

Die Rolle der Chloroplasten bei der Eiweißbildung in den grünen Pflanzen.

Von

Hermann Ullrich.

Mit 5 Abbildungen im Text.

A. Einleitung.

Eine Reihe von Tatsachen weist darauf hin, daß gerade den Chloroplasten bei der Versorgung der grünen Pflanze mit Eiweißstoffen eine besonders wichtige Rolle zukommt. Der Stickstoff, der zumeist von der grünen Pflanze als Nitrat aufgenommen wird, muß dem Eiweißmolekül als Amino-Stickstoff einverleibt werden. Nun zeigte sich, daß gerade in den grünen Blättern und da besonders wieder im Mesophyll (Schimper 1885, 1890) die Nitrate am Lichte schnell verschwinden, also an den Stellen, denen auch die größte Zahl von Chloroplasten zukommt. Ferner sind diese der Sitz einer intensiven Reduktionswirkung, wie neuerdings Molisch (1918b) dartut. Auch bei analytischen Versuchen vieler Forscher (Godlewsky, Palladin, Sapoënicow, Schulze, Waniewsky, Zaleski usw.) in bezug auf den Stickstoffgehalt verschiedener Pflanzenteile zeigen sich die grünen Blätter auffallend eiweißreich. Inwieweit diesen Untersuchungen für das Thema Bedeutung zukommt, wird an späterer Stelle (vgl. S. 551f.) noch ausführlich zu erörtern sein. Stellte man Eiweißreaktionen an, so zeigte sich ebenfalls, daß sie in den Teilen, die Chloroplasten enthalten, am intensivsten ausfallen. (Sachs 1862, De Vries 1873, Chrapowitzky 1889.) Auch bei makrochemischen Eiweißreaktionen treten die chlorophyllführenden Teile durch kräftigere Färbung hervor (besonders panaschierte Blätter: Lakon 1914, Gertz 1917). Die A. Meyerschen Feststellungen (1918) einer Parallelität von Eiweiß- und Chlorophyllgehalt in

vergilbenden *Tropaeolum*-Blättern sprechen auch dafür, daß die Chloroplasten eng mit dem Eiweißstoffwechsel der Blätter verknüpft sein müssen. Schließlich ist noch der Protein-Kristalle zu gedenken, die häufig auch in den Chloroplasten auftreten und sogar von der Stickstoff-Ernährung der Pflanze abzuhängen scheinen (Schimper 1883 usw., A. Meyer 1883 und besonders Stock 1892). Neuerdings hat Chodat (1922) die Chloroplasten als Sitz einer Reihe von Fermenten angesprochen und sieht in ihnen den Ort der verschiedensten Reaktionen. Schließlich schreibt auf Grund zytologischer Untersuchungen Mottier (1921) den Plastiden die Bildung von Eiweiß und anderen Stoffen zu.

Alle diese Argumente geben nur einen Hinweis auf die Rolle der Chloroplasten für die Eiweißsynthese. Eine einzige Arbeit beschäftigt sich bisher direkt mit dieser Fragestellung, die von Chrapowitzky (1889). Sie ist, da sie in russischer Sprache erschienen, zumeist nur durch die Referate von Rotherth und Bernh. Meyer, und deshalb nur unvollständig bekannt. Auch fußen die Ergebnisse dieser Arbeit, die mir in extenso zugänglich war, auf einer geringen Zahl von Versuchen. Im Verfolg der lebhaften Bemühungen, die neuerdings gemacht werden, mehr als das wenige bisher Bekannte über den Eiweißstoffwechsel der Pflanzen zu erfahren, erscheint es unerläßlich, vor allem auch das einschlägige Verhalten der Chloroplasten erneut zu prüfen. Hierfür kommen nur qualitative Methoden in Frage, die allein über die Lokalisation der Eiweißbildung die erwünschte präzise Auskunft erhoffen lassen.

B. Experimenteller Teil.

I. Die Versuchspflanzen.

1. Methodisches: Die Kultur der Versuchspflanzen.

Will man die Eiweißbildung verfolgen, so empfiehlt es sich, ganz analog zu verfahren wie bei Beobachtung der Stärkebildung. Sachs verdunkelte einfach die Pflanzen, so daß sie Stärke und Zucker verbrauchten. Dann konnte mit Hilfe der Jodmethode Neubildung von Stärke leicht nachgewiesen werden.

Ähnlich wollte Chrapowitzky bei seinen Untersuchungen über Eiweiß verfahren. Auch das Eiweiß wird ja veratmet, allerdings erst, nachdem die Kohlehydrate aufgebraucht sind. Deshalb stellte Chrapowitzky Keimlinge von Phaseolus und Lupinus ins Dunkle, um sie durch Veratmen eiweißarm zu machen. Die Versuche waren erfolglos. Eine Erklärung hierfür suchte obiger Forscher in dem Eiweißreichtum der benutzten Leguminosen-Samen, »in denen nach dem Kohlehydratverbrauch große Mengen von Reserveeiweiß übrig blieben, die weiterhin nicht verbraucht wurden«. Anscheinend gingen also vor dem Verbrauch des Eiweißes die Pflanzen zugrunde, wohl, wie wir heute Grund haben anzunehmen, an Ammoniak-Vergiftung (vgl. Butkewitsch 1909, Prianschnikow 1922). Entsprechende Versuche von Chrapowitzky mit Elodea-Trieben ließen zwar nach etwa 14 Tagen keine Eiweißreaktionen mehr erkennen, jedoch waren die Pflanzen schwer geschädigt und gingen darauf auch am Lichte zugrunde, ohne aufs neue Eiweiß zu bilden.

Zu besseren Ergebnissen führten Chrapowitzkys Kulturen in Stickstoffhunger. Fehlt der Keimpflanze während des Wachstums die Stickstoffzufuhr, so kann sie nicht mehr Eiweiß bilden, als der beschränkte Vorrat an N gestattet. Da besonders in den Vegetationspunkten stets Eiweißstoffe verbraucht werden (vgl. die Verteilung der Eiweißstoffe, Sachs 1862), vielleicht auch dauernd die Pflanze sonstige Verluste daran erleidet, kommt es früher oder später zur Abnahme der Eiweißstoffe in den älteren Organen. — Als Nährlösung benutzte für diese Fälle der russische Autor eine Knopsche Lösung, in der er das KNO_3 durch KCl und das $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ durch CaSO_4 ersetzte. Sie besaß somit folgende Zusammensetzung:

H_2O 1000,0 g; KH_2PO_4 0,6 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,6 g; CaSO_4 , KCl 0,6 g, $2\text{H}_2\text{O}$ 2,0 g.

Den Lösungen wurden dann noch Spuren von Eisenphosphat zugesetzt. Obwohl Chrapowitzky darauf aufmerksam macht, daß vielleicht eine andere Kombination der Nährsalze besseres Wachstum zulassen würde, habe auch ich mich dieser bedient und zwar deshalb, weil der hohe Ca-Gehalt nach neueren Anschauungen über Ionenantagonismus gerade für diese unnatür-

liche Lösung als besonders günstig anzusehen ist. Nur habe ich nicht Eisenphosphat, sondern die leichter zu handhabende FeCl_3 -Lösung in Spuren (1 Tropfen 10 proz. Lösung auf 1 l) zugesetzt, was praktisch zu demselben Resultate führt. (Obige Lösung ist im folgenden als »Chrapowitzkys N-freie Lösung« (abgekürzt C.-Lösung) bezeichnet.)

In diese Lösung werden die in destilliertem Wasser eingekimten Samen erst gebracht, nachdem der Übergang in diese durch etwa 14tägiges Verweilen in einer aufs doppelte verdünnten Lösung gemildert war, wo sich auch reichlichere Bewurzelung entwickeln konnte. In derselben Weise wurde von mir auch mit Pflanzen verfahren, die dem Boden entnommen waren. Sie überstanden dann diesen Wechsel gut bis auf wenige Exemplare mit ärmlichem oder verletztem Wurzelsystem. Übrigens konnte auch an einigen Pflänzchen von *Lactuca sativa*, die jung in destilliertes Wasser gestellt waren und darin 1—10 Wochen wuchsen, ganz die gleichen Erscheinungen wie in der N-freien C.-Lösung beobachtet werden, so daß auch Blätter solcher Pflanzen zu Versuchen über die Eiweißbildung Verwendung fanden. Die Kulturflüssigkeiten wurden mindestens alle 2—3 Wochen gewechselt. Dies und die Verwendung von im Vergleich zu den Chrapowitzkyschen (etwa 80—100 ccm) großen (800—1200 ccm) Flüssigkeitsmengen schlossen Wurzelschädigungen durch Reaktionsänderungen der Nährlösung aus.

1907 hat Osterhout an Weizen festgestellt (S. 268), daß eine Lösung, die NaCl , MgCl , MgCl_2 und CaCl_2 enthält, sehr gute Wurzelbildung gestattet, also nicht giftig ist. 1909 findet er, daß die Wirkungen von K^+ und Na^+ in solchen Lösungen in bezug auf Gift- und Schutzwirkung der Ionen (S. 104 unten) gleich sind. Man muß also annehmen, daß Chrapowitzkys N-freie Lösung, die $\text{K}^+ + \text{Mg}^{++} + \text{Ca}^{++}$ enthält, sehr gut ausbalanciert ist. Das lehrt auch die vorzügliche Wurzelbildung der darin gezogenen Pflanzen.

Giftwirkungen der benutzten Lösung sind also ausgeschlossen und die beobachteten Veränderungen müssen tatsächlich dem N-Mangel zugeschrieben werden. — Ferner wurde aller paar Tage Luft durch die Kulturflüssigkeit geblasen. In jedes Kulturgefäß kamen zumeist 2, 4 oder 8 Exemplare der gleichen Spezies, je nach der Größe, seltener nur eines (besonders *Phaseolus*). — Vergleichspflanzen wurden in Boden und in normaler Knopscher Lösung gezogen.

Chrapowitzky benutzte als Versuchsobjekte *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum*, *Vicia Faba*; *Lupinus luteus* und *mutabilis*, *Helianthus annuus*, *Ricinus communis*, *Cannabis gigantea*, *Zea Mays* und *Pinus Cembra*. Ich habe ebenso Glieder verschiedener Familien in den Bereich der Untersuchung gezogen, und zwar: *Lactuca sativa*, *Curcubita Pepo*, *Phaseolus multiflorus* und *vulgaris*, *Tropaeolum majus*, *Zea Mays*, *Brassica Napus* (»Stoppelrübe«), sowie die weniger geeigneten Objekte *Pisum sativum*, *Stellaria media*, *Beta vulgaris* (Rote und Zucker-Rübe), *Fagopyrum esculentum*, *Acer Negundo fol. variegata* (herbstliche Blätter), *Paphiopedilum villosum* und eine *Salvinia*.

2. Das Verhalten der Pflanzen in Stickstoffhunger-Kultur.

Da ich bisher nirgends in der deutschen Literatur eine Beschreibung des Verlaufes der äußerlich sichtbaren Veränderungen, die längere N-Hunger-Kultur bewirkt, gefunden habe¹, will ich kurz die Erfahrungen an meinen Objekten schildern.

Die Pflanzen bleiben gegen normal gezogene Vergleichspflanzen langsam im Wachstum zurück. Sie lassen — je nach der Art vom 4. bis zum 14. Tage etwa — das unterste Blatt oder Blattpaar zunächst nur an der Spitze, dann allmählich ganz vergilben. Schließlich fallen diese Blätter ab. Derselbe Prozeß schreitet von Blatt zu Blatt nach der Spitze der Pflanze hin fort. Nur *Tropaeolum* machte häufig eine Ausnahme, insofern bei ihm außer den unteren auch die oberen Blätter welkten und nur eines oder mehrere mittlere grün blieben. Im letzteren Falle starb dann bald der Hauptsproß-Vegetationspunkt ab und nur die Achselknospen fast aller Blätter blieben noch lebensfähig. Sie trieben bald aus und lieferten immer kleinere Blätter. Welkten auch diese, so konnten besonders bei großen, ausgetopften *Tropaeolum*-Pflanzen deren Achselknospen nochmals austreiben und so fort, etwa 4- bis 5mal nacheinander. Die zuletzt nach etwa 4—5 Monaten gebildeten Blätter besaßen nur noch 6—8 mm Durchmesser und waren vielleicht dicker als normale Blätter oder zumindest dicker als diese im Verhältnis zu ihrer Größe. Diese Größenabnahme der jüngeren Blätter war auch bei den anderen Pflanzen zu beobachten. Nur blieb bei *Zea*, *Beta*, *Lactuca* und *Brassica* der Haupt-Vegetationspunkt am längsten grün und erhalten. *Phaseolus* schien eine mittlere Stellung einzunehmen, verhielt sich öfter aber wie *Tropaeolum*. Die Schnelligkeit, mit der diese Erscheinungen erfolgen, hängt ganz von der Entwicklungsgeschwindigkeit der Pflanze ab. Die starken Störungen sind nach etwa 1—2 Monaten erkennbar. Die Temperatur spielt natürlich eine große Rolle, so daß im Sommer infolge lebhafteren Wachstums die Eiweißstoffe schneller verbraucht werden, der N-Mangel daher viel rascher bemerkbar wird als im Frühjahr oder im Herbst. Dies fand auch Chrapowitzky.

¹) Mit Ausnahme kurzer diesbezüglicher Bemerkungen bei Frank (1888).

II. Eiweißreaktionen an N-Hungerpflanzen.

1. Die Brauchbarkeit der Eiweißreaktionen.

Schon Chrapowitzky bemerkt, daß die Untersuchung von Schnitten durch Blätter nach deren Entfärbung mit Alkohol sehr schwierig ist: Ihre oft verschiedene Dicke kann Fehler bei Beurteilung der Stärke der Eiweißreaktionen bedingen. Deshalb benutzte er Makroreaktionen an ganzen Blattstücken. Wenn er hierzu bemerkt, »daß in dieser Versuchsreihe wie in der vorhergehenden sich die Eiweißfärbung hauptsächlich in den Chlorophyllkörnern zeigte«, so muß man daraus schließen, daß er, ohne dies ausdrücklich zu erwähnen, die Makroreaktionen durch Beobachtungen unter dem Mikroskop kontrollierte.

Diese Beobachtung ist auch in vielen anderen Arbeiten später immer wieder bestätigt worden (vgl. besonders: A. Meyer, Analyse der Zelle, 1920), daß nämlich fast ausschließlich die Chloroplasten die Eiweißreaktionen zeigen. Ich habe u. a. diesen selben Weg der direkten Feststellung von Eiweißansammlung in den Chlorophyllkörnern beschritten. Wenn man auch annimmt, eine Zunahme von Eiweiß fände außerdem im Protoplasma statt, so kann diese im Vergleich zu derjenigen der Chloroplasten bei dem Zustandekommen des makroskopischen Bildes der Reaktion keine merkliche Rolle spielen, denn die Plasmamasse selbst bleibt stets, auch bei reichlich N-ernährten Zellen, mikroskopisch beobachtet, ungefärbt.

Die zur Verfügung stehenden Reaktionen wurden zunächst auf die Brauchbarkeit für meine Zwecke geprüft, was nicht immer Übereinstimmung mit Chrapowitzky ergab.

Die Raspailsche Reaktion (konz. Rohrzuckerlösung, dann 75 % H_2SO_4 , abgekürzt: R) wurde außer der unten besprochenen Xanthoprotein-Reaktion als die bei weitem empfindlichste gefunden. Sie tritt bei an der Spitze bereits vergilbenden Blättern häufig gar nicht mehr ein, ist aber am nächst jüngeren Blatt noch deutlich. Dagegen werden mit normalen Blättern ganz tiefrote Reaktionen erhalten. Mikroskopisch ist die Reaktion schlecht brauchbar, da in der starken Schwefelsäure die Zellwände, Chloroplasten und Kerne sehr bald verquellen. Immerhin fällt auf, daß ausschließlich die Chloroplasten gefärbt

erscheinen. Sind sie eiweißreich, so verquellen sie stark und ziemlich schnell, wie z. B. in Stücken normaler Blätter. Die eiweißarmen Chloroplasten der Hungerblätter bleiben viel länger in ihrer Struktur erhalten und werden meist nur spurenweise gefärbt.

Die Millonsche Reaktion (abgekürzt: M) ist nicht so empfindlich. Sie zeigt manchmal noch keine Unterschiede im Eiweißgehalt, während mit der Raspails sich solche feststellen lassen. Die Strukturen bleiben gut erhalten. Trotzdem besagen die mit stärkeren Vergrößerungen gewonnenen mikroskopischen Bilder nichts, da die Deckkraft des gebildeten Farbkörpers zu gering ist.

Die Xanthoprotein-Reaktion (abgekürzt: X) kommt für die Zwecke meiner Untersuchungen weniger in Betracht, da sie, um hier Chrapowitzky sprechen zu lassen: »zu empfindlich ist. Sie gibt auch dann noch Färbungen, wenn andere beinahe keine Färbung geben. Die Eiweißstoffe verschwinden aber fast nie gänzlich«. Daß mit ihrer Hilfe A. Meyer (1918) sogar eine Parallelität zwischen Eiweißgehalt und Vergilben der Laubblätter bei *Tropaeolum* feststellen konnte, mag einesteils an der Gunst des Objektes, andernteils aber darin liegen, daß die Unterschiede im Eiweißgehalt bei Meyers Versuchen größer waren als nach der kurzen Dauer einer auf den Hungerzustand folgenden neuen N-Assimilation, zu der den Objekten Gelegenheit geboten wurde. Anfangs ist sicher auch der Eiweißgehalt der Meyerschen Pflanzen größer gewesen, so daß eine viel kräftigere Deckung bei der X-Reaktion eingetreten sein mag, die von ihm noch durch Ammoniak verstärkt wurde. Bei den Spuren von Eiweiß der N-Hungerblätter kommt es anscheinend darauf an, daß die benutzte Reaktion einen kräftigen, satten Farbton hervorruft, in dessen Bereiche unser menschliches Auge besonders empfindlich ist. — Bei mikroskopischer Beobachtung macht sich mit X nur eine schwache Färbung bemerkbar, da die Intensität der Färbung gering ist (vgl. oben). Doch konnte ich mit ihrer Hilfe an normal grünen Blättern von *Lactuca sativa* die »Ante A. Meyers deutlich gelb gefärbt erkennen. (Leitz ¹/₁₂ Öl, Ok. 3.) Leider störte bei vielen meiner Objekte, so auch hier, die schon mit

Alkalien allein auftretende Gelbfärbung der mit Alkohol entfarbten Blätter, so daß die Verstärkung der Reaktionsfarbe durch Ammoniak-Behandlung unmöglich wird.

Die Biuret-Reaktion kommt kaum in Betracht, da sie »langwierig, wenig empfindlich ist und die Eiweißstoffe löst« (Chrapowitzky). Auch ist der Farbton für Unterscheidung feiner Abstufungen ungeeignet.

Die Hartig-Zachariassche Berlinerblau-Reaktion ist nur mikroskopisch, dann allerdings sehr gut brauchbar. Sie beruht darauf, daß Eiweiß auch nach Auswaschen mit 60proz. Alkohol gelbes Blutlaugensalz festhält, das dann mit FeCl_3 -Lösung Berliner Blau ergibt¹. Sie gestattet aber nicht die mikroskopische Anwendung, wenigstens, wo es auf Nuancen ankommt, leistet dagegen bei der Untersuchung der Lokalisationsfrage des Eiweißes Brauchbares.

Für die mikroskopische Beobachtung eignen sich weiter vorzüglich, vielleicht am besten von allen, die Reichlschen Aldehyd-Reaktionen¹. Wenn man erst mit Zimtaldehyd und dann mit verdünnter H_2SO_4 behandelt, tritt eine tieforangerote Färbung auf, die in unseren Fällen auch makroskopisch sehr deutliche Unterschiede liefert. Die Objekte verquellen verhältnismäßig langsam, wohl deshalb, weil sie zuvor mit der 1proz. Aldehydlösung in absolutem Alkohol 24—48 Stunden gehärtet werden; ferner kommt etwas verdünntere Säure (1:1) zur Anwendung, als zur R., wo die 75proz. H_2SO_4 schneller zerstörend wirkt. Die Zellmembranen nehmen in der gelblichen Lösung dieses Aldehyds auch deren schwach gelblichen Ton an. Er unterscheidet sich aber von dem nach Zusatz der Schwefelsäure an Eiweißkörpern auftretenden Orangeton sehr scharf. (Bezüglich der Spezifität der Reaktion vgl. Molisch, Mikrochemie S. 312.)

Die Guezdasche Reaktion (gesättigte ammoniakalische NiSO_4 -Lösung, vgl. Strasb.-Koernicke, 6. Aufl. 1921,

¹) Vgl. Molisch, Mikrochemie. Soweit möglich, habe ich mich an deren Ausführungen gehalten. Ich möchte hier aber noch anfügen, daß als erster Forscher Chrapowitzky die Anwendung der Eiweißreaktionen an Blattstücken und Blättern, also makroskopisch demonstriert hat, nicht Molisch, wie in der Literatur fast stets angenommen wird.

S. 139), die eine gelbliche Färbung der Eiweißkörper bedingt, eignete sich wegen ihrer geringen Deckkraft schlecht für die Untersuchung.

Schließlich ist noch zu erwähnen, daß bereits die Jodbräunung sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch zuläßt, verschiedenen Eiweißgehalt nachzuweisen. (Vgl. u. a. Hansteen 1896.) Sie kommt natürlich nur neben den anderen Reaktionen in Frage. Angewandt wurde sie stets, der Kontrolle des Stärkegehaltes wegen. Wo sie Unterschiede erkennen ließ, habe ich dies in den Protokollen vermerkt.

Im Laufe der Untersuchungen gelangten hauptsächlich die Raspailsche und Millonsche, etwas weniger die Xanthoprotein- und seltener die Aldehyd-Reaktion infolge ihrer Langwierigkeit und verhältnismäßig geringen Spezifität zur Verwendung. Die anderen Reaktionen wurden nur ganz vereinzelt benutzt.

2. Die Verteilung der Eiweißstoffe in den verschiedenen Blättern der N-Hungerpflanzen auf Grund von Eiweißreaktionen.

Untersucht man nun die Eiweißreaktionen an N-Hungerpflanzen, die zumindest den Anfang des Stickstoffmangels schon äußerlich erkennen lassen, so zeigt sich folgendes: Die untersten, gerade an der Spitze vergilbenden Blätter zeigen nur ganz schwache Eiweißreaktionen. An etwa schon abgefallenen lassen sich solche überhaupt nicht mehr erzielen. Akropetal nimmt der Eiweißgehalt der Blätter immer mehr zu, um in den jüngsten Blättern sich gewöhnlich nicht von dem unter normalen Bedingungen erwachsenen Blättern zu unterscheiden, soweit sich dies mit Hilfe der Makroeiweißproben beurteilen läßt. Auch sind die unteren Blätter der Hungerpflanzen mehr gelblich als die jüngeren oberen. Ich bin überzeugt, daß sich die hier von mir beobachtete Parallelität in Vergilben und Eiweißgehalt bei N-Hungerblättern nicht nur qualitativ, wie sich zeigte, sondern auch quantitativ würde nachweisen lassen. Man könnte dabei den von A. Meyer 1918 begangenen Weg einschlagen. Für eine Klärung der Lokalisierungsfrage ließen solche Versuche aber keine wichtigen Resultate erwarten und

unterblieben daher. — Auch an normalen Pflanzen fand Chrapowitzky, und ich kann dies bestätigen, am ältesten Blatte eine schwächere Eiweißreaktion als an den übrigen Blättern. Im Stickstoffhunger erfolgt in der Pflanze also anscheinend, nur in höherem Grade, das gleiche, was auch normalerweise geschieht: Den älteren Blättern werden Eiweißstoffe entzogen und in den jungen Organen verbraucht. Anders ist die immer weitergehende Neubildung von Blättern z. B. an *Tropaeolum*- oder *Phaseolus*-Pflanzen im N-Hunger gar nicht denkbar. Dies hatte schon Chrapowitzky richtig erkannt, wenn er schrieb: »Also nicht nur bei der Samenreife, sondern auch am Anfang wird das Eiweiß den alten Blättern für die Bildung junger Organe entzogen.« Hier sollte nur besprochen werden, was auf Grund der Farbreaktionen erkennbar war. Die Befunde quantitativer Untersuchungen anderer Forscher werden weiter unten noch zu erörtern sein.

III. Versuche über Eiweißneubildung, nachgewiesen mit Eiweißreaktionen.

1. Eiweißneubildung an ganzen Pflanzen.

Führt man N-Hungerpflanzen wieder Stickstoff zu, indem man sie in nitrathaltige Lösungen (Knop) bringt, so läßt sich bald, schon nach 2—3 Tagen, Eiweißbildung erkennen (Chrapowitzky). Zu diesem Zwecke habe ich wie Chrapowitzky Probestücke eines jeden Blattes der Hungerpflanze vor der Überführung in die N-haltige Nährlösung in 96proz. Alkohol eingelegt und sie dann zugleich mit ebenso entfärbten Blattstücken derselben Pflanze nach erfolgter N-Zufuhr den Reaktionen unterworfen. Ich habe in dieser Weise nur einen Versuch angestellt, bei dem ich erst am 6. bzw. 7. Tage dann allerdings sehr deutliche Eiweißzunahme konstatieren konnte. Es folgt das Protokoll:

Phaseolus multiflorus: 25. 4. 23. 3 Vergleichspflanzen seit 13. 3. in Hungerkultur. Nr. 1 in Erde, Nr. 4 in Knopsche Lösung gesetzt. Nr. 6 bleibt in C.-Lösung. Am 30. 5. zeigten Blätter der Pflanze in Knop mit M. und Z. deutlich stärkere Färbung als die Anfangsstücken. Die Millonsche und die Zimtaldehydreaktion blieben auf die Chloroplasten beschränkt. Am 1. 5. dasselbe an Nr. 1 in Erde. Am 2. 5. ist No. 6 vollständig vergilbt und abgestorben. Temperatur durchschnittlich 12 bis 14° C, sonniges Wetter.

Von *Phaseolus vulgaris* erwähnt Chrapowitzky einen Versuch, bei welchem auch erst am 6. Tage Eiweißbildung hervortrat, während solche bei einer anderen Pflanze der gleichen Art bereits nach 3 Tagen sich zeigte. Da bei derartigen Versuchen eine Wanderung der Eiweißstoffe aus Stengel und Wurzel der Hungerpflanze, wo sie nie ganz verschwinden, in die Blätter im Spiel sein kann, habe ich weiterhin nur mit abgeschnittenen Blättern operiert.

2. Eiweißneubildung an abgeschnittenen Blättern.

a) Methodik der N-Zufuhr.

Es kommen zwei Möglichkeiten in Betracht, den N-Hungerblättern wieder Stickstoff darzubieten. Die erste besteht darin, daß man die Blätter auf N-haltigen Lösungen schwimmen läßt. Man kann dabei auch Zucker verabreichen, da Kohlehydrate zur Eiweißbildung benötigt werden. Ich habe nur ganz wenige solche Versuche angestellt und will einen hier kurz anführen:

Phaseolus multiflorus: 25. 4. 23. Versuchsbeginn 12^h mittags. Blatthälften bzw. je ein Fiederblättchen des gleichen Blattes auf folgende Lösungen gelegt:

- | | |
|--|------------------------------------|
| a) B.-Lösung ¹ + 5% Traubenzucker | } beides am Lichte und im Dunkeln. |
| b) 1% KNO ₃ -Lösung | |

Die restlichen Teile der Blätter in 96proz. Alkohol.

26. 4. 23. Makrochemische Eiweißproben ohne Unterschiede.

27. 4. 23. Desgl.

28. 4. 23. a (am Lichte) ist mit Millons Reagens gerade erkennbar kräftiger gefärbt als das Anfangsstück und b am Lichte.

30. 4. 23. a und b (am Lichte) zeigen stärkere Xanthoprotein-Reaktion als das Anfangsblatt.

1. 5. 23. Schimmelbildung auf allen Blättern. Im Dunkeln ist keine Eiweißbildung nachweisbar.

Dieser Versuch lehrt bereits, daß bei dieser Anordnung die Eiweißbildung sehr langsam vor sich geht, nämlich mit Millons Reaktion erst am 3. Tage nachweisbar wird. Die normalen Bedingungen der Lebenstätigkeit des Blattes, besonders die Assimilation, müssen ganz bedeutend gestört sein. Man könnte auf Grund dieser schlechten Ergebnisse die Vermutung aufstellen, daß vielleicht nicht nur die fertigen Assimilationsprodukte, sondern auch der Assimilationsvorgang selbst von Ein-

¹) Zusammensetzung: KCl 1,833 g; KH₂PO₄ 3,240 g; MgSO₄ + 7 H₂O 8,623 g; Ca(NO₃)₂ + 6 H₂O 3,680 g in 100 ccm H₂O. Näheres später S. 538.

fluß auf die Eiweißbildung sind (vgl. dazu S. 553 ff.). Unter normalen Bedingungen, wenn also die Assimilation nicht durch Benetzung der unteren Epidermis gehemmt ist, geht nämlich die Eiweißbildung rascher vor sich.

Dieser zweite Weg der N-Zufuhr ist der normale durch den Blattstiel. Dabei ist die Lamina allseitig von Luft umgeben und kann daher ungehindert assimilieren. An N-haltigen Lösungen wurde geboten: 1⁰/₀ KNO₃, 1⁰/₀ Ca (NO₃)₂-Lösung, B-Lösung (vgl. S. 523) und Chrapowitzky's N-haltige Lösung (Abgekürzt: C.N.-Lösung: 0,6 g KNO₃; 0,6 g Mg (NO₃)₂; 1,2 g Ca(NO₃)₂ auf 1 l H₂O). In einigen Fällen wurde eine Spur Eisenchlorid beigegeben, vereinzelt wurden auch 0,5⁰/₀ oder 1⁰/₀ Trauben- bzw. Rohrzucker enthaltende Lösungen verwendet, diese aber zumeist mit schlechtem Erfolge; möglicherweise deshalb, weil in den Zuckerlösungen trotz täglich zweimaligen Wechsels zu schnell Bakterien in den Leitbahnen auftreten, wenn solche dort auch nicht gefunden werden konnten. Doch sprach das Welken der Blätter für Verstopfung der Gefäße.

Von dem Versuchsblatt wurde nach dem Abschneiden sofort dicht an der Mittelrippe eine Hälfte der Lamina abgetrennt und dann für die Kontrollreaktion in 96proz. Alkohol gelegt. Die andere Hälfte mit Stiel und Mittelrippe hatte dem Versuche zu dienen und wurde dann ebenso behandelt. Kleine Stücke, denen bestimmte Formen gegeben waren, wurden dann den verschiedenen Reaktionen unterworfen. Da die Vorbehandlung dieser vielen Einzelstückchen nicht im Gedächtnis behalten, sondern erst auf Grund der Protokolle festgestellt werden konnte, war auch meinerseits bei der Beurteilung der Reaktion Objektivität gewährleistet. Außerdem habe ich mir auch von anderen Personen, die die Vorbehandlung nicht kannten, die intensiver gefärbten Stücke namhaft machen lassen.

Es wurde bei derartigen Versuchen von früheren Autoren (vgl. Chrapowitzky, Meyer usw.) übersehen, daß nach der Eiweißbildung der Alkohol in den vergrößerten Chloroplasten eine stärkere Fällung erzeugt, so daß derartige Blattstücke weniger durchscheinend (»dichter«) sind als die Kontrollstücke. Dieser stärkeren Deckkraft der eiweißreichen Blattstücke trug ich bei der Beurteilung der Tiefe des Farbtones dadurch Rech-

nung, daß die vergleichende Beobachtung stets gegen weißen Untergrund vorgenommen wurde. Ein schwarzer Hintergrund ergibt nämlich gerade das umgekehrte Bild, aber nur deshalb, weil die an sich schwächer gefärbten, durchscheinenden Stücke den schwarzen Untergrund durchschimmern lassen und daher dunkler erscheinen als das tiefer rot bzw. gelb gefärbte Stück, das diese Farben stärker reflektiert und daher heller aussieht.

b) Versuchsergebnisse.

Der Verlauf eines Versuchs ist in weitaus den meisten Fällen etwa folgender: Setzt man die N-Hungerblätter frühmorgens in die N-haltige Lösung, so zeigen sich am Nachmittage bereits etwas intensiver grün gefärbte Bezirke in der Nähe der Blattnerven. Am nächsten Morgen ist das gesamte Blatt bis auf $\frac{1}{2}$ —1 mm nahe dem Schnitttrande, an dem anfangs das Vergleichsstück entnommen wurde, intensiver grün gefärbt als tags zuvor. Das fällt sogar häufig ohne Vergleichsblatt auf und war selbstverständlich erst recht neben einem solchen zu konstatieren. Den Eiweißreaktionen geht nun eine Jodstärkeprobe voraus. Leider kann diese nicht am gleichen Stück vorgenommen werden. Jodierte Eiweißkörper geben die Reaktion von Millon, wie das schon bekannt war, nicht mehr (vgl. Hammarsten S. 64), leider auch nicht die von Raspail, wie ich feststellen mußte. Es war zumeist keine Stärkebildung, weder nachmittags noch morgens zu konstatieren. War aber Stärke entstanden, so zeigte sich meist keine Eiweißbildung und die Blätter welkten bald, wahrscheinlich infolge mangelnder Wasserzufuhr. Der damit verbundene weitere N-Mangel ließ keine Eiweißbildung zu. Daher konnte vermutlich die Stärkebildung eintreten. Besonders am 2. Morgen wurde das Blattstück, wenn es stärkefrei war, vom Jod stark gebräunt im Vergleich zum nur gelblichen Kontrollstück. Die Eiweißreaktionen, besonders Raspails und Millons sowie auch die Xanthoproteinprobe fielen dann im gleichen Sinne aus. Am ersten Nachmittage konnte meist nur mit R. eine Eiweißbildung nachgewiesen werden. Öfters aber fiel dieser Versuch auch negativ aus, besonders wenn am Morgen bei Versuchsbeginn das Blatt gar keine Stärke enthalten hatte. Sollte ein Versuch länger als einen

Tabelle I.

Laufende Nr.	Versuchs- objekt	Versuchs- beginn		Lösung	Tag und Stunde		Eiweißreaktionen				Farbton und Dichte	Stärke- gehalt	Bemerkungen
		Dat.	Zeit		J	M	R	X					
1	Phaseolus multifl. Nr. 8	27. 4.	4 h N.	1 % KNO ₃	30. 4. 1. 5. (welk)	.	+	.	.	+	.	.	.
2	Phaseolus vulgaris Nr. 5	7. 5.	4 h N.	"	8. 5. 7 ³⁰ V. 9. 5. 7 ³⁰ V.	.	+	.	.	+	.	7. 5. + 8. 5. —	Zimtaldehyd. färbt ebenso nur die Chloroplasten
3	Zea Mays	30. 5.	7 ³⁰ V.	"	31. 5. 1. 6.	.	+	.	.	+	.	.	.
4	Cucurbita Pepo	20. 6.	5 h N.	0,5 % KNO ₃	(+) 21. 6. 2 h N.	+	(+)	.	.	+	.	20. 6. — 21. 6. (+)	Stärke am 21. 6. nur an wenigen Stellen
5	Tropaeolum majus	5. 7.	9 h V.	0,5 % Ca(NO ₃) ₂	7. 7. 8 h V.	+	+	.	.	+	.	5. 7. + 7. 7. (+)	vom 6.—7. 7. ca. 24 Std. zur Entstärkung unter Dunkelsturz
6	"	5. 7.	9 h V.	0,5 % KNO ₃	6. 7. 5 h N.	.	(+)	.	.	+	.	5. 7. + 6. 7. (+)	schon anfangs gelblichgrün. Ver- gilben hat zugenommen
7	Beta vulg. (rote Rübe)	7. 7.	10 h V.	"	8. 7. 10 h V.	+	nicht ver- gleichbar	7. 7. — 8. 7. —	.
8	"	7. 7.	10 h V.	0,5 % Ca(NO ₃) ₂	8. 7. 10 h V.	(+)	wie 7	7. 7. — 8. 7. —	.
9	Phaseolus multiflorus	21. 7.	3 ¹⁵ N.	0,5 % KNO ₃	23. 7.	.	(—)	.	.	(—)	.	21. 7. — 23. 7. —	am Licht anfangs Zunahme der Grünfärbung
10	"	21. 7.	4 h N.	"	23. 7.	.	=	.	.	=	.	21. 7. —	im Dunkeln 23. 7. z. T. welk
11	Tropaeolum majus	8. 8.	8 ³⁰ V.	C. N.	9. 8. 10. 8. (grün- gelb)	.	+	.	.	+	.	23. 7. — 8. 8. + 9. 8. + 10. 8. +	die gelbe Zone hat an Ausdehnung zugenommen
12	"	8. 8.	8 ³⁰ V.	"	9. 8. 10. 8.	.	+	.	.	+	.	8. 8. + 9. 8. + 10. 8. +	wie 11
13	Lactuca sativa	8. 8.	11 h V.	"	9. 8.	.	+	.	.	+	.	8. 8. —	9. 8. etwas welk
14	Cucurbita Pepo	6. 9.	11 ³⁰ V.	"	7. 9. 4 h N.	(—)	+	.	.	+	.	9. 8. (+)	bei Versuchsende trat gerade Welken ein
15	Phaseolus vulgaris	6. 9.	2 h N.	"	7. 9. 8 h V. 8. 9. 8 h V. 10. 9. 10 h V.	(—)	+	.	.	+	.	6. 9. — 7. 9. — 8. 9. — 10. 9. —	10. 9. Die Blätter beginnen zu vergilben und zu welken

16	Tropaeolum majus	11. 9. 9 ^h V.	C. N.	12. 9. 10 ^h V.	Vergilben hat weiter zugenommen
17	"	11. 9. 9 ^h V.	"	11. 9. 9 ^h V.	sehr auffallend
18	"	11. 9. 9 ^h V.	"	12. 9. 11 ^h V.	.	==	++	.	.	.	sehr deutliche Reaktion
19	"	14. 9. 10 ^h V.	"	15. 9. V.	(+)	gezeichnet, s. Fig. 5 S. 517
20	"	21. 9. 10 ^h V.	"	22. 9. V.	++	.	+	.	.	.	nabe der grünen Grenze Blatt anfangs schon gelbgrün, am 2. 10. völlig vergilbt
21	"	1. 10. 10 ^h V.	"	2. 10. 11 ^h V.	—	.	—	.	.	.	nur wenig weiter vergilbt
22	"	5. 10. 9 ^h V.	"	6. 10. 10 ^h V.	=	.	++	.	.	.	anfangs: Bezirk gelbu-grüungel- scheiden. Ende: sehr stark vergilbt
23	"	10. 10. 10 ^h V.	"	11. 10. V.	.	.	+	.	.	.	anfangs: überall in Nervennähe grünlich, nur Blattmitte grün. Ende: alles gelblicher
24	"	18. 10. 4 ^h N.	"	19. 10.	.	.	++	.	.	.	
25	"	18. 10. 4 ^h N.	"	19. 10.	.	.	=	.	.	.	
26	"	18. 10. 4 ^h N.	"	19. 10.	.	.	=	.	.	.	
27	Brassica Napus	25. 10. V	C. N. Spur Fe	26. 10. V.	++	.	(+)	.	.	.	
28	"	25. 10. V	"	26. 10. V.	++	.	++	.	.	.	
29	Lactuca sativa	1. 11. 8 ³⁰ V.	C. N.	2. 11. 4 ¹⁵ N.	(—)	(—)	—	.	.	.	Blatt an 2. 11. fast nicht mehr turgescenz, doch grünlich
30	"	1. 11. 8 ³⁰ V.	C. N. Spur Fe	2. 11. 4 ¹⁵ N.	+	=	=	.	.	.	Blatt nach voll turgescenz. R. fast keine Rötung
31	Brassica Napus	1. 11. 9 ³⁰ V.	"	2. 11. 3 ^h N.	.	(—)	R. gelang nicht (Grund unbe- kannt)
32	"	1. 11. 10 ³⁰ V.	C. N.	2. 11. 3 ^h N.	=	(+)	++	.	.	.	gezeichnet u. phot., s. Fig. 3 S. 515
33	Acer Negundo fol. variegata	17. 10. 4 ^h N.	"	18. 10. N.	—	—	—	.	.	.	herbstl. Blatt, bunt, Bezirk
34	"	17. 10. 4 ^h N.	C. N. + 2% Traubenzucker	18. 10. N.	(—)	=	++	.	.	.	herbstl. Blatt, rein weiß, löste sich leicht ab

Tag laufen, so wurde täglich eine neue Schnittfläche am Blattstiel hergestellt. Am zweiten Tage zeigte sich manchmal noch eine Eiweißzunahme, seltener am 3. Tage. Dann war ab und zu Stärkebildung zu beobachten. Schließlich welkten die Blätter.

Besonders in den ersten Stadien der Versuche, z. B. am ersten Nachmittage, oder nach einem Tage, war mikroskopisch die Eiweißreaktion deutlich in den Chloroplasten lokalisiert. Die Kerne zeigten (soweit beobachtet) gegen den Vortag keine merklichen Unterschiede in der Färbungsintensität, insofern dies mikroskopisch überhaupt zu beurteilen ist.

Aus den Versuchen muß man somit schließen, daß hauptsächlich die Chloroplasten die Eiweißneubildung vollziehen oder aber, was später noch zu diskutieren sein wird (S. 550), als Eiweißspeicher funktionieren.

In diesem Sinne stimmen Beobachtungen und Schlüsse von Chrapowitzky und mir ziemlich gut überein. Inwieweit diese Folgerungen beweiskräftig sind, ist im letzten Teil zu erörtern.

Nun sollen in tabellarischer Form die Versuche angeführt werden (vgl. Tabelle I, S. 526 u. 527).

Abkürzungen zu Tabelle I.

Zu Spalte: Eiweißreaktionen: Durch die Zeichen wird der Unterschied zur Reaktionsfarbe des Anfangstückes ausgedrückt. Es bedeutet: ++ sehr deutlich stärker gefärbt, + deutlich stärker gefärbt, (+) gerade erkennbar stärker gefärbt, = beide Stücke gleich gefärbt, (—) das Endstück gerade erkennbar schwächer gefärbt, — Endstück deutlich schwächer gefärbt, · Reaktion nicht vorgenommen.

Zu Spalte: Stärkegehalt: Jodreaktion stark ++ (Blatt blauschwarz); Jodreaktion schwächer als vorher, aber noch sehr deutlich +; Spuren von Stärke, Jodreaktion nur schwach grau (+); völlig stärkefrei, Jodreaktion negativ —, · Reaktion nicht vorgenommen.

Anmerkungen zu Tabelle I.

Zu Nr. 33 und 34: Die Versuche, panaschierte Blätter zur Untersuchung der Leukoplasten auf die gleiche Weise heranzuziehen, scheiterten im allgemeinen an der geringen Zahl dieser Plastiden in den Zellen. Häufig, so z. B. bei *Oplismenus*, sind ferner die farblosen Teile sehr dünn. Daher erhält man aus beiden Gründen schlechte Reaktionen. *Abutilon*-Pflanzen reagierten außerdem beim Einbringen in N-freie Kulturlösung mit Abwerfen der Blätter. Die vielen Objekte mit lederigen oder fleischigen Blättern kommen wegen des trägen Stoffwechsels nicht in Frage. Hierher gehörten auch *Pelargonien*. Nur die *Acer-Negundo*-Blätter, die sich

für solche Untersuchungen noch eignen könnten, habe ich nach der herbstlichen »Entleerung« heranziehen können. Die wenigen Angaben in Versuch Nr. 34 sind immerhin verheißungsvoll und scheinen anzudeuten, daß sich in bezug auf Eiweißbildung die Leukoplasten von *Acer* den Chloroplasten ähnlich verhalten könnten. Vorläufig darf man aber das noch keinesfalls als sicher hinnehmen. Weitere 5 Versuche mit demselben Objekt verliefen nämlich später resultatlos, so daß sie nicht in die Tabelle aufgenommen worden sind.

Zusätze zu Teil III.

Die Versuche mit *Fagopyrum esculentum*, *Pisum sativum* und *Stellaria media* verliefen resultatlos, da in Hungerkultur die Blätter zu klein ausfielen, um mit ihnen sorgfältig experimentieren zu können. Bei *Salvinia natans* wurde durch die Haare eine Beurteilung des Reaktionsgrades unmöglich.

Ich habe ferner z. B. *Paphiopedilum*-Blätter abgeschnitten und über 4 Monate lang in C.-Lösung gestellt. Bei häufigem Nachschneiden hielten sie sich sehr gut und begannen im Dunkeln erst nach 2 Monaten an der Spitze zu vergilben. Eiweißbildung war dann nicht mehr zu erzielen, da infolge des trägen Stoffwechsels sowie der geringen Transpiration solcher kompakter Blätter sie völlig zugrunde gehen, ehe namhafte N-Assimilation stattfinden kann.

IV. Abnahme bzw. Zunahme der Chloroplastengröße und Eiweißgehalt.

1. Mikroskopische Befunde an den N-Hungerpflanzen, insbesondere an den Chloroplasten.

Nachdem nun gezeigt ist, daß unter den beschriebenen Bedingungen die Chloroplasten stärkere Eiweißreaktionen geben, erhebt sich ohne weiteres die Frage: Geht der je nach den Versuchsbedingungen höhere oder geringere Eiweißgehalt der Plastiden mit entsprechenden Gestalts- und Größenveränderungen parallel? Chrapowitzky scheint diesen Punkt nicht in Betracht gezogen zu haben, denn nirgends in seiner Arbeit ist davon die Rede. Aber gerade diese Frage ist interessant. Es war zwar anzunehmen, daß sich bei N-Hunger ganz analoge Verhältnisse finden würden wie bei den älteren Blättern normaler Pflanzen, die allmählich, ganz wie die an Hungerpflanzen, zugrunde gehen. An normal vergilbenden Blättern sind diese Fragen mehrmals untersucht. (Sachs 1863, Mer 1876, Kienitz-Gerloff 1891, Sorauer 1903, Molisch 1918, A. Meyer 1918 usw.) Wie schon Swärt (1914) feststellen mußte, ergaben sich für verschiedene Objekte durchaus keine übereinstimmenden Bilder (S. 78, 79). Auch ist bisher das uns inte-

ressierende Stadium wenig berücksichtigt, das sich noch durch die Fähigkeit auszeichnet, von neuem Eiweiß- und Stärkebildung wieder aufzunehmen, sobald die Bedingungen hierzu gegeben sind. Eine Mitteilung von Sachs (1863) aber spricht dafür, daß dieser Forscher vor dem eigentlichen Vergilben und den damit verbundenen Gestaltsänderungen eine Verkleinerung der Chloroplasten beobachtet hat. Von fahl grünlich-gelben Blättern von *Dioscorea Batata* (S. 215) sagt er wörtlich: »In den Zellen der Oberseite war die Form der Chlorophyllkörner noch gut erhalten, ihre Färbung war fahl grün, an Größe hatten sie abgenommen« und S. 214, 215: »*Aesculus Hippocastanum*: a) grüne Blätter: Chlorophyllkörner in allen Zellen normal aussehend, sehr dicht gedrängt, intensiv grün . . . b) Fahlgrüne, gelbliche Blätter: Im wandständigen Chlorophyll treten Lücken auf, die Körner verlieren ihre polygonale Form, runden sich ab, treten von der Wand weg, . . .« Die polygonale Form ist also wohl geschwunden, als die Chloroplasten kleiner wurden und sich gegenseitig nicht mehr drängten. Nur so kann man sich die Bildung der »Lücken im Chlorophyll« erklären. — Mer (1876) scheint über diesen Punkt ausschließlich die Beobachtungen von Sachs anzuführen. Dann wird erst 1918 (a) von Molisch erwähnt, daß die Chloroplasten »schwinden« und dies auch mit der Eiweißabnahme in Parallele gesetzt. Ferner hat A. Meyer (1918) für *Tropaeolum* sehr eingehende Studien mikroskopischer Art vorgenommen, sowohl am lebenden als auch am fixierten Material. Die Resultate dieses Forschers lassen sich kurz dahin zusammenfassen: 1. Mit der Abnahme der Grünfärbung und Zunahme der Gelbfärbung der Chloroplasten in den Palisadenzellen nimmt ihre Größe ab, so daß die Durchmesser derselben in dunkelgrünen Blättern zu denen in gelben Blättern — den beiden Extremen —, sich wie 126:52 oder die Volumina wie 200:14 verhielten. 2. Die Gestalt der Chloroplasten derselben Zellen wird mit dem Vergilben häufig unregelmäßig. Es treten immer in ihnen größere Vakuolen auf, die mit gelbem »Öl« (»Assimilationssekret«) gefüllt sind. Nun konstatiert Meyer, daß der Eiweißgehalt der Blätter parallel mit dem Vergilben der Chloroplasten abnimmt, was er auf den Eiweißverlust der Chloroplasten zurückführen muß. (Molisch

(1918a) kommt etwa gleichzeitig mit Meyer zu dieser Auffassung.) Es liegt also auf der Hand, auch die Gestaltsänderungen der Plastiden mit dem Eiweißgehalt in Zusammenhang zu bringen. Solche Betrachtungen lassen von vornherein vermuten, daß bei N-Hungerkulturen in den Blättern ähnliche Erscheinungen auftreten können.

Jedoch nicht auf dem Wege dieser Überlegung, sondern allein durch mikroskopische Untersuchungen bin ich auf derartige Veränderungen aufmerksam geworden. Besonders die Beobachtungen über die Brauchbarkeit der Eiweißreaktionen lieferten Material dafür. Ich will zwei derartige Beispiele anführen durch Wiedergabe der betreffenden Versuchsprotokolle:

a) *Lactuca sativa*: Neugersdorf, d. 4. 4. 23. Sehr zarte Pflänzchen mit 3—4 Blättchen und den beiden Keimblättern wurden in Brunnenwasser gestellt. Dieses gab mit Nessler's Reagens oder Diphenylamin — H_2SO_4 keine Reaktionen, war also zum mindesten sehr stickstoffarm.

Beobachtungen am 13. 4. 23 (also nach 9 Tagen N-Hungerkultur).

Die kleinste Pflanze zeigt ein sehr blasses, wenig tugesezentes, ältestes Blatt. Das nächste ist etwas stärker grün gefärbt usw. bis zum 5. Blatt. Das 6. Blatt wird erst angelegt und ist noch sehr klein.

Mikroskopischer Befund: Blattstücke der sehr dünnen Blätter (anfänglich in feuchter, warmer Luft erwachsen: Mistbeet) wurden zunächst lebend in Wasser, dann nach Aufkochen beobachtet. Die gelblichen Blattstücke erscheinen viel durchsichtiger als die normaler Blätter. Die Chloroplasten füllten die Zellen nicht wie in diesen aus. Die Chloroplasten der Palisadenzellen maßen im Durchschnitt von 12 Messungen $3,8 \mu$ (größter Wert $4,0 \mu$, kleinster Wert $3,2 \mu$)¹. — Das normal grüne, jüngste Blatt der gleichen Pflanze erscheint bei mikroskopischer Beobachtung viel stärker gefärbt, viel »dichter«. Beobachtet wurde: 1. Unzweifelhaft ist das Grün der einzelnen Chloroplasten intensiver. 2. Die Zellen erscheinen mit Chloroplasten viel dichter gefüllt, obwohl einige Zählungen etwa die gleiche Durchschnittszahl auf eine Zelle im gelbgrünen und grünen Blatt ergaben. 3. Die Messung der Chloroplasten ergab im Durchschnitt von 12 Werten $4,7 \mu$ (von $4,0$ — $5,0 \mu$). Stets wurde darauf geachtet, daß nur solche Chloroplasten einer Messung unterzogen wurden, die beide »Pole« gleichzeitig scharf im mikroskopischen Bilde erkennen ließen, d. h. also, deren Längsachse in der Einstellebene des Objektivs lag. Die Gestalt der Chloroplasten war in beiden Fällen gleich. Auch lagen sie stets in Peristrophe. Der Größenunterschied fiel bereits ohne Messung sofort auf, besonders dann, wenn die Stücke einer Hartig-Zachariaschen Reaktion unterworfen waren. Dabei erschienen die Chloroplasten blau, die Kerne hellblau. Es wurden am 14. 4. 23 mit den gleichen Blättern Eiweißreaktionen angestellt und dabei noch folgendes beobachtet:

¹) Am 13. 6. 23, also nach weiteren 10 Wochen Hungerkultur, zuletzt in Leitungswasser, besitzt die gleiche Pflanze nur noch zwei kleine blaßgrüne Blättchen. Alle übrigen sind vertrocknet. Chloroplastengröße (Mittel von 30 Messungen) $3,5 \mu$!

	Hungerpflanze		Bodenpflanze
	gelbliches Blatt	grünes Blatt	
Kerne der Epidermiszellen	klein	etwas größer	etwas größer
Wandplasma	normal	normal	normal
Leukoplasten der Epidermiszellen [Reaktion: a) mit Zimtaldehyd und b) Xanthoprotein]	} ganz klein (farblos)	größer	größer
Chloroplasten der Schließzellen (Xanthoproteinreaktion)		groß, stärkehaltig (schw. gelbl.?)	[a) schwach gelbl., b) farblos] groß, stärkehaltig (gelblich)

b) *Phaseolus multiflorus*: Leipzig, 12. 3. 23 in C.-Lösung. Untersuchung am 23. 4. 23.

	N-Hungerblätter		Normales Blatt (Topfpflanze)
	Am Rande schon vertrocknendes Blatt	4 Tage verdunkeltes Blatt	
Blattfarbe	} gelblich (schlaff)	blaß grasgrün	tief bläulichgrün
Gestalt der Palisadenzellen		schmal	schmal
Chloroplasten, beobachtet in Glycerin, 5% Rohrzucker und B-Lösung	} klein gekörnt	etwas größer, gekörnt, Gestalt wie im normalen Blatt	groß, gekörnt, stärkehaltig
Größe des Chloroplasten (Mittelwert von 14 Messungen)		3,78 μ	6,06 μ
Jodstärkereaktion (makroskopisch)	} stärkefrei ¹	stärkefrei ¹	Spuren von Stärke ¹
Xanthoproteinreaktion der Chloroplasten		gelb	gelb

Die Resultate bezüglich der Chloroplastengröße wurden für die beiden Objekte nochmals geprüft und stets ganz ähnliche Werte erhalten. Ferner ergab sich das gleiche Bild an *Zea Mays*, wo ein Hungerblatt 4,53 μ lange Chloroplasten aufwies (Mittel aus 30 Messungen, größter Wert 5,0 μ , kleinster Wert 4,0 μ), während ein normales Blatt einer Topfpflanze 5,67 μ (30 Messungen, größter Wert 6,7 μ , kleinster Wert 5,0 μ) große besaß, wobei allerdings auf Grund der Makro-Jodprobe ein Mehrgehalt an Stärke erkennbar war. Dessen Einfluß kann aber, wie aus späteren Erörterungen noch hervorgehen wird, die Messung keinesfalls ungültig machen. Desgleichen haben Messungen an *Beta vulgaris*, *Cucurbita Pepo* und *Tro-*

¹) Stets sind aber die Schließzellen stärkehaltig!

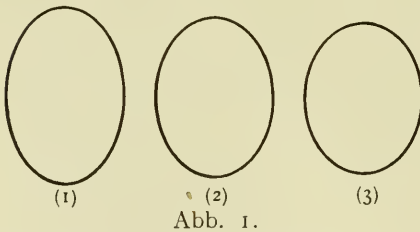
²) Mikroskopisch keine Unterschiede feststellbar.

paeolum ähnliche Resultate ergeben. Die Angaben Meyers von Tropaeolum kann ich also, soweit dies auf Grund der Beobachtung frischen Materials möglich ist, vollauf bestätigen. An den übrigen Bestandteilen der Zellen, besonders an Kern und Leukoplasten, habe ich eingehende Messungen unterlassen, da sie die mir gestellte Aufgabe kaum der Lösung näher bringen konnten. Für die Kerne besagen bereits Meyers Messungen (1918), daß sie an normalerweise vergilbenden Blättern etwas kleiner werden und sich abzurunden scheinen. Obige Übersicht zeigt für Phaseolus, daß die Chloroplasten der Schließzellen vielleicht ihr Eiweiß im Gegensatz zu den übrigen Chloroplasten bei N-Hunger festhalten können. Darauf achtete ich leider nur selten. Diese Angabe ist also keinesfalls zu verallgemeinern, auch noch unsicher. Sie beruht eben nur auf der Schätzung einer mikroskopischen Färbung der Gebilde. Da aber die Schließzellchloroplasten ihre Stärke noch behalten, auch sonst abnormes Verhalten zeigen, besitzt eine solche Annahme immerhin einige Wahrscheinlichkeit. So könnte hier etwa die Stärke das Eiweiß vor Veratmung schützen. Kienitz-Gerloff (1891, S. 56) ist sogar der Meinung, daß aus den Schließzellen keine organischen bzw. plasmatischen Stoffe auswandern können. Er nimmt auf Grund Leitgeb'scher Versuche sowie seiner Feststellung, daß die Wände der Schließzellen nicht von Plasmodiesmen durchsetzt sind, völlige Selbständigkeit dieser Zellen in bezug auf organische Stoffe an. Mit Hilfe der Methode Iljins (1922) könnte man die Schließzellchloroplasten entärken und dann auf Grund von Messungen, Reaktionen und Verdauungsversuchen (vgl. später) zu sicheren Resultaten über die Frage des Eiweißabbaus kommen. (Ich möchte deshalb darüber später noch Beobachtungen anstellen.)

Für die übrigen Chloroplasten aber, besonders die der Palisadenzellen, kann ich sicher angeben, daß sie bei der N-Hungerkultur zunächst in den anfangs vergilbenden Blättern, schließlich aber auch nach längerer Zeit in den jungen Blättern des noch lebenden Vegetationspunktes (*Lactuca*), an Größe bedeutend abnehmen.

2. Die Kritik der Meßmethode.

Gegen die von mir benutzte Methode, einfach die »Längen« d. h. die Längsdurchmesser der Chloroplasten zu messen, werden sich Bedenken erheben. So macht z. B. Budde (1923) darauf aufmerksam, daß dabei große Fehler unterlaufen können und mißt deshalb 2 Durchmesser. Doch bedingt auch das immer noch geringe Fehler. So trage ich wie Budde Bedenken, den Rauminhalt eines Chloroplasten als Rotationsellipsoid zu berechnen. Die Chlorophyllkörner sind doch meist nach 3 Achsen verschieden ausgedehnt. Leider gestatten unsere Apparate die einwandfreie Messung so geringer Tiefen nicht. Das zwei-dimensionale Messen fördert wohl die Genauigkeit, aber wenig. Es ist auch für viele Zwecke überflüssig, wie im vorliegenden



Falle, sobald man einige Umstände beachtet: Schon die Bilder zweier Chloroplasten im Mikroskop lassen erkennen, ob die Gestalten einander ähnlich sind. Freilich kann man sich hier etwas irren, d. h. die Fehlergrenze dieses Ver-

fahrens, aus dem Längsdurchmesser auf den Querdurchmesser, damit auf das Volumen zu schließen, ist groß. In den Mittelwerten beträgt die Verkürzung des Längsdurchmessers im Durchschnitt 19,15% bei *Lactuca*, 14,3% bei *Phaseolus* zwischen den Chloroplasten im normalen Blatt und im Hungerblatt. In nebenstehender Abbildung möge die linke Ellipse (1) die Umriss eines Chloroplasten darstellen. Die Achsen sollen sich wie 3:2 verhalten. Unter steter Beibehaltung des kleinen Durchmessers ist in der mittleren Figur (2) der Längsdurchmesser um 10%, in der rechten (3) um 15% verkürzt. Die Betrachtung der Abbildungen zeigt, daß die Gestaltsveränderung ohne weiteres sichtbar ist. Nun entsprechen diese Ellipsen als Längsschnitte von Rotationsellipsoiden folgenden Volumina: 1) 100, 2) 90, 3) 80 (lineare Proportionalität zu Drehachse gemäß der Inhaltsformel $\frac{4}{3} \Pi a^2 b$). Also sind unter der Bedingung gleicher kleiner Durchmesser bereits große Differenzen des Rauminhaltes

festzustellen. Nun lagen aber in meinen Fällen die Dinge noch günstiger. Wenn ich die Längsachsen, die dazu in der Einstellenebene des Objektivs liegen mußten, maß, stieß ich nur in ganz vereinzelt Fällen auf mehr rundliche, etwa Abb. 3 entsprechende Chloroplasten, die dann als Ausnahme gegenüber der sonst durchgängigen Chloroplastengestalt bei den Messungen außer Betracht blieben. Dazu kommt noch, daß die gemessenen Differenzen der Längsdurchmesser von Chloroplasten verschiedenen Eiweißgehalts nur in 2 Fällen unter 10 % gelegen haben und zwar bei 9,7 und 7,9 %. Sonst bewegten sie sich, wie sich auch weiter unten stets zeigen wird, zwischen 10 und 24 %, d. h. also im ungünstigsten Falle aller Messungen verhalten sich die Chloroplastenvolumina etwa wie 100:92, im günstigsten Falle wie 100:76 unter der Annahme gleicher kleiner Achsen! Es werden nun in Wahrheit noch viel größere Unterschiede vorhanden gewesen sein, da auch die kleineren Durchmesser kürzer waren. Doch genügt es hier, einfach die Volumab- oder -zunahme sicherzustellen.

Daß ich mich der Angabe von Mittelwerten bedienen mußte, ist bei derartigen Untersuchungen leider nicht zu umgehen. Ich habe sie auf Grund einer möglichst großen Zahl (30—40) sorgfältiger Messungen errechnet. In seltenen Fällen nur ist eine geringere Anzahl von Chloroplasten gemessen worden.

Um Gestaltsänderungen der Chromatophoren während der Versuche möglichst auszuschließen, habe ich, wie es nach Ausführungen von Senn (1908) ratsam ist, möglichst alle Faktoren konstant gehalten. So wurden die Objekte nie vor der Messung dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt, sondern erst mindestens zwei Stunden heller, diffuser Beleuchtung. Die Temperatur schwankt schon in Anbetracht der kurzen Versuchsdauer nur sehr wenig. Der Umstand, daß dem Wesen der Versuche gemäß das Medium der Blätter nicht konstant bleiben konnte, (sie mußten in die N-haltige Lösung tauchen) hat, wie ich durch ganz besonders scharfe Aufmerksamkeit auf diesen Punkt sicherstellen konnte, weder merkliche Gestalts- noch Lageveränderungen der Chloroplasten zur Folge gehabt. Die gemessenen Differenzen lassen sich also keinesfalls auf Gestaltsänderungen zurückführen. Nimmt man an, daß unter Beibehaltung des

Volumens ein Rotationsellipsoid mit dem Achsenverhältnis 3 : 2 sich in eine Kugel umwandelte, so müßte der Längsdurchmesser erst eine Verkürzung von 23,7⁰/₀ zum entsprechenden Kugeldurchmesser erfahren. Dabei aber würde man auf jeden Fall die Gestaltsänderung wahrnehmen. Je rundlicher ein Chloroplast, desto geringer werden auch die Fehler nach unserer Methode sein (vgl. die fast runden Chloroplasten von *Tropaeolum Meyer* 1918).

Ich hoffe, damit deutlich genug gezeigt zu haben, daß eine Chloroplastenmessung durch Angabe der Längsachse und unter Beobachtung der Gestalt genügt, um bedeutende Schwankungen des Rauminhaltes der Chloroplasten zu kennzeichnen, sobald die Differenzen der Längen etwa 10⁰/₀ erreichen und überschreiten.

Doch auch die Lageveränderungen der Chlorophyllkörner könnten bei meinen Versuchen eine kleine Rolle spielen. Die streng lokalisierte M. oder X. werden makroskopisch verschieden ausfallen, je nachdem, ob die Chloroplasten nur an den Längswänden der Palisadenzellen liegen (Apostrophe) oder an allen Wänden gleichmäßig verteilt sind (Peristrophe). Die grünen Blätter erscheinen dadurch bekanntlich verschieden gefärbt. Dieses Bedenken ist, da durch die gleichbleibende Beleuchtung zu solchen Verlagerungen keine Veranlassung vorlag, meist außer Betracht geblieben. Es ist aber in den Fällen stets berücksichtigt, wo Messungen gemacht wurden. Immer habe ich die Peristrophe angetroffen, wie es z. B. auch aus den Figuren auf S. 541 hervorgeht. Bei den Makro-Aldehydreaktionen und derjenigen von Raspail ist infolge des Verquellens eine Gefahr in dieser Hinsicht nicht vorhanden, kommt bei der letzteren aber auch wegen der Löslichkeit des gebildeten Farbstoffs in der Schwefelsäure nicht in Frage.

Das verschieden dichte Aussehen der Hungerblätter und der normalen Blätter sowie der Blätter nach N-Assimilation muß ich demnach auf die wechselnde Größe und den damit schwankenden Eiweißgehalt der Chloroplasten zurückführen. Das mikroskopische Bild dieser Verhältnisse wurde oben (S. 532) beschrieben. Die größere Menge des durch Alkohol gefällten Eiweißes in normalen Blättern oder nach der N-Assimilation wird wohl außerdem etwas stärkere Deckung gegen den dunklen Hintergrund bedingen müssen. Zu beachten war bei Feststellung solcher Differenzen, daß nicht etwa Verschiedenheiten im Stärkegehalt eine Rolle spielten. Denn seine Schwankungen rufen bekanntlich ähnliche Erscheinungen hervor (vgl. die Blütenblätter von *Ficaria verna*).

Zum Schluß dieses Abschnittes muß ich noch einer anderen Beobachtung gedenken, die ich stets berücksichtigt habe. In einem *Tropaeolum*-Blatte stellte ich in Mittelwerten jeweils aus 20 Messungen fest, daß die Chloroplasten der Palisadenzellen etwas kleiner waren ($5,66 \mu$) als in den Zellen der Leitbündelscheiden ($6,22 \mu$). Derartige ist schon früher beobachtet worden und hat mich veranlaßt, stets Nachdruck darauf zu legen, daß nur Chloroplasten aus Palisadenzellen gemessen wurden.

3. Versuchsergebnisse über Chloroplastenwachstum bei N-Assimilation.

Bisher wurde die bei N-Hunger beobachtete Verkleinerung der Chloroplasten als Resultat der Eiweißabnahme in ihnen angesprochen, wie dies bereits von Meyer geschehen ist. Nahe liegt es, nunmehr umgekehrt zu fordern, daß durch Eiweißbildung ein Wachstum zu beobachten ist. Meyer (1918) bestätigt experimentell diesen Gedanken in Abschnitt 4, S. 104—112. Er hat die Blätter der *Tropaeolum*-Pflanzen, die er zu derartigen Versuchen benutzte, mit Stanniol zur Hälfte verdunkelt, dann einige Tage so belassen, schließlich das Stanniol entfernt und die ganzen Pflanzen voll beleuchtet. Aus Daten, die er an den verschiedenen Blatthälften mikroskopisch feststellte, schließt er auf das Chloroplastenwachstum. Er hat es natürlich auf dem Wege der Messung von Durchmesser beobachtet. Doch sind bei solcher Versuchsanstellung mehrere Einwände möglich:

1. Da mit ganzen Pflanzen operiert wird, können aus anderen Teilen der Pflanze Eiweißbausteine in genügender Menge zugeführt worden sein (vgl. Chrapowitzky 1889).

2. Da sogar nur eine Blatt-»hälfte« verdunkelt wurde, wird der Eiweißschwund in ihr verhältnismäßig gering sein, weil die andere Blatthälfte den Bedarf der Pflanze wenigstens teilweise deckt. Die Größenunterschiede sind deshalb wahrscheinlich nicht maximal. Dieser Einwand verliert aber für Meyers Objekt dadurch etwas an Bedeutung, daß bei *Tropaeolum*, wie er selbst angibt, die in Frage kommenden Chloroplasten rundlich waren. Also sind grobe Fehler durch Angabe nur eines Durchmessers hier nicht zu befürchten. Damit wird wieder die Forderung optimaler Bedingungen in solchen Fällen überflüssig. — Ich konnte übrigens nicht immer diese rundliche

Form vorfinden. Wahrscheinlich ist das darauf zurückzuführen, daß Meyer stets die Objekte nach direkter Sonnenbestrahlung, ich aber stets nach Aufenthalt im diffusen Lichte untersuchte.

3. Nirgends findet sich bei Meyer eine Angabe, ob die Chloroplasten vor und nach dem Wachstum Stärke enthielten oder nicht. Dadurch könnten Fehler in den Messungen bedingt sein.

Diesen Einwänden wurde von mir durch Arbeiten mit abgeschnittenen N-Hungerblättern Rechnung getragen, wobei große Differenzen erwartet werden konnten, sowie dadurch, daß ich den Stärkegehalt makroskopisch und mikroskopisch kontrollierte.

Meine Versuche ergaben eine Bestätigung der Resultate Meyers. Es tritt durch die Eiweißbildung ein starkes Wachstum der Chloroplasten ein. Infolge der kurzen Versuchsdauer (1—2 Tage) habe ich von der Bildung der »Allinante« mit »ergastischem« Eiweiß, die bei N-Hunger verschwinden (vgl. schon Zimmermann 1893, S. 53), nichts bemerken können. Daher bin ich wohl zu der Annahme berechtigt, daß am Lichte in den Chloroplasten selbst Eiweiß viel schneller und in viel größerer Menge gebildet wird als im Protoplasten (vgl. S. 550).

Die Versuchsanstellung entspricht zunächst vollkommen der in Abschnitt III, 2a (S. 523, 524) gegebenen. Die Art der Messung und ihre Berechtigung habe ich oben bereits dargelegt. Die zum Messen erforderlichen Rasiermesserschnitte lagen dabei in 5% Rohrzuckerlösung oder häufiger in einer Lösung folgender Zusammensetzung: KCl 1,833 g; KH_2PO_4 3,240 g; $\text{MgSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O}$ 8,625 g; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + 6\text{H}_2\text{O}$ 3,680 g in 100 ccm H_2O . Sie ist von mir als B-Lösung bezeichnet worden.

Es bildet sich natürlich ein Niederschlag, der abfiltriert wurde. Diese Lösung hatte sich im Leipziger Institute vorteilhaft für die Erhaltung isolierter Zellen, besonders der Gestalt ihrer Chloroplasten erwiesen. So zeigten Schnitte durch Iresine-Blätter noch nach 3 Wochen darin unverändertes Aussehen der unverletzten Zellen. Meine Objekte sahen darin nach 20 Stunden noch völlig normal aus. Deshalb habe ich mich gern dieser Lösung bedient. Eine Grenze der Haltbarkeit eingelegter Objekte habe ich nicht ermittelt. Sie soll also mit obiger Zeit-Angabe nicht gezogen sein. Die Messungen erfolgten aber natürlich sofort nach Fertigstellen der Rasiermesserschnitte, die aus dem frischen Blatt möglichst rasch gewonnen wurden.

Zur Wahl der Versuchsobjekte ist noch zu bemerken, daß sehr kleine Chloroplasten die Messungen ungenau werden lassen (z. B. Fagopyrum mit 2,0—2,5 μ großen Chlorophyllkörnern in den Hungerblättern). Zu große Plastiden (z. B. Stellaria media), die ich auf Grund der Angaben von Moebius (1920) wählte, zeigen wieder zu geringe Volumschwankungen durch die Neubildung von Eiweiß. Deshalb wählt man am besten Chloroplasten mittlerer Dimensionen zu derartigen Versuchen.

Über die Stärkegehaltskontrolle ist in Abschnitt II ausführlich berichtet, so daß nun die Versuchsprotokolle in tabellarischer Form folgen können:

Tabelle II.
Chloroplastenwachstum bei Eiweißbildung.
(Abkürzungen wie in Tabelle I, S. 528.)

Versuchsobjekt	Phaseolus multiflorus	Phaseolus vulgaris	Cucurbita Pepo	Tropaeolum majus	Beta vulg. (Rote Rübe)	Cucurbita Pepo
Versuchsnummer	Hungerpfl. Nr. 11; nach N-Ass. No. 5	6	9	10	12	20
Versuchsbeginn	Nr. 11 25. 4.	7. 5. 4 ^h N.	20. 6. 5 ^h N.	5. 7. 10 ^h V.	7. 7. 4 ^h N.	6. 9. 11 ^h 30 ⁰ V.
Anfangsgröße der Chloroplasten	3,67 μ	4,1 μ	3,29 μ	5,26 μ	5,45 μ	3,94 μ
Anzahl der Messungen	15	30	20	30	30	30
Größter Wert	4,4 μ	5,1 μ	4,0 μ	5,8 μ	6,6 μ	4,5 μ
Kleinster Wert	2,8 μ	3,3 μ	2,5 μ	4,4 μ	4,5 μ	3,7 μ
Vers.-Hälfte gestellt in:	Ganze Pflanze in Knop	10 ⁰ KNO ₃	0,50 ⁰ KNO ₃	0,50 ⁰ Ca(NO ₃) ₂	0,50 ⁰ KNO ₃	C. N.
Versuchsende	30. 5.	9. 5. 7 ^h 30 ⁰ V.	21. 6. 2 ^h N.	7. 7. 8 ^h V.	8. 7. 10 ^h V.	7. 9. 4 ^h N.
Chloroplastengröße nach Eiweißbildung	Nr. 5: 4,10 μ	4,8 μ	4,08 μ	5,97 μ	5,88 μ	4,48 μ
Anzahl der Messungen	15	30	30	40	15	30
Größter Wert	4,9 μ	5,6 μ	4,5 μ	6,6 μ	6,9 μ	5,0 μ
Kleinster Wert	3,3 μ	4,5 μ	3,6 μ	5,3 μ	5,2 μ	3,8 μ
Kontrolle der Eiweißbildung durch Makroreaktionen	M. . R. . X. . J. .	++ . ++ . + . + .	++ . ++ . ++ . ++ .	++ . ++ . + . + .	vergleichbar . + . + . + .	= . ++ . (-) . (-) .
Jodstärkeprobe	Anfang ++ Ende +	++ —	— (+)	++ (+)	— —	— —
Größenzunahme in % der Längsachse	11,7 ⁰	16,8 ⁰	24,0 ⁰	9,7 ⁰	7,9 ⁰	13,7 ⁰

Anmerkungen zu Tabelle II: Resultate und Bemerkungen.

Zu Nr. 11/5: Gerade wegen der Stärkeabnahme ist die Größenzunahme völlig einwandfrei.

„ „ 6: Gerade wegen des Verschwindens der Stärke deutliche Größenzunahme.

- Zu Nr. 9: Minimale Stärkebildung, aber deutliches Wachstum.
 „ „ 10: Gerade wegen ganz bedeutender Abnahme des Stärkegehalts deutliches Wachstum.
 „ „ 12: Unter Beobachtung der gegebenen Grenzen ist ein Wachstum immerhin als ziemlich wahrscheinlich zu bezeichnen.
 „ „ 20: Rundliche Chloroplasten. Einwandfreie Größenzunahme.

4. Nachweis, daß das Chloroplastenwachstum durch Eiweißhäufung bedingt ist, mit Hilfe der Pepsin-Verdauung.

Bisher fußt die Anschauung, daß Eiweißbildung das Chloroplastenwachstum bedingt, Eiweißabnahme die Verkleinerung, auf der Tatsache, daß Größe und Eiweißreaktion der Chloroplasten parallel laufen. Glücklicherweise besteht aber noch ein anderer Weg, diese Annahme absolut sicherzustellen. Durch künstliche Verdauung kann man im Versuch den Chloroplasten das Eiweiß entziehen und die Verkleinerung dabei auch beobachten. Man erhält so die gleichen Restbestandteile, wie sie in manchen Fällen natürlicherweise vorkommen. Wählt man als Versuchsobjekt ein Blatt, das bereits erneute Eiweißbildung hinter sich hat, so wird damit einerseits nachgewiesen, daß Eiweiß als solches gebildet wurde, und andererseits auch, daß die beobachtete Größenzunahme der Chloroplasten auf eben dieser Eiweißbildung beruhte.

Ich wählte als Objekt Schnitte durch ein ursprüngliches Hungerblatt der *Phaseolus multiflorus*-Pflanze Nr. 5, die in Knopsche Lösung gesetzt worden war (vgl. S. 522). Nach dem Protokoll war nach 5 Tagen deutlich nachweisbares Eiweiß in den Blättern gebildet. Die Chloroplasten der Palisadenzellen eines auch hier zum Versuch benutzten Blattes der Parallelpflanze Nr. 11 in C.-Lösung zeigten $3,67 \mu$ Durchmesser, die der Pflanze Nr. 5 nach der N-Assimilation $4,1 \mu$ (vgl. Tab. II). Dabei war aber im Hungerblatt sehr viel Stärke vorhanden. Bei Versuchsende hatte der Stärkegehalt deutlich abgenommen. Es konnte also ganz erhebliche Größenzunahme festgestellt werden.

Zum Zwecke der künstlichen Verdauung stellte ich dünne Rasiermesserschnitte von »Hungerstücken« (h) und »N-Assimilationsstücken« (n) je eines Blattes der beiden eben erwähnten

Pflanzen her. Das Material war mit siedendem 96proz. Alkohol und nachfolgendem Verweilen in Alkohol entfärbt.

Sie beide, h- und n-Schnitte, wurden in folgende Lösungen eingelegt:

- 1) Verdauungsflüssigkeit: 10 Teile Pepsin-Glycerin (Grübler, vom 23. 10. 1905) + 30 Teile destilliertes Wasser + 1 Teil 0,2 % HCl. (Die Wirksamkeit des »künstlichen Magensaftes« wurde an Fibrin kontrolliert.)
- 2) 1. Kontrollflüssigkeit: 10 Teile Glycerin + 30 Teile dest. H₂O + 1 Teil 0,2 % HCl.
- 3) 2. Kontrollflüssigkeit: 10 Teile Glycerin + 30 Teile dest. H₂O.

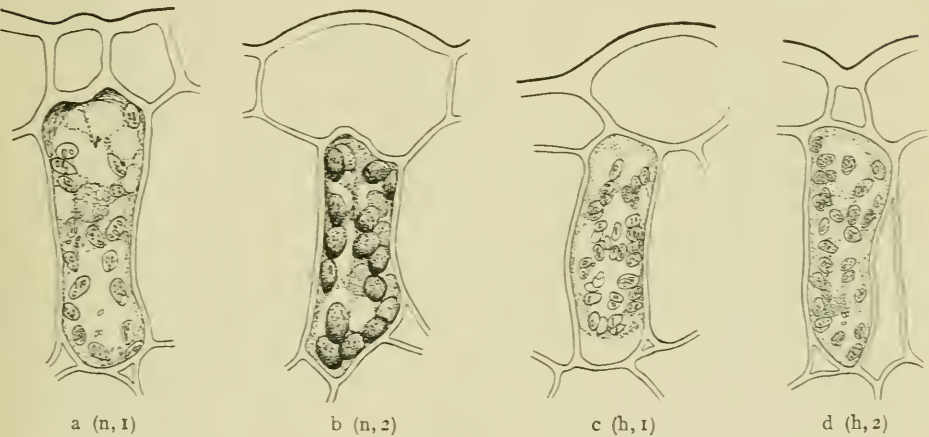


Abb. 2.

Die Schnitte wurden in den Lösungen unter mit Paraffin abgedichteten Deckgläsern auf Objektträgern der Temperatur von 36,0—39,5° C im Thermostaten ausgesetzt. Es sei gleich vorausgeschickt, daß die Lösungen 2 und 3 nicht den geringsten Einfluß hatten.

Versuchsbeginn Mittwoch, d. 2. 5. 23, 2^h N. Do., d. 3. 5. 23. N keine wesentlichen Änderungen. Fr. d. 4. 5. 23. V. (Vergleiche nunmehr die nebenstehenden Zeichnungen, die am Nachmittage angefertigt wurden). Die normalen, großen, runden Chloroplasten (n, 1) sind stark geschrumpft, kräftiger lichtbrechend und zeigen in der Restmasse von meist länglicher Gestalt die noch stärker brechenden Stärkekörner. Diese liegen an einzelnen Stellen anscheinend frei, da sie teilweise lebhaft Brownsche Molekularbewegungen aufweisen (vgl. Fig. 2). Der Protoplasmaschlauch ist schwach geschrumpft. n, 2 u. 3 haben sich untereinander nicht verändert. Sie stellen noch die Anfangsstadien dar [vgl. b (n, 2)].

Die Hungerchloroplasten h,1 sind auch noch spurenweise verdaut worden. Es haben sich ganz ähnliche Bilder wie an den normalen Chloroplasten nach Verdauung ergeben (vgl. dazu d mit h,2 und c mit h,1). Freiliegende Stärkeköerner scheinen etwas häufiger als bei n,1 vorzukommen. Protoplast deutlich geschrumpft. Mo., d. 7. 5. 23. Bilder nicht verändert. Mi., d. 9. 5. 23. Keine Veränderung. Do., d. 17. 5. 23. Keine Veränderungen, aber auch noch keine Bakterien (Dunkelfeldkontrolle!).

Der Versuch ergibt also eine Volumabnahme der großen Chloroplasten nach Eiweißregeneration bei der Verdauung, nämlich von $4,1 \mu$ auf $3,0 \mu$ Länge. Daß auch die Hungerchloroplasten eine solche allerdings weit geringere Abnahme zeigen, ist durchaus nicht verwunderlich. Hätten sie schon alles native Eiweiß vor der Verdauung verloren, so wäre anzunehmen, daß sie damit auch die Fähigkeit der Neubildung von Eiweiß verloren hätten (vgl. Abschn. V, S. 544ff.).

Bei Parallelversuchen an Blattquerschnitten von *Cucurbita* hatten die verdauten Chloroplasten von $4,0 \mu$ Länge abgenommen bis zu $3,6 \mu$ (Mittelwerte aus je 10 Messungen an dem Alkoholmaterial. Alkoholbehandlung bewirkt eine meßbare Schrumpfung der Chloroplasten, wie sich durch Vergleichen der eben gegebenen Größen mit denen von lebenden Plastiden in Tabelle II ergibt). Die verdauten *Tropaeolum*-Chloroplasten waren rundlicher und schon ohne Messung als ganz bedeutend kleiner nach der Verdauung als vorher zu erkennen. Dazu wiesen die mit Pepsin verdauten Chloroplasten eine rauhe Oberfläche auf. Bakterien waren auch in diesen beiden Fällen im Dunkelfeld nicht zu beobachten.

Zur Rechtfertigung der vorhin mitgeteilten Folgerung ist noch einiges zu bemerken. Es herrscht heute Meinungsverschiedenheit darüber, ob und in welcher Weise die Eiweißstoffe in unverletzten pflanzlichen Zellen von außen her mit Hilfe von Fermenten zur Lösung gebracht werden können. Zacharias kommt bei seinen Versuchen (1881—1883, 1887, 1902, 1910) zu der Anschauung, daß in der Pflanzenzelle nebeneinander vorhanden sein müssen: »Nuklein«, »Plastin« und in geringeren Mengen genuine Eiweißstoffe (echte Proteine) besonders etwas im Kern, mehr noch in den Chloroplasten, sehr viel in den Leukoplasten. Doch werden seine Untersuchungen von Biedermann (1919) angezweifelt. Dieser Autor stellt fest,

daß die Fermente Pepsin und auch Trypsin nur in mit Alkohol, Äther oder Chloroform behandelten Zellen deutliche Wirkungen hervorbringen können. Er unterwirft seine Objekte deshalb einer Vorbehandlung mit den eben genannten Fett- und Lipoidlösungsmitteln, um diese Stoffe herauszulösen. Die Zellwände als solche aber können nach ihm vom Pepsin in merkbarer Weise passiert werden. Mit diesen Feststellungen stimmen die von Walter (1921) überein. Trotz der Vorbehandlung z. B. mit Alkohol bleibt von Kern, Plasma und Plastiden bei Pepsin-HCl-Behandlung immer noch ein sehr beträchtlicher Rest übrig, den man vielleicht als das Plastin Reinkes (1881) ansprechen kann und welches bei tryptischer Verdauung völlig löslich ist (Biedermann, Walter).

Den Proteingehalt der Chloroplasten folgerte Zacharias u. a. aus Verdauungsversuchen mit künstlichem Magensaft an frischem Material. Biedermann konnte allerdings unter gleichen Bedingungen mit Pepsin-Salzsäure nur solche Veränderungen feststellen, die bereits allein mit verdünnter Salzsäure auftreten. Erst nach der Extraktion mit Fettlösungsmitteln erhielt er aber denen von Zacharias fast gleichende Resultate. Dieser entfärbte nämlich nachträglich auch mit Alkohol. Die danach beobachteten mikroskopischen Bilder müssen denen Biedermanns sehr ähnlich gewesen sein. Beide heben hervor, daß die Chloroplasten kleiner, zarter, durchsichtiger erscheinen. Das stimmt also auch mit meinen Beobachtungen überein.

Um den genannten Schwierigkeiten aus dem Wege zu gehen, habe ich mit 99proz. Alkohol durch mehrtägiges Stehen und Aufkochen erschöpftes Material zur Verwendung gebracht. Auch ist bei meinen Versuchen eine Wirkung der Salzsäure allein keinesfalls im Spiel, da ich mit sehr viel weniger sauren Lösungen als sonst üblich arbeitete¹ und die Kontrollobjekte in salzsaurem Glycerin gleicher Konzentration gegenüber den Schnitten in reinem verdünnten Glycerin nicht die geringsten Unterschiede erkennen ließen. Der Zusatz von antiseptischen Mitteln wurde vermieden, da diese stets hemmend auf die Verdauung einwirken. Die scharfe Bakterienkontrolle im Dunkelfeld erwies ihn auch als völlig überflüssig.

¹) Man muß dafür eine längere Versuchsdauer in den Kauf nehmen.

Es sind also tatsächlich bei der erneuten N-Assimilation Proteinkörper gebildet und in den Chloroplasten gestapelt worden. Durch diese Proteinkörper, die einer Pepsin-Verdauung zugänglich sind, muß daher auch das Wachstum der Chloroplasten bedingt gewesen sein, denn nach ihrer Entfernung sinkt der Rauminhalt wieder.

Meine Erfahrungen über die Verdauung der N-Hungerchloroplasten stimmen ferner mit denen von Zacharias an herbstlichen, bereits vergilbten Blättern überein. Die noch vorhandene aber geringe Menge von Pepsin-verdaulichem Protein in meinen Hungerblättern ist völlig verständlich (vgl. vorher S. 541 u. 542). Die Restkörper der Chloroplasten vor der N-Assimilation und nach ihr aber gleichen sich. Man darf also nunmehr, vielleicht auch schon allein auf Grund der Versuche von Zacharias (1883, S. 214, 215) schließen, daß hauptsächlich Proteasen vom Charakter des Pepsins die einfachen Proteine in den Blättern zur Lösung bringen. Die herbstlich-vergilbenden Blätter verhalten sich den N-Hungerblättern darin völlig gleich. Der im »Plastin« — das wir wohl als ein zusammengesetztes Proteid auffassen müssen — vorhandene Stickstoff scheint stets für die Pflanze verloren zu gehen. Daher sind auch die Blätter beim Laubfall im Herbste nie N-frei, sondern nur N-ärmer als vorher (s. auch S. 552).

V. Bilden desorganisierte Chloroplasten ebenso Eiweiß wie intakte?

Meyer (1918, S. 110) führt aus, daß vergilbende Chloroplasten »geschwächt« sein können, so daß »die Eiweißherzeugung . . . kleiner sein mußte als die Eiweißlösung während der Nacht«. Er nimmt an, daß in diesem Zustande nachts soviel Eiweiß verbraucht wird, wie tagsüber aus der geringen Kohlehydratmenge nicht wieder ersetzt werden kann. Damit wird auf einen möglichen Grenzfall im Zusammenhang der normalen Chloroplastenfunktion und der Eiweißbildung hingewiesen. Sein Gedankengang erscheint außerordentlich klar und einleuchtend. Doch sind die Versuche, die er an *Tropaeolum* über den Zustand der Chloroplasten und die Eiweißbildung angestellt

hat, nur gelegentlicher Art, mehr beigeordnet, auch an Zahl gering und wenig übersichtlich (vgl. S. 111—113). Die Bedeutung, die diese Frage für die Rolle der Chloroplasten bei der Eiweißbildung besitzt, erheischte jedenfalls eine nochmalige Untersuchung.

Sie läßt sich an teilweise vergilbenden Blättern gut durchführen. Diese werden mit Hilfe eines Zeichenapparates unter Vergrößerung oder einfacher durch Abpausen (bei größeren Objekten) sowohl im Tone der Grünfärbung als auch des Vergilbens möglichst genau gezeichnet. Dann wird das Blatt wie

früher (S. 524) der Länge nach zerschnitten. Der Teil mit Stiel wird den Bedingungen für N-Assimilation ausgesetzt, der andere gelangt in Alk. 96%. Zumeist nach 24 Stunden wird auch die Versuchshälfte mit Alkohol entfärbt, nach-

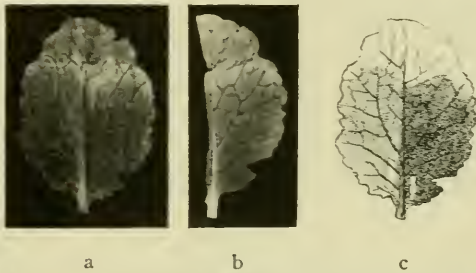


Abb. 3. Brassica Napus (natürl. Größe). a: Sofort nach Abnehmen von der Hungerpflanze. b: Versuchshälfte nach Verweilen in N-haltiger Lösung. c: R. am mit Alkohol entfärbten Blatt.

dem an ihr die Veränderungen in der Färbung, die auch in dieser kurzen Zeit auftreten, durch Zeichnung festgehalten worden sind. Dann werden kleine Stücke jeder Hälfte den Jodstärkereaktionen, der ganze Rest der Eiweißreaktion unterworfen. Ich habe vor allem die Raspailsche oder Millonsche Reaktion benutzt. Ihr Ausfall wurde auf Pauspapier eingetragen und konnte nun in Form eines Deckblattes sehr gut zu Vergleichen benutzt werden. — Alles dies konnte aber auch rein objektiv durch Photographien wiedergegeben werden. Die so erhaltenen Bilder sind aber bei weitem nicht so anschaulich wie etwa das Objekt selbst, da die Farben fehlen (vgl. Abb. 3, 4 u. 5).

Alle von mir angestellten Versuche mit Blättern von Tropaeolum, Brassica Napus und Lactuca sativa ergaben, daß nur Chloroplasten, die bis zu einem verhältnismäßig geringen Grade gelber und

kleiner geworden waren, der Eiweißneubildung fähig sind. Die Zone des Übergangs von Grün zu Gelb, die anfangs ziemlich breit ist, nimmt im Versuchsteil stark ab. Grün und Gelb grenzen so nach der N-Assimilation ziemlich dicht aneinander, da die anfangs weitgehend gelblichgrünen Chloroplasten im Versuch noch weiter vergilbten. Die schon vorher grünen und gelbgrünen dagegen hatten ihren Farbton in so kurzer Zeit nicht merklich geändert. Ich pflichte also Meyers Beobachtung (S. 112) vollkommen bei, der angibt, daß die Eiweißbildung sich früher durch die Reaktion nach-

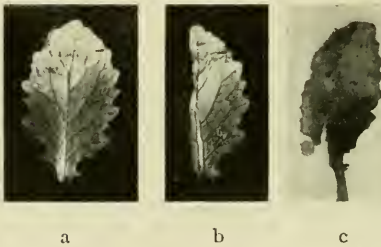


Abb. 4. Brassica Napus (natürl. Größe). a und b wie in Abb. 3. c: R. phot. mit Orange-Filter¹. Die viel stärkere Rötung der Versuchshälfte ist durch den schwarzen Ton in der Phot. klar angezeigt.

weisen läßt als ein bemerkbares Wieder-Ergrünen erfolgt. Die Eiweißreaktion der teilweise vergilbten Blätter nach der N-Assimilation zeigte einen noch viel deutlicheren Grenzverlauf, wohl deshalb, weil auch noch gelbgrüne Chloroplasten schon die volle Eiweißreaktion gaben, also in hohem Grade Eiweiß gebildet hatten. Zur Eiweißbildung wurde vorhandene Stärke stets verbraucht. War

anfangs keine verfügbar, so ließ sich trotzdem in vielen Fällen noch eine N-Assimilation nachweisen, wenn die Blätter am Lichte standen. Gebotene Zuckerlösung konnte in solchem Falle auch einmal die Eiweißbildung im Dunkeln begünstigen, aber wieder nur in den grünen Teilen.

Für den Versuch, zu dem die beigegebenen Zeichnungen von *Tropaeolum* gehören, folgt das Protokoll:

21. 9. 23. *Tropaeolum* Nr. 6. Anfangs gezeichnet. Versuchsteil (mit Stiel) 10^h V in C. N-Lösung. Anfangsteil in Alk. 96^o/₁₀₀ aufgekocht und belassen.

Am 22. 9. 11^h V: Versuchsteil nach zeichnen aufgekocht mit Anfangsteil zusammen in Alk. belassen. 3^h N in Rohrzucker 1 : 1.

¹) Durch die Alkoholbehandlung schrumpfen die Blätter. In der Schwefelsäure tritt Verquellen sowie leichter Zerfall ein. Daher haben sich häufig wie auch hier die Blatthälften verschoben, wenn sie zwischen Glasscheibe und Zelluloidfolie gelegt wurden.

Am 23. 9. zeigt die Raspailsche Reaktion an beiden Stücken etwa gleiche Intensitätsunterschiede für die gleichfarbigen Stellen. Im Grün des Versuchsteils stärkste Färbung. Die entnommenen Probestücken für Jodstärkereaktionen zeigten folgendes Verhalten:

Vor Eiweißbildung. Grüner Teil: Sehr viel Stärke, besonders nahe der Blatt-randbucht. Alle Schließzellochloroplasten blau. Grundfarbe schwach gelblich.

Gelber Teil: Nur Schließzellen stärkehaltig. Grundfarbe ganz blaß.

Nach Eiweißbildung. Grüner Teil: Nur Schließzellen blau. Sonst völlig stärke-frei. Grundfarbe gelb-bräunlich.

Gelber Teil: Schließzellen blau. In der Nähe der Grenze des grünen Randes an die hellgelbe Zone auch im Mesophyll noch etwas, aber sehr wenig Stärke. Grundfarbe schwach gelblich.

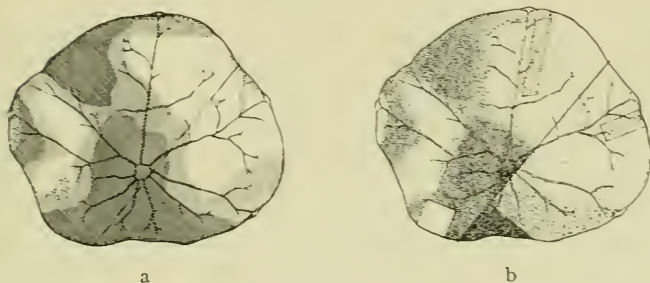


Abb. 5. a: einfach schraffiert = gelbgrün, doppelt schraffiert = grün, un-schraffiert = gelb. b: Raspailsche Reaktion an den großen Flächen. Jodreaktionen an den Ausschnitten (näheres im Text).

Die mikroskopische Untersuchung der lebenden Chloroplasten ergab für die Grenze Gelb-Grün folgendes:

Protokoll vom 16. 9. 23. Tropaeolum. Chloroplastenuntersuchung nach erfolgter Eiweißbildung an Blatt Nr. 4 vom 14. 9. 23.

Ganz gelb gefärbte Zone: Große gelbe »Öl«-Tropfen in den Zellen, daneben auch kleinere, oft zu zweit aneinanderhängend. (In allen Blattschichten sind die Kerne rundlich und klein)

Schwächer gelbliche Zone: Viele kleine gelbe Tröpfchen in den Palisadenzellen. Im Schwammparenchym allem Anscheine nach noch kleine, gelblichgrüne Chloroplasten in der Nähe eines Gefäßbündels.

Übergangszone: Die Größe der Schwammparenchym-Chloroplasten nimmt nun bis zur nahen grünen Zone überall schnell zu. Besagte Chloroplasten werden also größer und grüner in sehr kurzem Bereiche des Schnittes. — Die gelblich-grünen Palisadenzellchloroplasten zeigen nach dem gelben Teile zu starke Brownsche Molekularbewegung (wie die kleineren »Öl«-Tropfen). Sie liegen z T. um den Kern herum. Ihre Zahl scheint nach Grün hin pro Zelle zuzunehmen. (Vielleicht sind

im gelben Teile einige stets zusammengeflossen?) In der Richtung vom Gelb zum Grün werden auch die Chlorophyllkörner immer grüner, liegen dann der Zellwand fest an und zeigen vereinzelt Körnchen in ihrem Innern (Stärke? Die Jodstärkereaktion konnte 1 Tag später (!) nicht mehr erhalten werden).

Grüne Zone: Schließlich sind die Zellen leidlich mit grünen Chloroplasten gefüllt, fast ganz wie im normalen Blatte.

Der merkwürdige Befund an den Schwammparenchym-Chloroplasten ist hierbei wohl besonders auffallend. Ohne mir ihn irgendwie ungezwungen erklären zu können, möchte ich doch auf ihn aufmerksam machen. Er ist vielleicht in Parallele zu Schimpers Beobachtung zu setzen, wonach auch die Stärke zunächst aus den oberen, dann erst aus den unteren Zellen (Schwammparenchym) des Blattes bei der Ableitung der Assimilate schwindet (vgl. 1885, S. 762).

Das mikroskopische Bild an einem Schnitt stimmt also etwa mit dem überein, wie es Meyer (1918) an normal vergilbenden Blättern in der Reihenfolge der Blattfarbe erhielt. Auch vor dem Hunger ist es ähnlich, nur ist die Übergangszone breiter, wie ich vorher schon erwähnte.

Aus den 18 von mir mit dieser Methode angestellten Versuchen geht also hervor: Nur die Chloroplasten, die eine verhältnismäßig geringe »Schwächung« erfahren haben, sind der Eiweißregeneration fähig.

Im Zusammenhang damit fallen einige Streiflichter auf die Annahme Meyers, daß die Unfähigkeit zu genügender Kohlehydraterzeugung allein dafür verantwortlich zu machen sei. Sie soll eine Eiweißregeneration am Tage unmöglich machen. Der nächtliche Abtransport bringt dann die Eiweißabnahme hervor. Führt man also, so könnte man danach meinen, Zucker zu, so wird zunächst einmal die Eiweißabnahme in den bereits sehr geschwächten Chloroplasten zum Stillstand kommen und allmählich müßte sogar Eiweißneubildung eintreten. Hierauf bezügliche Versuche meinerseits sind jedoch alle negativ verlaufen. Ich habe in 8 Fällen gelbe, noch voll turgeszente und normalerweise noch 2—3 Tage so erhalten bleibende Blätter von *Tropaeolum* teils in C.-Lösung zum Vergleich, teils in solche mit 1% Rohr- oder Traubenzuckerzusatz gestellt, aber stets ohne Erfolg bei Ausführung der Makroeiweißprobe. Einige Versuche mit gelbgrünen Blättern verliefen in gleichem Sinne,

nur, daß dabei völliges Vergilben eintrat und in einem Falle vielleicht die Blattnerven etwas stärker die Eiweißreaktion in der Versuchshälfte gaben als in der Anfangshälfte. Wahrscheinlich war in diesem Falle ein Eiweißtransport aus der Lamina nach den Nerven erfolgt, da Vergilben, somit auch weitere Eiweißabnahme der Mesophyll-Chloroplasten eingetreten war.

Besagen solche negative Resultate vielleicht an sich auch nicht viel, so lassen sie doch wohl eine gewisse (abwartende) Skepsis gegenüber Meyers Anschauung ratsam erscheinen, bis sie etwa durch Versuche quantitativen Charakters gestützt wird.

C. Schlußbetrachtungen.

Die Folgerungen aus den Versuchsergebnissen, die sich in den einzelnen Abschnitten ergeben, gipfeln alle darin, daß die Chloroplasten mit dem Eiweißstoffwechsel in enger Beziehung stehen. Zunächst wurde auf Grund von Eiweißreaktionen nachgewiesen, daß die N-Hungerblätter einer Proteinneubildung fähig sind, und daß die Chloroplasten sich dabei so verhalten, als ob hauptsächlich sie die Eiweißstoffe speichern, vielleicht sogar selbst aufbauen.

Sind denn aber solche Schlüsse auf Grund der Eiweißreaktionen, besonders solcher unter dem Mikroskop zulässig? Über eine Neubildung von Eiweiß können sie als Makroreaktion absolut sicher Auskunft geben, sobald man ihrer geringen Spezifität wegen mehrere verwendet und mit dem Worte »Eiweiß« hier sowohl native Proteine als auch Peptone und Albumosen zusammenfaßt, die alle die Reaktionen geben. Bei mikrochemischer Anwendung sind sie aber besonders nach Brunswick (1923, S. 883f.) recht wenig empfindlich. Dieser ist sogar der Meinung, Meyer (1920) ginge zu weit, wenn er auf Grund solcher Mikroreaktionen alles Eiweiß des Protoplasten als »ergastischen« Stoff ansehe. Doch ist Meyer (1915) zu solchen Folgerungen nicht allein durch den Ausfall der mikrochemischen Reaktion gekommen, sondern er wurde daneben von Analogieschlüssen in bezug auf Stärke- und Fettvorkommen usw., sowie durch verschiedene Literaturangaben geleitet.

Für uns spielt diese Frage nur insofern eine Rolle, als sie die Eiweißsynthese durch den Protoplasten berührt. Es gelingt, wie Meyer (1916, 1918) nachweist und ich bestätigen kann, an normalen Blättern mit Hilfe mancher Eiweißreaktionen die (eiweißführenden) »Allinante« sichtbar zu machen. Also muß die Empfindlichkeit dieser Reaktionen immer noch verhältnismäßig groß sein, so daß sie weitere Schlüsse gestattet (vgl. dazu S. 538). An Hungerblättern ließen sich die Allinante nicht nachweisen. Sie mußten hier also unbedingt eiweißärmer geworden sein. Die Frage, ob sie ganz geschwunden sind, ist schließlich für uns nebensächlich. Aus meinen Versuchen ging hervor, daß nach kurzer N-Assimilation die Allinante noch nicht auftauchen, während sich inzwischen die Chloroplasten stark mit Eiweißstoffen gefüllt haben. Es ist also Grund vorhanden, anzunehmen, daß das Plasma bei der Eiweißbildung zum mindesten langsamer arbeitet als die Chloroplasten, wenn nicht etwa gar die eiweißführenden Allinante erst nach vollständiger »Füllung« der Chloroplasten auftreten, so daß man die Proteinsynthese derselben auch als den Vorgang ansehen könnte, dem sie ihre Existenz verdanken.

Andererseits könnte man einwenden, daß nur das Protoplasma Eiweiß bildet und zugleich in den Chloroplasten ablagert.

Entsprechendes ließe sich von der CO₂-Assimilation sagen, bei der nur die Sauerstoffabgabe mit Sicherheit als Leistung der Chloroplasten feststeht. Aber genau so, wie man sich hier nicht scheut, anderen verwickelteren Hypothesen die einfachere Annahme einer ausschließlich den Chloroplasten zukommenden Funktion vorzuziehen, wird sich empfehlen, ihnen Ähnliches bei der Eiweißsynthese zuzuschreiben.

Für eine solche Auffassung spricht auch das Auftreten von kristallisiertem Protein in ihnen. Mit den sogenannten »Phytovitellin«-Kristallen haben uns Schimper (1878, 1883), Meyer (1883) und Zimmermann (1893) u. a. bekannt gemacht. Stock (1892) teilt mit, daß sogar Schwankungen im Vorhandensein und in der Größe dieser Gebilde vorkommen, die ganz von dem Ernährungszustand der Pflanze in bezug auf Stickstoff ab-

hängen¹. Demnach dürfen wir allgemein die Kristalloide der Plastiden als Reservееiweißstoffe ansprechen und können uns für diesen Fall Meyers Vorstellung ohne Bedenken zu eigen machen (1916), daß sie eben als Reservestoffe dort entstehen, wo sie abgelagert werden.

Viel größere Bedeutung hat das nicht kristallisierte Protein schon wegen seiner allgemeinen Verbreitung. Ein Teil davon trägt den Charakter eines Reservestoffes, wie sich bei N-Hunger ergibt. Daß dies für alles Eiweiß der Trophoplasten gilt, das sich als solches durch die Reaktionen zu erkennen gibt und mit Pepsin-HCl verdaulich ist, ist nicht anzunehmen. In Abschnitt V (S. 544 ff.) sprechen die Versuche deutlich gegen eine solche Auffassung, da mit einer Eiweißabnahme über einen gewissen Betrag hinaus der Chlorophyllgehalt und die Funktionstüchtigkeit in bezug auf Assimilation und Eiweißsynthese leiden. Ferner spricht für die Notwendigkeit eines Teiles des Proteins als Grundlage für das Chlorophyll die von mir sowie von Meyer (1918) gemachte Feststellung, daß Chlorophyllschwund und Eiweißabnahme parallel verlaufen und daß Chlorophyllneubildung der Eiweißregeneration nachhinkt (S. 546). Eisler und Portheim (1923) wollen sogar mit Hilfe von Eiweiß-Chlorophyllverbindungen, die sie durch Versetzen von alkoholischen Rohchlorophylllösungen mit Pferdeserum erhalten haben, in wäßriger Lösung am Lichte — nicht dagegen im Dunkeln — CO₂-Spaltung und O₂-Bildung beobachtet haben. Die Versuche bedürfen aber noch einer Bestätigung.

An die Seite dieser Ergebnisse treten noch viele andere, die zwar nicht so streng, aber doch unverkennbar auf eine starke Eiweißbildung durch die Chloroplasten hindeuten.

Die Arbeiten quantitativer Art, bezüglich der Eiweißbildung in den Blättern werden schon von vielen Autoren erörtert (Meyer 1918, S. 104 ff., Czapek II, S. 296—307: Die Bildung von Proteinstoffen in den Laubblättern. Dort weitere Literatur).

¹) Es gehören vielleicht auch die Pyrenoide vieler Algen hierher, die wenigstens teilweise aus Protein bestehen sollen, und von denen im Hungerzustande Kleinerwerden und z. T. Verschwinden sowie erneutes Wachstum bei Rückkehr in gute Ernährungsbedingungen bekannt ist (Klebs, 1891, S. 794: Hydrodyction; Ernst, 1904, S. 517 f.: *Derbesia*).

Schon der hohe Eiweißstickstoffgehalt der Blätter weist auf eine solche hin, ferner die Zunahme des Eiweißgehalts der Blätter am Tage und seine Abnahme während der Nacht. Die Erörterungen Chibnalls (1923) lassen die diesbezüglichen Versuchsdaten verschiedener Forscher viel einheitlicher erscheinen. Chibnall weist nach, daß es das beste ist, die Angaben quantitativer Verhältnisse des N-Gehalts von Blättern auf das Frischgewicht zu beziehen. Dann gleicht sich in unseren geographischen Breiten die nächtliche Zunahme des Wassergehalts etwa aus mit dem gleichzeitigen Gewichtsverlust durch die Kohlehydrat-Abwanderung. Bedenkt man ferner, daß bei den Stickstoffbestimmungen an herbstlich vergilbenden Blättern die Werte allgemein auf das Trockengewicht bezogen sind, und dabei ebenfalls Verlust an Trockensubstanz durch Abwandern der Kohlehydrate entsteht, so sehen die Resultate noch günstiger aus, denn die herbstliche Abnahme des Stickstoffgehalts der Blätter (vgl. Swart 1914, dort weitere Literatur) in Verein mit den Chloroplastenveränderungen sprechen schon ohnehin für eine wichtige Rolle dieser Plastiden bei der Eiweißsynthese.

Vielleicht kommt ihnen diese auch für die Eiweißbildung im Dunkeln zu, die auf Grund vieler quantitativer Versuche sichergestellt ist und sich allerdings nur in Gegenwart von Kohlehydraten vollzieht. In wenigen Dunkel-Versuchen Chrapowitzkys und auch in einem der meinen, wo Zucker zugeführt wurde, scheinen die Resultate obige Annahme zu bestärken. Doch bedürfen diese Fragen weiterer experimenteller Bearbeitung.

Was nun die fraglose Bedeutung des Lichtes für die Proteinsynthese betrifft, so könnte man an folgende Möglichkeiten denken:

1. Direkter Einfluß des Lichtes:
 - a. Photosynthese der Eiweißstoffe unter Energieaufnahme, analog dem Vorgange der CO_2 -Assimilation.
 - b. Photokatalyse: Einfache Beschleunigung eines an sich ohne jegliche Energiezufuhr verlaufenden Vorganges der Eiweißbildung (Aminosäurebildung und Kondensation der Aminosäuren).

2. Indirekter Einfluß des Lichtes:

- a) durch Permeabilitätserhöhung der Plasmahaut für NO_3' , die stärkere N-Zufuhr bedingt.
- b) durch Vollzug der Assimilation, die
 - a) durch Lieferung energiereicher Kohlehydrate die NO_3 -Reduktion ermöglichen kann,
 - β) die Eiweißsynthese durch Zufuhr dazu geeigneten Materials ermöglichen kann (vgl. Warburg 1920),
 - γ) durch Bildung bestimmter Primärprodukte, die Synthese von N-haltigen organischen Verbindungen fördern kann.

Die Arbeiten, die einen direkten Einfluß des Lichts angeben, rühren einerseits von Laurent und Marchal (1896, 1903), andererseits von Godlewsky (1897, 1903) her. Laurent macht noch keinen scharfen Unterschied, ob Photo-Synthese oder -Katalyse durch das Licht bedingt sein soll, doch scheint er mehr an eine Energieaufnahme bei der Eiweißbildung zu denken. Hiergegen wendet sich Zaleski (1909) besonders, weil bei Versuchen mit Pflanzen von *Sinapis alba* unter farbigen Glocken Licht ganz verschiedener Intensität zur Verwendung gekommen sein muß. Auch konnte er (1909) an *Vicia-Faba*-Sproßspitzen nicht einmal mit der gleichen Methode irgendeinen Einfluß des Lichtes feststellen, also auch nicht einen solchen des ultravioletten Lichtes, wie ihn Laurent angibt. Möglicherweise könnten seine Ergebnisse durch Assimilationsdifferenzen, also durch indirekten Lichteinfluß, erklärt werden.

Eine derartige Möglichkeit bleibt auch bei einem anderen Versuch Laurents (Zucht von Kresse in Nährlösungen mit 4% Rohrzuckergehalt am Lichte und im Dunkeln, der größeren Eiweißgehalt der Lichtpflanzen ergab) offen, den bereits Godlewsky (1903) skeptisch beurteilt: Es kann der Lichteinfluß auf Rechnung der durch die Assimilation sich bildenden »direkt reduzierenden« Zucker gesetzt werden, zumal nach Hansteens Versuchen (1896, 1899) Rohrzucker schlecht zur Eiweißsynthese geeignet ist.

Ebenso ungünstig müssen die Folgerungen beurteilt werden, die Godlewsky (1903) aus seinen Versuchen zieht. Dieser

analysierte weitgehend Weizen- und Gerstenkeimlinge, die im Dunkeln und am Lichte im »CO₂-freien« Raume in N-haltigen und N-freien Lösungen aufwuchsen, auf den Gehalt an verschieden gebundenen Stickstoff und fand dabei, daß die Bildung von Eiweißstoffen unter Ausschluß von CO₂ am Lichte am größten war. Die Keimlinge hatten überall im Vergleich zum Samen prozentual etwa gleichviel Trockensubstanz veratmet. Daraus schließt er, daß tatsächlich mit seiner Methode eine Assimilation am Lichte gänzlich verhindert war (S. 359). Dieses Argument erscheint wirklich beweiskräftig. Doch dünkt mir eine sofortige quantitative Entfernung der bei der Atmung gebildeter Kohlensäure praktisch nicht durchführbar. CO₂ ist sicherlich in bestrahlten grünen Zellen nicht beständig.

Diese Ansicht findet ihre Bestätigung in Versuchsdaten Warburgs und Negeleins (1920). Hier waren einzellige Algen im CO₂-freien Raume der Bestrahlung ausgesetzt (S. 89). In Chlorid-, Sulfat- oder Phosphat-Lösungen ist dabei nur geringe O₂-Ausscheidung (»Extra-Sauerstoff«) zu beobachten. In Nitratgemischen aber steigt sie auf den 15—20fachen Wert. Unter der Annahme, daß die bei der »Verbrennung von Kohlenstoff durch gebundenen Sauerstoff« (vgl. S. 82 oben) erfolgende Nitrat-Assimilation im Dunkeln sich am Lichte fortsetzt, muß in diesem Falle »Extra«-Sauerstoff auftreten, der keiner CO₂-Assimilation aus der Umgebung entspringt. CO₂ wird eben in einer bestrahlten grünen Zelle sofort gespalten (S. 90 oben). Dies lehren dann die von Warburg auf S. 90 gegebenen Werte.

Auch von Godlewsky wurden nitrathaltige Lösungen neben den nitratfreien geboten. Im Dunkeln zeigte sich dabei bereits ein Unterschied, den seine eigenen Worte wiedergeben mögen: »Wir sehen, daß die Pflänzchen aus salpeterfreier Lösung 38,8—41,5 %, die Pflänzchen aus salpeterhaltiger Lösung 44,5—47 % der ursprünglichen organischen Substanz der Samen veratmet haben, daß somit die Anwesenheit der Nitrate in der Nährlösung eine nicht unbedeutende Verstärkung der Atmung nach sich zieht« (S. 337 oben). (Also eine Parallele zum Auftreten von Extra-CO₂ im Dunkeln bei Nitratzufuhr in Warburgs Versuchen [1920, S. 75f.].) Dieser Unterschied ist doch von

vornherein auch am Lichte zu erwarten¹. Unbedingt hätte, falls tatsächlich eine vollständige Absorption des CO₂ bei der Godlewskyschen Versuchsanordnung erzielt worden wäre, ein stärkerer Trockensubstanzverlust bei den Lichtpflanzen in NO₃-haltiger Lösung als bei den N-frei gehaltenen Lichtpflanzen auftreten müssen. Da das nicht der Fall war, im Gegenteil etwas geringerer Trockensubstanzverlust festgestellt wurde, muß man also doch annehmen, daß Assimilation von CO₂ in beschränktem Umfange vor sich gehen konnte. Daß die Prozentzahlen des Substanzverlusts, die Godlewsky bei Nitratzufuhr erhält, nicht bedeutend von denen der Objekte aus N-freier Lösung oder im Dunkeln abweichen, könnte anders bedingt sein (wofür ein stark abweichender Wert auf S. 343 spricht: 19,7%), etwa durch einen fast gleichmäßigen CO₂-Verlust infolge der sonst gleichen Versuchsbedingungen (Luftfeuchtigkeit, CO₂-Mangel der Luft, Licht), denen gleiche Spaltöffnungsweite entsprochen haben sollte.

Deshalb ist der Schluß Godlewskys auf eine photosynthetische Eiweißbildung aus seinen Versuchsergebnissen nicht zulässig. Vielmehr kann hier die Assimilation noch im Spiele sein. Doch hat er wahrscheinlich recht, wenn er sagt: »Durch die Feststellung, daß die Eiweißbildung im Dunkeln sich vollziehen kann, ist die Frage nach der Abhängigkeit oder Unabhängigkeit dieser Prozesse von der direkten Lichtwirkung noch nicht gelöst.« (S. 363.)

Es ist also noch kein direkter Einfluß des Lichtes auf die Eiweißbildung nachgewiesen. Wir werden deshalb gut tun, vorläufig darauf zu verzichten, die führende Stellung der Chloroplasten bei der Eiweißsynthese in der grünen Pflanze etwa durch ihre Lichtabsorption infolge Chlorophyllgehalts erklären zu wollen. Die Sonderstellung kann noch andere Ursachen haben, die eben dann auf der Seite indirekten Lichteinflusses zu suchen sein werden.

Als eine solche kommt für die grünen Organe die durch Belichtung erhöhte Permeabilität des Plasmas für Elektrolyte, insbesondere Nitrate, in Betracht. Auf diese Möglichkeit weist

¹) Er muß sogar noch größer sein, wenn durch Erhöhung der Permeabilität bei Beleuchtung (s. unten!) mehr Nitrate in die Zelle gelangen.

bereits Warburg (1918, S. 93) hin. Lepeschkin (1909a, b) hat an Blattgelenkzellen von *Phaseolus*, Epidermiszellen von *Tradescantia* und *Spirogyra*-Zellen Permeabilitätserhöhungen für »Salpeter« (KNO_3) sowie Zucker am Lichte gefunden. Solcher Lichteinfluß ist ferner, allerdings für NaCl , von Tröndle (1910) beobachtet, wird aber von Fitting (1915, 1917) bestritten. Tröndle (1918) ist diesen Einwänden entgegengetreten. Man darf also damit rechnen, daß in die assimilierenden Zellen infolge von Beleuchtung ansehnliche Mengen von Nitraten eintreten können und dort nach Schimper (1890) bald verarbeitet werden.

Warburg (1918, S. 82ff.) kommt, indem er die Thermodynamik der Nitratreduktion untersucht, zur Folgerung, daß dieser Vorgang an den der Assimilation gekoppelt sein kann. Es entsteht dabei nämlich Ammoniak, der mit den primären Assimilationsprodukten der CO_2 -Spaltung reagieren könnte. Doch sind die Anschauungen noch zu hypothetisch, um eine nähere Diskussion hier beanspruchen zu können. Auch ohne eine solche erhellt bereits aus den Ergebnissen Warburgs die Möglichkeit besonders intensiver Eiweißsynthese in den Chloroplasten, allerdings nur im Lichte.

Diesen Befunden reihen sich solche Hansteens (1896, 1899) an, nach denen insbesondere »direkt reduzierender« Zucker, wie er z. B. bei der Stärke-Bildung oder -Lösung oder der Assimilation entsteht, im großen und ganzen die Eiweißbildung aus Säureamiden, Harnstoff usw. ermöglicht. Die Herstellung des Zuckers sowie Stärke-Bildung oder -Auflösung kommt aber normalerweise den Plastiden zu.

In Zuckerblättern dagegen soll deren Fähigkeit zur Stärkebildung beschränkt bzw. verloren sein. Ich habe deshalb beiläufig auch diese zur Untersuchung heranziehen wollen. Sie gehören aber leider zumeist Pflanzen mit Speicherorganen an oder sind lederig bzw. fleischig und weisen trägen Stoffwechsel auf. Infolgedessen ist eine Kultur bei Stickstoffhunger so gut wie ausgeschlossen (vgl. S. 529 *Paphiopedilum*), ohne die ein deutlicher Unterschied im Eiweißgehalt nicht feststellbar ist.

Ferner wird der Assimilationsvorgang die Bildung von α -Aminosäuren begünstigen. Diese Meinung vertreten Baudisch (1923) sowie Heilbron (1923) auf Grund von Versuchen *in vitro*. Heilbron will dabei insbesondere eine Rolle des ultravioletten Lichtes beobachtet haben, das eine Aktivierung

des für die Pflanzen noch hypothetischen Formaldehyds bedingen und dadurch die Aminosäure-Synthese ermöglichen soll.

Nun wird in der Pflanze sich nicht allein Formaldehyd an der Aminosäure-Bildung beteiligen, sondern vermutlich sind auch Abbauprodukte der Aldosen und Ketosen, die organischen Säuren, dabei im Spiele. — Die Ammonium-Salze besonders der Ketosäuren gehen in der tierischen Leber in die entsprechenden α -Aminosäuren über (Embden 1912). So wie die Leber als Hauptorgan des tierischen Kohlehydratstoffwechsels aus Abbauprodukten der Zucker charakteristische Bestandteile des Eiweißmoleküls bildet (vgl. Hammarsten, S. 413), könnten dies vielleicht auch die Chloroplasten tun.

Es sind also genügend Möglichkeiten gegeben, ohne die Annahme des direkten Lichteinflusses die Sonderstellung der Chloroplasten im Rahmen der Eiweißbildung in den grünen Pflanzen zu verstehen. Von dieser Seite steht demnach ebenso nichts im Wege, zu folgern, so wie es meine Versuchsergebnisse fordern:

Die Chloroplasten müssen als Orte sehr intensiver Eiweißsynthese angesehen werden, genau wie dies bezüglich der Kohlehydratbildung geschieht. Nur dürfte jene Fähigkeit nicht wie die zur Kohlehydratsynthese auf sie allein beschränkt sein.

Zusammenfassung.

Schon vielfach wurden die Chloroplasten als Stätte lebhafter Eiweißbildung angesehen. Doch nur Chrapowitzky (1889) hat einige Versuche in einer kurzen Arbeit in russischer Sprache veröffentlicht, die hauptsächlich die Lokalisationsfrage der Proteinsynthese klären sollten. Sie sind aber wenig bekannt geworden und wurden deshalb von mir wiederholt, erweitert und vielfach ergänzt.

Als Versuchsobjekte dienten fast stets abgeschnittene Blätter von *Phaseolus*, *Lactuca*, *Tropaeolum*, *Brassica*, *Cucurbita*, *Zea* usw., die von N-frei gezogenen Pflanzen abstammten.

1. Führt man am Lichte solchen Blättern von neuem Stickstoff als NO_3' zu, so läßt sich tatsächlich mit Hilfe von Makro-eiweißreaktionen an ganzen Blattstücken Eiweißneubildung nach-

weisen. Mikroskopische Untersuchungen ergeben, daß in den Chloroplasten Eiweißstoffe gehäuft und wahrscheinlich auch hier entstanden sind.

2. Ferner hat sich gezeigt, daß mit der Eiweißabnahme der Blätter durch N-Hungerkultur eine Größenabnahme der Chloroplasten Hand in Hand geht, wie sie auch an anderen Blättern gefunden wurde, die normalerweise besonders infolge Eintritts der herbstlichen Jahreszeit vergilben (Sachs 1863, A. Meyer 1918). Auch nehmen bei Eiweißneubildung in meinen Versuchen die Chloroplasten an Größe zu, so wie es A. Meyer (1918) an eiweißarmen Chloroplasten vergilbender Blätter von *Tropaeolum* beobachtet hat.

3. Es wurden dann solche wieder »gewachsene« Chloroplasten einer Pepsin-HCl-Verdauung unterworfen, welche die in ihnen gebildeten Proteine entfernte und dadurch Volumabnahme hervorrief. Die sich ergebenden Restkörper ähneln weitgehend den N-Hunger-Chloroplasten sowie manchen Rückständen solcher Plastiden nach herbstlichem Laubfall.

4. Für die Feststellung der Größenverhältnisse bei diesen Untersuchungen genügt die Messung des Längsdurchmessers der Chloroplasten vollkommen, wenn dabei ihre Gestalt nur einigermaßen beachtet wird.

5. Schließlich ergab sich, daß bei N-Hunger allmähliches Vergilben der Blätter einsetzte, das mit der Eiweißabnahme etwa parallel ging. Es sind nun nur noch solche Chloroplasten einer erneuten Proteinbildung fähig, die verhältnismäßig geringen Eiweißverlust, also nur geringe Größenabnahme erlitten haben. Demnach ist nicht alles im Chloroplasten enthaltene Protein ein Reservestoff.

Diese Ergebnisse drängen gemeinsam mit verschiedenen Angaben in der Literatur die Anschauung auf, daß die Chloroplasten an der Eiweißsynthese in den grünen Pflanzen einen sehr großen Anteil haben, eine Folgerung, die durch theoretische Erörterungen auch dann noch gerechtfertigt ist, wenn man von der Annahme eines direkten Lichteinflusses auf die Eiweißbildung absieht. Ein solcher Einfluß ist nämlich bisher noch nicht erwiesen.

Die Versuche wurden zum größten Teile während des Jahres 1923 im Botanischen Institut der Universität Leipzig ausgeführt. Herrn Professor Ruhland, der die Anregung zu diesen Untersuchungen gab, bin ich dafür sowie für die mannigfache Unterstützung, die er meinen Arbeiten zuteil werden ließ, zu wärmstem Danke verpflichtet. — Ferner haben mich Herr Privatdozent Dr. Bachmann in vielfacher Weise, Frll. Frey (Riga) und Herr Dr. Drechsel besonders durch ihre Hilfe bei der Übersetzung des Chrapowitzkyschen Originals unterstützt. Auch ihnen möchte ich an dieser Stelle bestens danken.

Verzeichnis der zitierten Literatur.

1. Biedermann 1919: Beitrag zur vergl. Phys. d. Verdauung VII. Dringen Verdauungsfermente in geschlossene Pflanzenzellen ein? Pflügers Archiv. **174**.
2. Brunswick 1923: Die Grenzen d. mikrochem. Methodik i. d. Biologie. Die Naturwissensch. **11**, 881.
3. Budde 1923: Beitr. z. Anat. u. Phys. des Blattes auf Grund volumetrischer Messungen. Bot. Arch. **4**, 443.
4. Butkewitsch 1909: Das NH_3 als Umwandlungsprodukt stickstoffhaltiger Stoffe in höheren Pflanzen. Biochem. Zeitschr. **16**, 411.
5. Chibnall 1923: Diurnal variations in the total nitrogen content of foliage leaves. Ann. of Bot. **37**, 511.
6. Chodat et Rouge 1922: Sur la localisation intracellulaire d'une oxydase et la localisation en général. C. R. Acad. Sc. Paris. **175**, 252—255.
7. Chrapowitzky 1889: Beobachtungen über die Eiweißbildung in den chlorophyllführenden Pflanzen (russ.). Arb. d. St. Petersburger Naturf. Ges. **18**, 1—27. Referate: Rothert: Bot. Zentralbl. **39**, 352; Bernh. Meyer: Justs Bot. Jahresber. 1889. **1**, 164.
8. Czapek: Biochemie. 2. Aufl. Jena.
9. Eisler u. Portheim 1923: Über die Bildung von O_2 aus CO_2 durch Eiweiß-Chlorophylllösungen. Biochem. Zeitschr. **135**, 293—298.
10. Embden u. Oppenheimer 1912: Über den Abbau der Brenztraubensäure im Tierkörper. Ebenda. **45**, 201.
11. Ernst 1904: Siphoneen-Studien IV. Zur Kenntnis d. Zellinhalts von *Derbesia*. Flora. **93**, 514—532.
12. Fitting 1915: Unters. über die Aufnahme v. Salzen in d. lebende Zelle. Jahrb. f. wiss. Bot. **56**, 1.
13. — 1917: Unters. über isotonische Koeffizienten und ihren Nutzen f. d. Permeabilitätsbestimmung. Ebenda. **57**, 553.
14. Frank 1888: Unters. über d. Ernähr. d. Pfl. mit Stickstoff u. über d. Kreislauf desselben in d. Landwirtsch. Landw. Jahrb. **17**, 421 ff.
15. Gertz 1917 (zit. n. Czapek, Biochem.): Makrooeminska agghviteprof a blad. Bot. Notiser, Lund. 1917.

16. Godlewsky 1897 (zit. n. Godl. 1903): Zur Kenntnis d. Eiweißbild. aus Nitraten i. d. Pfl. Bull. de l'Acad. des Sciences de Cracovie. S. 104.
17. — 1903: Zur Kenntnis d. Eiweißbild. i. d. Pfl. Ebenda. S. 313.
18. Hammarsten: Lb. d. physiolog. Chemie. 9. Aufl. 1922. München u. Wiesbaden.
19. Hansteen 1896: Beitr. z. Kenntnis d. Eiweißbild. u. d. Beding. d. Realisierung dieser Prozesse i. phanerog. Pflanzenkörper. Ber. d. d. bot. Ges. **14**, 362.
20. — 1899: Über d. Eiweißsynthese i. grünen Phanerogamen. Jahrb. f. wiss. Bot. **33**, 417—486.
21. Heilbron 1923: The photosynthesis of plant products. Nature. **111**, 502.
22. Iljin 1922a: Wirkung der Kation von Salzen auf den Zerfall u. d. Bild. v. Stärke i. d. Pfl. Biochem. Zeitschr. **132**, 495.
23. — 1922b: Synthese u. Hydrolyse v. Stärke. Ebenda. 511.
24. — 1922c: Physiolog. Pflanzenschutz. Ebenda. 526.
25. Kienitz-Gerloff 1891: Die Protoplasmaverbindungen zwischen benachbarten Gewebeelementen i. d. Pfl. Bot. Zeitg. **49**.
26. Klebs 1891: Über d. Bild. d. Fortpflanzungszellen bei Hydrodictyon utr. Ebenda. 789.
27. Lakon 1914: Der Eiweißgehalt panaschierter Blätter gepr. mittels d. makrosk. Verf. v. Molisch. Biochem. Zeitschr. **78**, 145.
28. Laurent, Marchal et Carpiaux 1896: Rech. expérim. sur l'assimilation de l'azote ammoniacal et nitrique par les plantes supérieures. Extr. du Bull. de l'acad. royale de Belgique. **32**.
29. Laurent et Marchal 1903: Rech. sur la synth. des substances albuminoïdes par les végétaux. Dies. Ztschr.
30. Lepeschkin 1909a: Über die Permeabilitätsbest. d. Plasmamembran f. gelöste Stoffe. Ber. d. d. bot. Ges. **27**, 129.
31. — 1909b: Zur Kenntn. d. Mechan. d. photonast. Variationsbeweg. u. d. Einwirk. d. Beleuchtungswechsels auf d. Plasmamembran. Beihft. bot. Zentralbl. **34**, 308.
32. Mer 1876: Des phénomènes végétatifs qui précèdent ou accompagnent le dépérissement et la chute des feuilles. Bull. de la Soc. Botanique de France. **23**, 176.
33. Meyer, A. 1883: Über d. Kristalloide der Trophoplasten und über die Chromoplasten der Angiospermen. Bot. Zg. **41**.
34. — 1915: Die i. d. Zellen vorkomm. Eiweißkörp. sind stets ergastische Stoffe. Ber. d. d. bot. Ges. **33**.
35. — 1916: Die Allinante. Ber. d. d. bot. Ges. **34**, 168.
36. — 1918a: Eiweißstoffwechs. u. Vergilben d. Laubblätter von *Tropaeolum majus*. Flora. 1918, 55—127.
37. — 1918b: D. Bezieh. zwischen Eiweiß- u. Säurebild. in den Laubblättern. Ber. d. d. bot. Ges. **36**, 235.
38. — Morphologische und physiol. Analyse der Zelle der Pfl. u. d. Tiere. I. Teil, Jena. 1920.
39. Möbius 1920: Über die Größe der Chloroplasten. Ber. d. d. bot. Ges. **38**, 224.

40. Molisch 1918a: Über das Vergilben d. Blätter. Sitzsber. d. Akad. d. Wiss. Wien. S. 1.
41. — 1918b: Das Chlorophyllkorn als Reduktionsorgan. Dies. Ber. S. 449.
42. — 1921: Mikrochemie. Jena. 2. Aufl.
43. Mottier 1921: On certain plastids, with special reference to the protein bodies of *Zea*, *Ricinus* and *Conopholis*. Ann. of Bot. **35**, 349—364.
44. Muencher 1923: Proteinsynthesis in *Chlorella*. Bot. Gazette. **75**, 249—267.
45. Osterhout 1907: On the importance of physiologically balanced solutions for plants. II. Fresh Water and terrestrial plants. Ebenda. **44**, 259—272.
46. — 1909: On the similarity in the behavior of sodium and potassium. Ebenda. **48**, 98—104.
47. Prianschnikoff 1922: NH_3 als Anfangs- u. Endprodukt d. Stickstoffumsatzes in den Pflanzen. Landwirtschaftl. Vers.-Stat. **99**, 267.
48. Reinke u. Bodewald 1881: Die chem. Zusammensetz. d. Protoplasma v. *Achaliu septicum*. Unters. a. d. Bot. Labor. d. Univ. Göttingen. Berlin: Heft 1.
49. Sachs 1862: Mikrochem. Unters. Flora. **45**, 289.
50. — 1863: Beitr. zur Physiol. d. Chlorophylls. Flora. **46**, 200.
51. Schimper 1878: Unters. über die Proteinkristalloide d. Pfl. Inaug.-Diss. Straßburg. 1878.
52. — 1883a: Über d. Entw. d. Chlorophyllkörner u. Farbkörper. Bot. Ztg. **41**, 105 ff.
53. — 1883b: Erwiderung. Ebenda. **41**, 809.
54. — 1885: Unters. über d. Chlorophyllkörper u. die ihnen homologen Gebilde. Jahrb. f. wiss. Bot. **16**, 1.
55. — 1890: Zur Frage d. Assimilation d. Mineralsalze durch d. grüne Pfl. Flora. **73**, 207.
56. Senn 1908: D. Gestalts- u. Lageveränderung d. Pfl.chromatophoren. Engelmann, Leipzig.
57. Sorauer 1903: Zur anatom. Analyse d. durch saure Gase beschädigten Pfl. Ber. d. d. bot. Ges. **21**, 526.
58. Stock 1893: Ein Beitr. zur Kenntnis d. Proteinkristalle. Cohns Beitr. z. Biol. d. Pfl. **6**, 213.
59. Swart 1914: Die Stoffwanderung in ablebenden Blättern. Diss. Jena.
60. Tröndle 1910: D. Einfluß d. Lichtes auf d. Permeabilität d. Plasmahaut. Jahrb. f. wiss. Bot. **48**, 171.
61. — 1918: D. Einfl. d. Lichtes auf d. Permeabilität d. Plasmahaut und d. Methode der Permeabilitätskoeffizienten. Vierteljahrsschr. Naturf. Ges. Zürich.
62. de Vries 1873 (zit. nach Chrapowitzky 1889): Landw. Jahrb. **2**.
63. Walter 1921: Ein Beitrag zur Frage der chemischen Konstitution des Protoplasmas. Biochem. Zeitschr. **122**, 86—99.
64. Warburg 1920a u. Nägelein: Über d. Reduktion d. Salpetersäure in grünen Zellen. Ebenda. **110**, 66—115.
65. — 1920b: Desgl. Die Naturwissenschaften. **S**, 594.
66. Zacharias 1881: Über die chemische Beschaffenheit des Zellkerns. Bot. Zeitg. **39**, 170.

67. Zacharias 1882: Über den Zellkern. Ebenda. **40**, 611.
68. — 1883: Über Eiweiß, Nukleïn u. Plastin. Ebenda. **41**, 209.
69. — 1887: Beitr. zur Kenntn. d. Zellkerns u. d. Sexualzellen. Ebenda. **45**, 281.
70. — 1902: Über d. achromatischen Bestandteile des Zellkerns. Ber. d. d. bot. Ges. S. 317.
71. — 1910: Die chem. Beschaffenheit v. Protoplasma u. Zellkern. Progr. rei botanicae. III, 223.
72. Zaleski 1897: Zur Kenntnis d. Eiweißbild. in der Pflanze. Ber. d. d. bot. Ges. **15**, 536.
73. — 1901: Beitr. zur Kenntn. der Eiweißbild. in den Pflanzen. Ebenda. **19**, 331.
74. — 1909: Über die Rolle des Lichtes bei d. Eiweißbild. i. d. Pflanzen. Ebenda. **27**, 56—62.
75. Zimmermann 1893: Beitr. zur Morphologie u. Physiologie der Zelle. H. 1, 1891. H. 2, 1893. Tübingen.



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Botanik](#)

Jahr/Year: 1924

Band/Volume: [16](#)

Autor(en)/Author(s): Ullrich Hermann

Artikel/Article: [Die Rolle der Chloroplasten bei der Eiweißbildung in den grünen Pflanzen. 513-562](#)