64). — 111. **Vin-**
cent, G.: Bull. de Chim. Biol. **8**, 330 (1926). — 112. **Walter, H.:** Der Wasserhaus-
 halt der Pflanzen usw. Naturwiss. u. Landwirtsch. H. **6** (1925). — 113. Die An-
 passung der Pflanzen an Wassermangel. Ebenda H. **9** (1926). — 114. Z. f. Bot. **16**,
 353 (1924). — 115. **Warburg, O.:** Biochem. Z. **110**, 66 (1920); **166**, 403 (1921). —
 116. **Wetzel, K.:** Planta **4**, 606 (1927). — 117. **Wilstätter, R.:** Ber. dtsch. chem.
 Ges. **59**, 1 (1926). — 118. J. chem. Soc. 1359 (1927). — 119. **Wilstätter, R. und**
Stoll, A.: Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin 1918.
-