

Über die Einwirkung von Kohlenoxyd bezw. Leuchtgas auf Elementarorganismen und auf höhere Pflanzen.

Von Rudolf Heider.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Erlangen.

Einleitung.

Kohlenoxyd, CO, gilt allgemein als Blutgift oder vielmehr als Blutfarbstoffgift, und zwar wird es in den meisten Lehrbüchern als Typus eines reinen Blut(farbstoff)giftes aufgeführt. Mit dem Hämoglobin, Hb, vereinigt es sich bekanntlich zu Kohlenoxydhämoglobin, CO-Hb, das eine sehr viel festere Verbindung darstellt als das Oxyhämoglobin, O-Hb. Die Affinität des Hb zum CO ist 210 mal größer als die zum O¹⁾. In einem 1%igen CO-Luftgemisch wird der gesamte Sauerstoff des O-Hb durch CO verdrängt (bei $\frac{1}{4}\%$ CO ca. zwei Drittel)²⁾; das CO-Hb ist aber nicht imstande, O aufzunehmen und zu übertragen, und es kommt daher bei Einatmung CO-haltiger Luft zu Erstickung. Die anderen bei der CO-Vergiftung beobachteten Symptome werden meist als sekundär, durch die O-Verarmung der Gewebe hervorgerufen, gedeutet. Als Beweis hierfür wird angeführt, daß Hb-freie tierische Organismen durch CO angeblich nicht geschädigt würden; ferner, daß ein Frosch, dem das Blut durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt ist, bei Aufenthalt in einer Chloroformatmosphäre sehr schnell Betäubung, Herzstillstand, Tod zeige, während er in CO-haltiger Luft annähernd eben so lange am Leben bleibe wie in normaler Luft. Dies beweist aber nur, daß das CO — neben der Blutgiftwirkung — keine starken physiologischen

¹⁾ Kunkel, Handbuch der Toxikologie, S. 328.

²⁾ Ebenda S. 327.

Wirkungen (wie das Chloroform, der Äther etc.) ausübt. Daß aber solche Wirkungen, abgesehen von der Blutwirkung, statthaben, scheint sich schon aus einer Anzahl gewissermaßen alltäglicher, d. h. auch vom Laien zu machender, Beobachtungen zu ergeben.

Jedem Gärtner ist bekannt, daß in einem Boden, durch den Gasleitungen gelegt sind, tiefwurzelnnde Pflanzen, z. B. Bäume, schlecht gedeihen oder eingehen. Hier haben wir eine, allerdings nur langsam und allmählich eintretende Wirkung des CO, die mit Hb nichts zu tun hat. Daß aber auch beim Warmblüter, speziell beim Menschen, abgesehen von der CO-Hb-Bildung, noch andere CO-Wirkungen eintreten, ergibt sich aus der klinischen Schilderung der CO-Vergiftung. Die „Erstickung“ bei der CO-Vergiftung stellt sich ganz anders dar als sonst die Erstickung durch O-Mangel. Reiner O-Mangel führt zu Dyspnoe. Diese äußert sich objektiv in Verstärkung und Vertiefung der Atmungsbewegungen, subjektiv in dem Gefühl des Lufthungers. Ein Mensch, der Lufthunger hat, wird sich Luft zuzuführen versuchen, die Fenster öffnen, aus dem gefährlichen Raum zu entfliehen suchen. Das tut der CO-Vergiftete nicht; er wird vielmehr entweder allmählich völlig betäubt, oder — häufiger — wenn er die Gefahr merkt, d. h. wenn der Lufthunger beginnt, ist die motorische Tätigkeit derart gehemmt, daß zwar noch Willensimpulse, z. B. zum Fenster zu gelangen, gegeben werden, aber ihre Ausführung nicht mehr möglich ist. Diese allgemein bekannte, klinisch ganz sichere Tatsache weist doch deutlich darauf hin, daß — neben der Blutfarbstoffwirkung — noch andere physiologische Wirkungen bestehen.

Ich habe mir nun die Frage vorgelegt, welche Wirkungen das CO auf elementare tierische und pflanzliche Organismen (einzellige Lebewesen) sowie auf höhere Pflanzen bezw. Pflanzenteile ausübe.

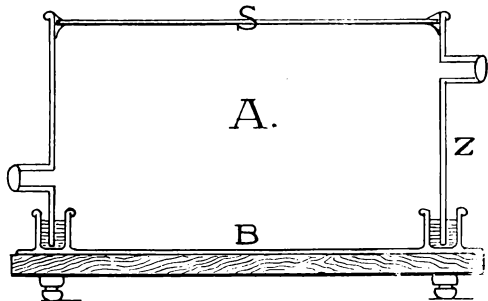
Bei der Beurteilung der Resultate physiologischer Experimente ist es von größter Wichtigkeit, zu wissen, wie die Versuche angestellt wurden. Es ist von mir für die einzelnen Versuchsreihen zunächst das geeignetste Verfahren ausprobiert worden. Dabei bin ich zur Konstruktion einer Anzahl kleiner Apparate gelangt, die vielleicht anderen für ähnliche Versuche von Nutzen sein dürften, und die ich daher hier näher beschreiben will.

Abmessung und Darstellung des CO sowie des CO-Luftgemisches bzw. Leuchtgas-Luftgemisches.

Es handelt sich im allgemeinen darum, einen luftdicht abgeschlossenen Raum mit einem bestimmten CO-Luftgemisch zu versehen. Einen solchen Raum stellte ich mir folgendermaßen her (s. Fig. 1):

Auf eine runde Blechscheibe B von 25 cm Durchmesser sind zwei 4 cm hohe Blechringe von 25 bzw. 23 cm Durchmesser konzentrisch aufgelötet. In die hierdurch gebildete

Fig. 1.



Rinne ist ein Zylinder Z aus Blech eingesetzt von 24 cm Durchmesser und 20 cm Höhe. Den oberen luftdichten Abschluß bildet eine eingekittete Glas- scheibe S. An zwei gegenüberliegenden Stellen ist je ein Stutzen angebracht,

der eine nahe dem oberen, der andere nahe dem unteren Rande des Zylinders. In die Stutzen ist je ein durchbohrter Kork eingepaßt; durch die Durchbohrung ist ein zu- bzw. ableitendes Glasrohr gesteckt, an welches Kautschukschläuche angesteckt werden können.

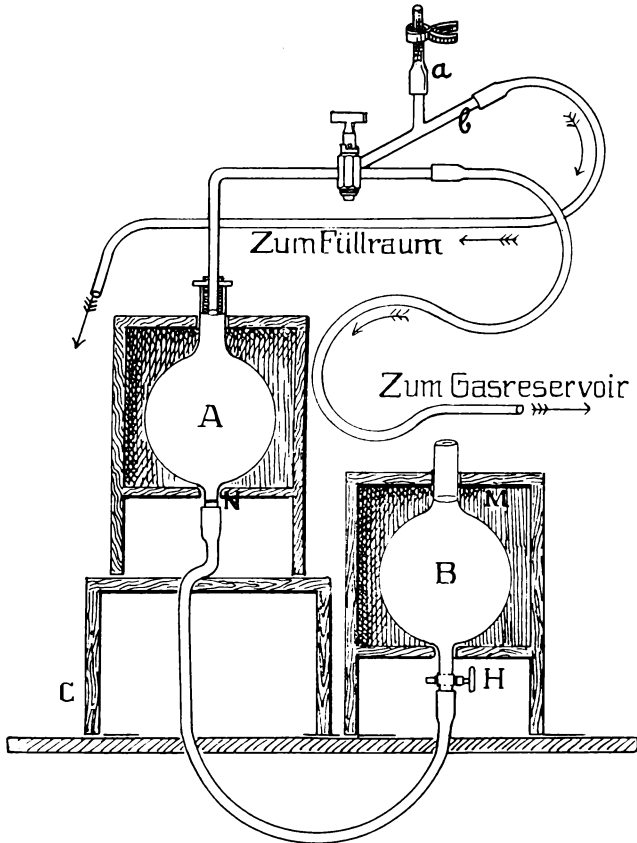
Der Inhalt dieses Raumes A ist leicht zu berechnen aus $r^2\pi \cdot h$; er beträgt bei unserem Apparat 9,043 Liter.

Um nun in den Raum A (oder in einen größeren, ähnlich konstruierten von ca. 50 Liter Inhalt) eine bestimmte Menge CO oder Leuchtgas literweise einzubringen, wurde folgender Apparat konstruiert (s. Fig. 2).

Zwei Glaskolben von der Form, wie A und B in Figur 2 sie zeigen, und die der Sicherheit halber in vorn offene kleine Holzkästchen eingebaut sind, sind miteinander durch einen an ihrem unteren Auslauf ansetzenden Gummischlauch verbunden. Auf der oberen Öffnung des Gefäßes A sitzt ein durchbohrter Gummipfropf, durch welchen das eine (umgebogene) Ende eines

T-Rohres geführt ist; das zweite Ende des T-Stückes ist an das Gasreservoir (die Gasleitung etc.) angeschlossen, das dritte Ende teilt sich in zwei Teile (a und b), von denen der eine (a) ein durch einen Quetschhahn verschließbares Stück Gummi-

Fig. 2.



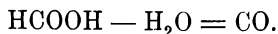
schlauch trägt, während an dem andern (b) der zum Füllraum führende Schlauch befestigt ist. In der Mitte des T-Stückes befindet sich ein Dreiweghahn.

B faßt nun vom Hahn H bis zur Marke M genau 1 Liter. A enthält genau 1 Liter zwischen dem Markstrich N und dem Beginn des (umgebogenen) T-Rohres, das, wie man sieht, scharf an dem unteren Ende des Gummistopfens abschneidet.

N steht in genau gleichem Niveau wie M, was dadurch erreicht ist, daß das A tragende Holzkästchen auf einen Bock von ganz bestimmter Höhe aufgesetzt ist. A ist samt dem Gummischlauch (bis zu dem zu schließendem Hahn H) mit Wasser gefüllt. Um nun — gewissermaßen automatisch — je 1 Liter Gas aus dem Reservoir bzw. der Gasleitung nach dem Füllraum (dem Versuchsraum etc.) überzuführen, verbindet man A mit der Leuchtgasleitung bzw. dem CO-Luftgemisch-Behälter (Gasometer) und dreht H auf. Das Wasser fließt nun von A nach B, das Gas strömt nach A nach. Steht das Wasser in B bis zur Marke M, so befindet sich in A 1 Liter Gas, allerdings unter einem gewissen Überdruck (bei Leuchtgasfüllung aus der Gasleitung = ca. 30–40 mm Wasser); um diesen Überdruck auszugleichen, schließt man den Hahn H und lüftet einen Augenblick den Quetschhahn bei a, nachdem man den Dreiweghahn entsprechend gestellt hat. Um nun das Gas von A in den Versuchsraum zu leiten, stellt man A von dem Bock herunter und setzt B darauf. Die Anordnung ist so getroffen, daß nun H genau in dem Niveau des unteren Endes des Stopfens von A (also dem Anfang der T-Rohrleitung) steht. Der Dreiweghahn ist so gestellt, daß A mit dem Füllraum verbunden ist. Man öffnet nun H: es wird dann genau 1 Liter Gas übergetrieben. Indem man abwechselnd A und B hochstellt, kann man so A abwechselnd füllen und entleeren, und zwar wird „automatisch“ jedesmal genau 1 Liter übergefüllt.

Die genaue Ausmessung von CO nach ccm wurde vorgenommen mit der bekannten Hempelschen Bürette, an deren oberem freiem Ende ebenfalls ein Dreiweghahn wie bei A in Fig. 2 angebracht war.

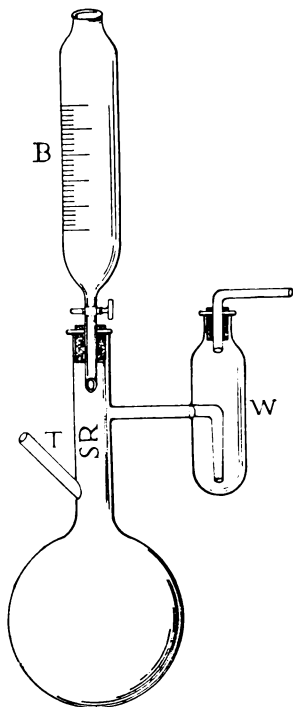
Um in den Behälter A (Fig. 1) eine bestimmte Menge CO hineinzubringen, habe ich noch ein anderes Verfahren benützt, das ähnlich auch für viele andere Gase anwendbar ist. Das CO wird dargestellt aus reiner (flüssiger) Ameisensäure, die aus einer kleinen, kurzen Bürette B (s. Fig. 3) in konzentrierte Schwefelsäure tropft. (Das Zutropfen kann durch einen Hahn aufs feinste geregelt werden.) Die SO_4H_2 entzieht der HCOOH Wasser:



Man kann aus der in abgemessener Menge zugeflossenen Ameisensäure ohne weiteres die gebildete CO-Menge berechnen, da der chemische Prozeß ein quantitativer ist¹⁾. Das CO wird durch ein kleines, direkt angeschmolzenes Waschgefäß W geleitet, das mit Kalilauge gefüllt ist. Aus diesem führt ein kurzes Glasrohr in den Versuchsraum. Um sämtliches CO in diesen überzuführen, wird der schädliche Raum SR dadurch beseitigt, daß von einem seitlichen Tubus T aus Schwefelsäure nachgefüllt wird.

Fig. 3.

Für viele Versuche war es wünschenswert, nicht in einem abgeschlossenen Raum ein bestimmtes CO-Luftgemisch herzustellen, sondern ein solches Gemisch durch kleine Apparate (feuchte Kammer, Gaszelle für mikroskopische Untersuchungen) durchzuleiten. Hierzu wurde das Gas bzw. Gasmisch in größere, 5 oder 10 Liter fassende Kolben mit Tubus und Ausflußhahn am Boden eingeleitet; diese Kolben waren vorher mit Wasser gefüllt und mit (tiefstehenden) „Druckflaschen“ verbunden. War die „Füllflasche“ gefüllt, so wurde sie niedrig, die Druckflasche aber hoch gestellt und so das Gas bzw. Gasmisch (durch einen oben an der Druckflasche angebrachten Dreiweghahn, ähnlich wie bei Fig. 2) ausgetrieben und mittels Kautschukschlauch durch den betreffenden kleinen Apparat geleitet.



Ich hatte mir vorgenommen, die Wirkung von CO-Luft- und Leuchtgas-Luftgemisch getrennt zu untersuchen. Es hat sich aber herausgestellt, daß die Wirkung des Leuchtgases, wenn nicht ganz, so doch zum weitaus überwiegenden Teil auf

¹⁾ *Abderhalden*, Biochemische Arbeitsmethoden Bd. I, S. 267.

seinem Gehalt an CO beruht: Versuche an Warmblütern wie an Kaltblütern wie an einzelligen Organismen fallen ganz gleich aus, ob man Leuchtgas oder ob man 10%iges CO-Luftgemisch benutzt. Die meisten Versuche wurden daher mit Leuchtgas bezw. Leuchtgas-Luftgemisch ausgeführt¹⁾.

Wirkung auf pflanzliche Einzelzellen.

1. Versuche an Bakterien.

Es wurden Versuche ausgeführt über Abtötung und Wachstumshemmung von *Staphylococcus pyogenes aureus* und *Bacillus pyocyaneus*, einerseits an Agarschräggkulturen, andererseits an Bouillonkulturen. Über die ersteren wurde CO bezw. Leuchtgas übergeleitet, durch die letzteren durchgeleitet.

Frische Agar-Schräggkulturen in weiten Reagensgläsern wurden mit dem Gas überleitet. Hierzu wurde ein gut schließender doppelt durchbohrter Kork in das betr. Reagensglas eingesetzt und durch diesen ein Glasrohr bis an den Boden geführt, während ein kürzeres Glasrohr oben nach außen führte. Wenn nötig, wurde sicher luftdichter Abschluß durch Durchtränkung des Korkes mit Paraffin erzielt. Der ganze Apparat wurde natürlich vorher sterilisiert.

Da sich nun herausstellte, daß niedrig-prozentige Gemische von CO bezw. Leuchtgas mit Luft gar keine Wirkung ausübten, so benutzte ich unverdünntes Leuchtgas. Das Zuleitungsrohr wurde durch Kautschukschlauch unmittelbar mit der Gasleitung verbunden und das aus dem Apparat ausströmende Gas durch einen zweiten Schlauch ins Freie geleitet, oder, was noch einfacher ist, es wurde das abgeleitete Gas angezündet, damit es nicht die Laboratoriumsluft vergifte. Der Erfolg der ersten in dieser Weise angestellten Versuche war, wiewohl ich einen solchen Ausgang schon in Erwägung gezogen hatte, in gewissem Sinne doch auffallend. Wenn man nämlich den Leuchtgasstrom

¹⁾ Das von mir benutzte Erlanger Leuchtgas hat folgende Zusammensetzung:

Kohlensäure	3,1 %
Schwere Kohlenwasserstoffe	3,9 %
Sauerstoff	0,8 %
Kohlenoxyd	13,8 %
Wasserstoff + Methan + Stickstoff	78,4 %.

einen ganzen oder auch nur einen halben Tag über die Kultur hinweggehen läßt, ist der Agar durch den „Luftzug“ vollständig eingetrocknet, ähnlich wie bei monatelangem Stehen. Man muß entweder nur kurzdauernde Versuche anstellen, oder man muß das Gas vorher durch Wasser leiten, um es mit Wasserdampf zu sättigen¹⁾. Zur Betreibung von Kohlensäure wurde das Gas über Natronkalk geleitet; mit Barytwasser gab es danach keine Trübung mehr.

Das feuchte CO₂-freie Leuchtgas wurde über eine gut entwickelte Pyocyaneus- bzw. Staphylokokkenkultur 1—3 Stunden übergeleitet; dann wurde von der betreffenden Kultur auf Agar und Nährbouillon abgeimpft (jedesmal in Doppelversuch, mit Kontrolle). Es zeigte sich nun, daß selbst bei dreistündigem Überleiten von unverdünntem Leuchtgas eine Abtötung der Bakterien nicht stattfand, denn die abgeimpften Kulturen wuchsen gleich stark wie die Kontrollkulturen.

Das Überleiten eines Gases über eine flächenhaft ausgebreitete Kultur ist etwas anderes als das Durchleiten durch eine Aufschwemmung lebender Bakterien in einer Flüssigkeit (z. B. in Nährbouillon). Beim Durchleiten wird das die Bakterien (oder andere Lebewesen) umgebende Medium mit dem betreffenden Gas gesättigt, die Wirkung ist daher stärker, als wenn das Gas nur über die Lebewesen hinwegstreicht. Ich habe deshalb auch die Durchleitung des Leuchtgases durch Bouillonkulturen von Staphylococcus und Pyocyaneus vorgenommen. Dies geschah in folgender Weise:

Kurze weite Kulturröhren wurden 2½ cm hoch mit Nährbouillon gefüllt und mit den oben beschriebenen, Zu- und Ableitungsrohr tragenden Korken verschlossen; das Ganze wurde sterilisiert; sodann wurde die Bouillon reichlich mit einer gleichmäßigen Bakterienaufschwemmung geimpft und danach Leuchtgas durchgeleitet. Die Dauer der Durchleitung war 3, 6, auch 12 Stunden. Es zeigte sich nun hier ebenfalls keine Abtötung; denn Abimpfung ergab selbst nach 12stündiger Durchleitung immer positives Resultat. Dagegen beobachtete man wohl Wachs-

¹⁾ Der Gasdruck ist in Erlangen, wie wohl auch anderswo, nur gering, = 3—4 cm Wasser und weniger; man muß daher beim Durchleiten die Wasserhöhe entsprechend niedrig nehmen.

tumshemmung; denn die durchleiteten Kulturen waren nur äußerst leicht getrübt, während die gleichzeitig angesetzt, in genau gleicher Weise geimpften Kontrollkulturen eine viel dichtere Trübung zeigten. Wurden die Leuchtgaskulturen nach 3, 6, 12stündiger Durchleitung sich selbst überlassen, bzw. in den Brutschrank gebracht, so zeigte sich auch bei ihnen nach 24 Stunden reichlich Trübung bzw. (bei *Pyocyaneus*) Grünfärbung. Es findet also durch Leuchtgas keine Abtötung, sondern nur eine (mäßige) Wachstumshemmung der beiden Bakterienarten statt.

2. Versuche mit Schimmelpilzen.

Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt: Es wurden Schwarzbrotsscheiben, mit Wasser getränkt, in Petrischalen gelegt und mit Schimmelpilzen geimpft. Die Brotstücke überzogen sich nach einigen Tagen mit einem dichten Hyphennetz, auf dem später reichlich Sporenbildung auftrat. Es wurden gleichmäßig geimpfte feuchte Brotscheiben einerseits in den Raum A des Gefäßes Z (Fig. 1), anderseits (zur Kontrolle) in eine große feuchte Kammer in der Nähe des Apparates gebracht (letzteres um gleiche Bedingungen zu schaffen).

In den Raum A (Fig. 1) wurden verschiedene Leuchtgas-Luftgemische gebracht, z. B. solche mit 10 %, 20 % etc. Gas. Gleichwohl erfolgte darin das Wachstum des Schimmels genau so gut wie bei den Kontrollen. Schließlich wurde der Raum völlig mit Gas gefüllt, indem durch längeres Durchleiten die Luft ganz daraus verdrängt wurde; und zwar wurde jeden Tag von neuem Leuchtgas durchgeleitet, sodaß die Schimmelpilze sich fast dauernd in einer reinen oder nahezu reinen Leuchtgasatmosphäre befanden. Trotzdem wuchs der Schimmel und fruktifizierte auch; ein sicherer Unterschied gegenüber den Kontrollen war nicht zu erkennen. Gegen Schimmelpilze erwies sich also das Leuchtgas nach unseren Versuchen als unwirksam.

3. Versuche an Sproßpilzen.

Zu den Versuchen mit Sproßpilzen wurde Aufschwemmung von Bäckerhefe in Wasser benutzt; als Kriterium der Schädigung sollte der Ausfall der Gärprobe mit 1 % Traubenzucker-

lösung dienen. Ein positives Resultat war bei diesen Versuchen kaum zu erwarten. Der *Saccharomyces* ist bekanntlich sehr resistent, und wenn auch nur wenige Hefezellen lebend bleiben, so genügen diese schon, um CO_2 -Bildung in Traubenzuckerlösung hervorzurufen. Tatsächlich zeigte sich nach kurzem Durchleiten (bis zu 3 Stunden) von reinem Leuchtgas keine Abtötung der Hefepilze; bei länger dauerndem, durch mehrere Tage fortgesetztem Durchleiten hatten wir ein unerwartetes Resultat: die Hefe stank fürchterlich! Die Bäckerhefe ist ja nicht bakterienfrei und kann bei Zimmerwärme leicht in Fäulnis übergehen. Die Versuche zeigen außerdem noch ein Anderes: daß nämlich CO bzw. Leuchtgas das Wachstum der — allerdings sehr resistenten¹⁾ — Fäulnisbakterien nicht zu hemmen vermag.

Wirkung auf tierische Einzelzellen.

Es wurden Versuche angestellt bei den Infusorien *Opalina ranarum* und *Paramecium aurelia* und an den Flimmerzellen des Froschrachens. Diese drei Objekte wurden aus folgenden Gründen gewählt: Sie sind sämtlich bequem und allenthalben zu erhalten, und sie stellen gleichzeitig drei verschiedene Stufen der Empfindlichkeit dar. Die Flimmerzellen vom Frosch sind außerordentlich widerstandsfähig; man kann sie noch nach 24 Stunden, selbst in fauliger Umgebung, flimmern sehen. Die *Opalina ranarum* ist umgekehrt sehr stark empfindlich; sie wird schon durch destilliertes Wasser einerseits, wie durch 1%ige Kochsalzlösung andererseits geschädigt. Das *Paramecium aurelia* steht in Bezug auf Empfindlichkeit in der Mitte.

Das Infusor *Opalina ranarum* wurde aus dem Frosch-Enddarm gewonnen; es sitzt der Schleimhaut des Darmes an und ist bei jedem Frosch anzutreffen. Zur Gewinnung wird der Enddarm aufgeschlitzt, der schwarzgrünliche Kot entfernt, die Schleimhaut mit 0,6%iger Kochsalzlösung übergossen und mit stumpfem Löffel oberflächlich abgeschabt. Man erhält so eine Aufschwemmung von zahllosen Opalinen, die man schon mit

¹⁾ Fäulnisbakterien erfordern zu ihrer Abtötung bzw. Wachstums-
hemmung sehr viel stärkere Konzentrationen von Sublimat, Phenol etc.,
als *Staphylococcus* und *Pyocyanus*.

bloßem Auge oder mit schwacher Lupe als weißliche Punkte erkennen kann.

Die Einwirkung des CO auf die Opalinen (wie auf die beiden anderen Objekte) wurde in zweierlei Weise studiert: entweder mittels Überleitung von Leuchtgas über einen hängenden Tropfen oder mittels Durchleitung durch eine Opalinen-Aufschwemmung. Die gebräuchlichen kleinen Gaskammern sind zu derartigen Versuchen wenig geeignet; sie stellen bekanntlich im allgemeinen kleine, flache Zylinder aus Glas oder Messing (in letzterem Fall mit Glasboden) mit Zu- und Ableitungsröhr dar. Auf den oberen Rand des kleinen Zylinders wird ein Deckglas, das den Tropfen trägt, aufgelegt bezw. mit Vaseline an dem abgeschliffenen Rand befestigt. Diese Befestigung ist aber meist ungenügend. Beim Durchleiten von Gas, selbst unter dem geringen Druck des Leuchtgases, wird das Deckglas sehr leicht abgehoben und das Gas strömt in die Umgebung. Leitet man das Gas über den hängenden Tropfen, so verschwindet dieser bald durch Eintrocknung (vgl. oben bei Agar); das Gas muß daher vorher mit Wasserdampf gesättigt werden. Ich habe größere Gaskammern benutzt, bei denen die angegebenen Mißstände vermieden waren, wobei das durchgeleitete Gas in der Gaskammer selbst mit Feuchtigkeit gesättigt wurde. Es waren niedrige zylindrische Glasgefäße von ca. $2\frac{1}{2}$ cm Höhe und 5 cm Durchmesser; in die Öffnung wurde ein gutschließender runder, möglichst porenfreier Kork von ca. $\frac{1}{2}$ cm Dicke eingesetzt. Der Kork war in der Mitte durchbohrt und die Durchbohrung durch ein großes rundes Deckglas verschlossen. Zu beiden Seiten von der zentralen Öffnung wurde ein zuleitendes, bis auf den Boden führendes Glasrohr und ein kurzes ableitendes in den Kork eingesetzt. Der Boden wurde ca. 1 cm hoch mit Wasser bedeckt. Das Gas perlte durch das Wasser, gelangte also mit Wasserdampf gesättigt an den an dem Deckglas hängenden Tropfen mit den Opalinen etc.. Mit einem kleinen, sehr praktischen Präpariermikroskop von Leitz konnte das Verhalten der Opalinen beobachtet werden.

Der Versuch mit dem hängenden Tropfen entspricht gewissermaßen dem Überleiten über Agarkulturen (s. oben S. 107). Da dort das Durchleiten durch flüssige Bakterienkulturen bezw. -aufschwemmungen als wirksamer befunden wurde, so

habe ich auch hier neben den Überleitungsversuchen auch Durchleitungsversuche gemacht. Zu diesen konnte der gleiche Apparat benutzt werden, wenn man statt des Wassers am Boden eine Aufschwemmung von Infusorien in physiologischer Kochsalzlösung einbrachte. Man leitete dann 1, 2, 10 Minuten durch und entnahm mittels einer dünnen Pipette aus dem kurzen abführenden Rohr Proben der behandelten Infusorien.

Außerdem wurde noch ein anderer kleiner Apparat zu Durchleitungsversuchen benutzt, der gewissermaßen „offen“ war, und bei dem die Durchleitung unter dem Abzug vorgenommen wurde. Es war durch Aufkitten eines Glasringes auf einen großen Objektträger ein kleines Aquarium hergestellt. Der Objektträger war in ein kleines Brettchen eingelassen; auf diesem wurde ein kurzer Messingträger befestigt, der ein $\succ$ -Rohr trug, dessen längerer freier Schenkel sich in ein nach unten abgelenktes dünnes Rohr fortsetzte, welches am Boden des kleinen Aquariums mündete. In letzteres wurde die Infusorienaufschwemmung gebracht; das eine Ende des $\succ$ -Rohres wurde mit dem Leuchtgas, das andere mit der Zimmer- oder Außenluft bzw. mit einem Sauerstoff- oder einem Wasserstoffbehälter verbunden. Die Leuchtgasgemische wurden, wie oben geschildert, hergestellt und gelangten mit 10, 20 etc. % Leuchtgasgehalt zur Verwendung. Ihre Wirkung zeigte sich aber als recht gering; deshalb verwendete ich schließlich, wie bei den Bakterien, reines Leuchtgas. Die Luftdurchleitung sollte dazu dienen, um nach eventuellem Aufhören der Flimmerbewegung etc. zu entscheiden, ob Abtötung oder nur vorübergehende Lähmung vorlag.

Da die wichtigeren Versuche, wie oben angedeutet, die Durchleitungsversuche sind, will ich mich auf deren Schilderung beschränken.

1. Einwirkung des CO auf *Opalina ranarum*.

Während bei Überleitung von Leuchtgas erst nach 5 bis 10 Minuten eine Wirkung einwandfrei festzustellen war, zeigte sich bei Durchleitung bereits nach $1\frac{1}{2}$ Minuten ein deutlicher Erfolg. Die Fortbewegung der Opalinen geschieht hauptsächlich durch eine spiralförmige Bewegung des ganzen Tieres um seine Längsachse; diese Lokomotion erwies sich nun schon

nach 1—2 Minuten als deutlich eingeschränkt. Dagegen war eine Einwirkung auf die Flimmerbewegung — die *Opalina ranarum* trägt rhythmisch schlagende, parallel verlaufende Reihen von Flimmerhaaren — noch nicht deutlich zu erkennen.

Nach 2—3 Minuten erfolgte fast völlige Sistierung der Lokomotion; hierbei zeigte sich ein individueller Unterschied (innerhalb geringer Grenzen) in der Resistenz der einzelnen Opalinen gegenüber dem CO, da bereits nach 2 Minuten eine Anzahl Exemplare die Lokomotion einstellte, andere erst während oder am Schlusse der dritten Minute.

Nach 6 Minuten langem Durchleiten hörte auch die Flimmerung schließlich auf; die Opalinen lagen nun ganz regungslos im Gesichtsfeld, waren völlig gelähmt.

Auf nachträgliche Luftdurchleitung setzte in umgekehrter Reihenfolge zuerst die Flimmerbewegung wieder ein, hierauf, nach längerer Luftdurchleitung, die Lokomotion; letztere begann ganz allmählich und wurde zusehends lebhafter.

War 15 Minuten und länger Leuchtgas durch die Opalinen-Aufschwemmung geleitet worden, so erfolgte auf nachträgliche Luftdurchleitung meist keine Erholung mehr: die Opalinen waren abgetötet.

2. Versuche mit Paramaecien.

Die Paramaecien wurden auf folgende Weise gewonnen: Heu wurde mit Wasser übergossen und bei Zimmertemperatur stehen gelassen; es entwickelten sich dann aus den dem Heu anliegenden Dauersporen die verschiedenartigsten Organismen. In den Brutschrank darf man den Heuaufguß nicht bringen, weil da zu starke Bakterienentwicklung mit starker Säuerung eintritt; in saurer Lösung entwickeln sich aber keine Infusorien. Die Öffnungen der Gefäße müssen bedeckt sein, weil sonst Schimmelpilzsporen hineinfallen; ein dichter Schimmelüberzug hindert die Entwicklung von Infusorien oder tötet letztere ab. Nach 2—3 Tagen finden sich in den Aufgüssen Colpidien, etwas später zeigen sich (allerdings nicht immer!) Paramaecien. Die Versuche wurden erst an Colpidien, die sich übrigens den Paramaecien ganz ähnlich verhalten, gemacht, später an Paramaecien, die sich in einer Kultur gut entwickelt hatten, von der wir dann weiter abimpften. Die Infusorien finden sich immer nahe der Ober-

fläche (angeblich „negativ geotropisches“ Verhalten, wahrscheinlich wohl eher infolge des Sauerstoffbedürfnisses). Es wird empfohlen, die Heuaufgüsse in hohe Zylinder zu bringen. Ich habe den koliierten Heuaufguß in einfache Reagensröhrchen gebracht; die Infusorien sammeln sich im oberen Teil der Flüssigkeit, wo man sie leicht abpipettieren kann. Man hat dann stets dichte Kulturen mit Tausenden von Exemplaren versuchsbereit. Die abpipettierte Flüssigkeit wurde in die oben erwähnten kleinen Apparate gebracht und Gas durch- bzw. übergeleitet.

Bei Durchleitung von Leuchtgas konnte man nach 2 bis 3 Minuten kaum eine erkennbare Bewegungsbeeinträchtigung konstatieren; erst nach 5 Minuten zeigten die meisten Exemplare wahrnehmbar langsamere Bewegungen; bei einer nach 5 Minuten entnommenen Probe, die in freier Luft auf einen Objektträger gebracht wurde, wo also keine weitere Durchleitung von CO vorgenommen wurde, trat nach $\frac{1}{2}$ bis 1 Minute von selbst wieder völlige Erholung ein. Nach 10 Minuten währendem Durchleiten von Gas konnte eine deutlichere Bewegungseinschränkung wahrgenommen werden. Auf Luftdurchleitung trat aber sehr bald, nach 1—2 Minuten, wieder Erholung ein. Erst nach 15—20 Minuten langer Durchleitung von Gas war die Einwirkung so stark, daß die Erholung langsamer vor sich ging, die dann auch nach 10 Minuten langem Durchblasen von Luft keine vollständige war.

Die tödliche Dosis war erst nach über halbstündigem Durchleiten erreicht.

3. Versuche an Flimmerzellen.

Bei den Versuchen an Flimmerzellen wurde folgendermaßen verfahren: Mittels einer scharfen kleinen krummen Schere wurde von der Rachenwand eines frisch getöteten Frosches eine größere Anzahl Schleimhautstückchen oberflächlich abgetrennt. Bei richtiger Lagerung auf dem Objektträger bzw. im Wasser sieht man die Flimmerbedeckung der Schleimhautpartikelchen lebhaft flimmern; es wurde stets eine Anzahl solcher kleiner Schleimhautstücke in einem Schälchen vereinigt und gleichzeitig beobachtet. Selbstverständlich wurde eine weitere Anzahl in ein Kontrollschälchen gebracht, um das Verhalten dieser Stückchen

mit dem Verhalten der dem CO ausgesetzten vergleichen zu können.

Bei den Flimmerzellen zeigte sich erst nach $\frac{1}{2}$ stündigem Durchleiten von Leuchtgas eine wahrnehmbare Abschwächung der Flimmerung, die jedoch nach Durchleiten von Luft bereits nach $\frac{1}{2}$ —1 Minute wieder verschwand; es trat also rasche Erholung ein.

Nach 45 Minuten langer Gasdurchlichtung war die Flimmerbewegung stark gehemmt, jedoch nicht völlig aufgehoben; auf Luftdurchleitung trat nach einigen Minuten Erholung ein.

Nach 70 Minuten Gasdurchleitung waren die Flimmerzellen so schwer geschädigt, daß sie keine Spur von Flimmerung mehr zeigten; sie erholten sich auch nicht mehr auf Luftdurchleitung: sie waren also getötet.

Der Zweck der bisher geschilderten Versuche war, zu entscheiden, ob das CO bzw. Leuchtgas auf elementare Organismen eine schädigende Wirkung ausübe, mit anderen Worten, ob es ein „Protoplasmagift“ sei. Als solche bezeichnet man Pharmaka, die, mit lebenden Zellen irgendwelcher Art in Berührung gebracht, diese abtöten, ohne hierbei grob-sinnliche physikalische oder chemische Veränderungen hervorzurufen. Sublimat z. B. in stärkerer Konzentration ist ein Ätzwirkstoff, indem es Eiweiß fällt; in starker Verdünnung (1 : 10 000 und weniger) ist es ein Protoplasmagift, indem es — ohne Eiweißfällung — alle lebenden Zellen, tierische oder pflanzliche, in kurzer Zeit abtötet. Das CO bzw. Leuchtgas ist kein Protoplasmagift (wie verdünntes Sublimat, Chinin, Hydroxylamin, Fluornatrium etc.). Es hat ja, wie wir gesehen haben, auf Bakterien keine abtötende, nur eine geringe hemmende, auf Schimmel- und Sproßpilze gar keine schädigende Wirkung. Wenn aber auch das CO kein allgemeines Protoplasmagift ist, so ist damit durchaus nicht gesagt, daß es, von seiner Blutgiftwirkung abgesehen, unwirksam sei; das Morphin z. B. wirkt auf einzellige Organismen ebenso wenig oder noch weniger als das CO: in einer 1%igen Morphinlösung behalten Paramaecien trotz dreistündiger Einwirkung ihre Bewegung weiter bei. Das Morphin wirkt eben als Alkaloid nicht auf jedes Protoplasma, sondern nur auf bestimmte, komplizierter gebaute Protoplasmaarten, näm-

lich auf die Substanz der Ganglienzellen der grauen Hirnrinde; je höher die Entwicklung des Zentralnervensystems in der Tierreihe, desto deutlicher und intensiver ist die Wirkung des Morphins. Das CO bzw. Leuchtgas hat in unseren Versuchen, im Gegensatz zum Morphin, bei tierischen Einzelorganismen eine zwar nicht sehr beträchtliche, aber doch unzweifelhafte Wirkung gezeigt. Nach 6 Minuten langer Einwirkung von Leuchtgas waren Opalinen, nach 15 Minuten Paramecien, nach 45 Minuten Flimmerzellen der Froschrachenwand gelähmt. Während bei Protoplasmagiften eine Erholung aus völliger Lähmung nicht mehr stattfindet, die Lähmung also Abtötung bedeutet, konnte ich bei den Infusorien bzw. Flimmerzellen durch Luftdurchleitung regelmäßig wieder Lokomotion bzw. Flimmerung hervorrufen, falls die Einwirkung nicht allzu lange gedauert hatte. Von Interesse ist es, daß das Leuchtgas bei niederen tierischen Organismen offenbar stärker wirkt als bei niederen pflanzlichen Organismen. Andererseits gilt das Leuchtgas, wie in der Einleitung bemerkt, als für das Wachstum von (höheren) Pflanzen schädlich. Ist der Grund etwa der, daß das CO nur für chlorophyllhaltige Pflanzen oder Pflanzenteile schädlich ist, ähnlich wie es für rotblütige Tiere vor allem Blutfarbstoffgift ist? Dies ist eine höchst interessante Frage. Um zu ihrer Lösung beizutragen, habe ich nachstehende Versuche angestellt.

Versuche an höheren Pflanzen bzw. Pflanzenteilen.

1. Versuche über Keimung von Pflanzen.

Ich habe Keimungsversuche angestellt an Bohnen, Mais und Senfkörnern. Solche Versuche sind ja im Grunde sehr einfach; doch muß man dabei eine Anzahl Kautelen beobachten. Die Samen werden zwischen zwei Lagen feuchten Fließpapiers oder zwischen angefeuchtete Sägespäne gebracht und in geeigneten Gefäßen bei etwas erhöhter Temperatur sich selbst überlassen; doch dürfen sie nicht etwa luftdicht abgeschlossen sein, weil sonst die Zellen der keimenden Samen „ersticken“; ebenso wenig dürfen sie mit Wasser bedeckt sein; die Keimung darf nicht im Brutschrank vorgenommen werden, weil sonst übermäßig wuchernde Bakterien durch die

von ihnen gebildeten Gifte die keimenden Samen abtöten. Ebenso muß Schimmelbildung durchaus ferngehalten werden. Sehr empfehlenswert ist ein kurzes Einlegen in schwache Sublimatlösung mit sofortiger Abspülung mit destilliertem Wasser; die Samen nehmen hiervon nicht den mindesten Schaden, und anhaftende Keime und Sporen werden abgetötet oder stark geschädigt. Vor allem muß man sich durch Vorversuche überzeugen, ob man gut keimungsfähige Samen hat. Meine ersten Versuche zeigten, daß die benutzten, äußerlich tadellosen Bohnen im Leuchtgas durchaus nicht keimten; aber sie keimten auch ohne Leuchtgas nicht, wiewohl sie als gut keimungsfähig bezeichnet worden waren! Erst aus einer andern Quelle bezogene Bohnen erwiesen sich als wirklich keimungsfähig, ebenso die benutzten Samen von Pferdezaunmais (*Zea Mais*) und von Senf (*Sinapis alba*). Zu jedem Einzelversuch wurden je 10 oder mehr Samen benutzt, ebenso viel auch zur Kontrolle.

Die Samen wurden zwischen angefeuchtetem Fließpapier in Glasschalen gebracht, die auf kurzen Füßen standen und am Boden von einer größeren Anzahl kleiner Löcher durchbohrt waren, so daß das Gas nicht nur von oben, sondern auch von unten eindringen konnte. Diese Gefäße wurden sodann in den Versuchsraum gebracht, dessen Boden mit Wasser bedeckt war, so daß eine feuchte Kammer geschaffen war. Es wurde teils Leuchtgas- bzw. CO-Luftgemisch, teils reines Leuchtgas bzw. CO in den Apparat gebracht; in letzterem Falle wurde die Füllung mit dem Gase alle 24 Stunden erneuert.

Nach meinen Versuchen erfolgt die Keimung in reiner Leuchtgas- bzw. CO-Atmosphäre bei Bohnen wie bei Mais wie bei Senfkörnern; am besten und raschesten keimten die Senfkörner, bei welchen ein Unterschied zwischen Keimung in CO und Keimung in Luft nicht zu bemerken war; auch bei den anderen beiden Arten war eine deutliche Behinderung der Keimung nicht nachzuweisen. Die Versuche sind vielfach wiederholt worden, sodaß das Resultat ganz sicher ist.

2. Versuche an gekeimten Pflanzen.

Es wurden weiterhin Versuche an jungen Pflanzen gemacht, die aus Samen künstlich gezogen waren, und bei denen bereits genügende Wurzel- und Blattentwicklung stattgefunden hatte.

Dabei wurde zugleich zu eruieren gesucht, ob das CO mehr für die (chlorophyllosen) Wurzeln oder für die (chlorophyllhaltigen) Blätter giftig sei.

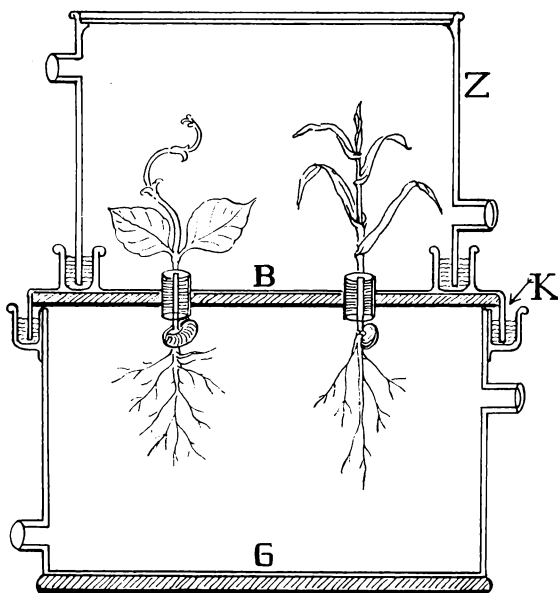
Die „Wurzelversuche“ wurden folgendermaßen angestellt: Glaszylinder von ca. 10–12 cm Höhe wurden mit gut schließenden, dreifach durchbohrten Korken versehen; in die zentrale Durchbohrung kam die Achse¹⁾ eines eben ausgekeimten Exemplares von *Phaseolus multiflorus* oder *Zea Mais*; die Wurzel samt dem Samenrest war also im Zylinder und tauchte hier in verdünnte Pflanzennährlösung. Durch die beiden seitlichen Öffnungen wurde ein zuführendes und ein abführendes Glasrohr eingeführt wie bei den Versuchen mit Bakterienaufschwemmung. Luftdichter Abschluß wurde dadurch erreicht, daß der Kork mit Paraffin getränkt wurde; um die Achse der Keimpflanze wurde weiches Paraffin gebracht, so daß beim Wachsen der Pflanze der sich verdickende Achsenteil keinen Druck erfuhr und anderseits doch luftdichter Abschluß gesichert war. Durch die Nährlösung im Glaszylinder wurde nun Leuchtgas geleitet; dabei diente die dritte Öffnung zur Ableitung des Gases nach außen oder in den Gasbrenner. Längeres Durchleiten von Leuchtgas führt natürlich zur Sättigung der Nährlösung mit CO; um die Sättigung aufrecht zu erhalten, habe ich die Durchleitung auf drei Tage ausgedehnt. Das Wachstum der Keimpflanzen wurde mit gleichzeitig angesetzten Kontrollpflanzen, die in gleichartige Zylinder mit gleicher Nährlösung gebracht waren, verglichen.

Trotz dreitägiger Einwirkung von CO auf die Wurzeln fand ein Absterben der Pflanzen nicht statt. Die Versuche wurden vielfach wiederholt; sie ergaben immer dasselbe Resultat. Es zeigte also das CO auf die (chlorophyllosen) Wurzeln keine schädigende, wenigstens sicher keine akut schädigende Wirkung. Daß bei beständiger, wochen- und monatelanger Einwirkung von CO auf die Wurzeln von Sträuchern und Bäumen schließlich eine schädigende Wirkung eintreten kann, soll damit nicht geleugnet werden; ich gebe nur das Resultat meiner Versuche unter genauer Schilderung der Versuchsbedingungen wieder.

¹⁾ D. h. der direkt über dem Samen befindliche, noch chlorophyllfreie Achsenteil.

In analoger Weise, wie eben geschildert, wurden junge Pflanzen von *Phaseolus* und *Zea Mais* in Glaszylinder mit Nährlösung eingesetzt, jetzt aber das Leuchtgas über die Blätter hinweggeleitet. Dies geschah einerseits in dem Versuchsraum A (Apparat Fig. 1), andererseits, für getrennte Untersuchung der Einwirkung auf Wurzeln und auf Blätter, in einem hierzu besonders konstruierten Apparat (s. Figur 4):

Fig. 4.



Ein Blechgefäß G von 28 cm Durchmesser und 20 cm Höhe trägt an seinem oberen Ende durch Anlötung eines Blechkranzes K von 4 cm Höhe eine ringförmige Rinne; in diese paßt der 3 cm hohe ringförmige Fuß einer Blechscheibe B, die ihrerseits oben zwei konzentrische Blechringe trägt. In die durch diese gebildete Rinne wird ein Blechzylinder Z gestellt, der eine Höhe von 20 cm und einen Durchmesser von 24 cm hat, und dessen obere Öffnung wie bei Apparat A (Fig. 1) durch eine eingekittete Glasscheibe luftdicht abgeschlossen ist. Der Blechzylinder trägt an zwei gegenüberliegenden Stellen in verschiedener Höhe einen mit durchbohrtem Kautschukpfropf versehenen

Stutzen zwecks Zu- und Ableitung von Gasen (wie bei Fig. 1). In derselben Weise sind auch am Blechgefäß G zwei Stutzen angebracht. Wir haben also damit einen unteren und einen oberen zylindrischen Raum, welche beide, wenn in die ringförmigen Rinnen Glyzerin gegossen war, gegen die Außenluft und gegeneinander luftdicht abgeschlossen waren. Es konnte also durch den oberen oder durch den unteren Behälter getrennt Gas durchgeleitet werden. Die Zwischenwand B zwischen beiden Zylindern war an fünf Stellen durchbohrt und die Durchbohrungen mit kurzen Stutzen versehen. In diese kamen Korkpfropfen mit zentraler Durchbohrung; in die letztere wurde das untere Achsenstück der jungen Pflanze eingeführt; dann erfolgte luftdichter Verschuß mit weichem Paraffin in analoger Weise, wie oben geschildert.

Stengel und Blätter der Keimpflanzen ragten also in den oberen Zylinder, die Wurzeln in den unteren Zylinder mit der Nährlösung; Wurzeln und Blätter waren luftdicht voneinander abgeschlossen. Zu jedem Versuch konnten fünf Keimpflanzen benutzt werden, die natürlich eine bestimmte Größe nicht überschreiten durften. Es eigneten sich sowohl Mais- wie Bohnenkeimpflanzen. Zunächst wurde nun Leuchtgas durch den unteren Zylinder mit den in Nährlösung eintauchenden Wurzeln durchgeleitet; hierbei zeigte sich keine schädliche Wirkung des CO. Dies bestätigt die oben angegebenen Resultate und beweist, wie wir gleich sehen werden, den luftdichten Abschluß zwischen dem oberen und dem unteren Zylinder. Dann wurde durch den oberen Zylinder Leuchtgas durchgeleitet, das also jetzt die Blätter der Keimpflanzen traf. Hierbei zeigte sich nun, daß die Keimpflanzen von Phaseolus nach 24, spätestens 48 Stunden eingingen; die Stengel wurden schlaff, die Blätter welk; an letzteren zeigte sich vielfach, namentlich an den Spitzen, bräunliche Verfärbung. Chlorophyllhaltige Pflanzen gehen also zugrunde, wenn CO auf die Blatteile, dagegen nicht (jedenfalls nicht bei 1—4tägigen Versuchen), wenn CO nur auf die Wurzeln einwirkt. Bei Versuchen mit Zea Mais zeigte sich keine so rasche Wirkung wie bei Phaseolus. Die Keimpflanzen zeigten nach 24 Stunden häufig noch keine sinnfällige Schädigung, erst nach 2—3 Tagen wurden sie welk und starben ab.

Was ist nun die Ursache dafür, daß CO viel giftiger ist, wenn

es auf die Blätter, als wenn es auf die Wurzeln einwirkt? Liegt etwa die Ursache darin, daß das CO eine spezifische Giftigkeit für das Chlorophyll bzw. eine spezifische Affinität zum Chlorophyllfarbstoff zeigt, analog wie zum Hämoglobin rotblütiger Tiere? Es scheint das eine äußerst interessante Frage, und ich habe deshalb Versuche über direkte Einwirkung des CO sowohl auf alkoholische Chlorophylllösung als auf das Chlorophyll in grünen Pflanzenteilen angestellt, und zwar habe ich spektroskopische und spektrophotographische Untersuchungen, nach der Methodik der Spektroskopie des Blutes, ausgeführt. Es soll hier nur gesagt sein, daß ich ein „positives“ Resultat nicht erhalten habe, d. h. daß nach meinen Untersuchungen durch Einwirkung von CO auf Chlorophyll nicht eine neue CO-Chlorophyll-Verbindung entsteht, analog der CO-Hb-Verbindung; sondern daß die farben- bzw. spektroskopischen Veränderungen des Blattgrüns bei CO-Einwirkung keine anderen sind als bei Einwirkung von Chloroform, Äther und anderen gasigen Giften.

Warum ist dann das Kohlenoxyd so viel giftiger für Blätter als für Wurzeln? Bei dem Versuch einer Beantwortung dieser Frage dürfte uns der Vergleich der Einwirkung auf Mais- und auf Bohnenkeimpflanzen einen Fingerzeig geben. Die Blätter von Phaseolus sind breit, haben ausgedehnte Flächen, die von Zea Mais sind schmal, ihre Gesamtfläche ist sehr viel kleiner. An den Blättern sind bekanntlich, besonders an der Unterseite, Spaltöffnungen, durch die der Gasaustausch stattfindet. An den Wurzeln sind keine ähnlichen Vorrichtungen vorhanden, da ja die Wurzeln hauptsächlich zum Aufsaugen von gelösten Stoffen dienen. Auf einer großen Blattfläche sind natürlich viel mehr Spaltöffnungen vorhanden als auf einer kleinen, und es dürfte sich vielleicht als einfache Erklärung für die stärkere Giftigkeit des CO von den Blättern aus ergeben, daß die Blätter eben viel mehr von dem giftigen Gase absorbieren als die Wurzeln.

Zum Schlusse möchte ich nicht verfehlen, meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Heinz, herzlichst zu danken für die gütige Überlassung der Arbeit sowie für die vielfach gegebenen Anregungen.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sitzungsberichte der Physikalisch-Medizinischen Sozietät zu Erlangen](#)

Jahr/Year: 1914

Band/Volume: [46](#)

Autor(en)/Author(s): Heider Rudolf

Artikel/Article: [Über die Einwirkung von Kohlenoxyd bzw. Leuchtgas auf Elementarorganismen und auf höhere Pflanzen. 100-120](#)