Eiweißstoffwechsel und Vergilben der Laubblätter von Tropaeolum majus.

Von **Arthur Meyer.**

(Mit 17 Abbildungen im Text.)

1. Die Farbenänderungen, welche die Laubblätter der normal vegetierenden Pflanze von dem Zustande des Ausgewachsenseins bis zu ihrem Tode erleiden.

Die Pflanzen von Tropaeolum majus, welche zu dieser Arbeit benutzt wurden, waren meist unter Glas, im Kasten, in Töpfen aus Samen gezogen worden und wurden im Versuchsgewächshaus weiter kultiviert, sobald sie ungefähr sechs ausgewachsene Blätter besaßen. Es wurden meist Pflanzen einer Rasse benutzt, deren Hauptsproß sein Wachstum bald einstellte; nur solche mit rein grünen Blättern wurden verwendet. Gewöhnlich wurde der Hauptsproß der Pflanzen aufrecht an einen Stab gebunden und für die fortgesetzte Entfernung der Zweige und Blüten Sorge getragen. Außer den im Topfe gewachsenen Pflanzen wurden in einigen Fällen auch abgeschnittene Sprosse im Freien erwachsener Pflanzen benutzt.

Die schildförmigen, mehr oder weniger durch Wachs bereiften Blätter sind auf der Unterseite stark, auf der Oberseite fast nur auf den Nerven behaart. Sie haben 10 Hauptnerven, von denen die fünf nach der Spitze strahlenden stärker, die nach der Basis strahlenden schwächer sind. Zwischen den Hauptnerven bilden Zweige von ungefähr fünf Größenordnungen ein Netz von immer feiner werdenden Maschen. Die Mediane teilt das Blatt in zwei Hälften, die sich bei der Verfärbung manchmal etwas selbständig verhalten. Die Epidermen der beiden Blattseiten führen Spaltöffnungen und zahlreiche Zellen, welche Schleim enthalten und sich daher mit Methylenblauglyzerin färben. Das Mesophyll besteht aus einer einfachen Palisadenschicht und einem dreischichtigen Schwammparenchym.

Die Laubblätter werden nicht abgeworfen und welken an der Achse. Eine Trennungsschicht wird nicht gebildet. Die gewelkte Spreite ist im trocknen Zustande brüchig.

Wir wollen in diesem Abschnitt zuerst den Verlauf der Verfärbung der Blätter kennen lernen, wie ihn eine möglichst normal im Gewächshause kultivierte Topfpflanze zeigt.

An jedem Blatte kann man nacheinander folgende Färbungen auftreten sehen, die wir meist mit den beigesetzten Abkürzungen bezeichnen werden:

dunkelgrün (dgr)
grün (gr)
hellgrün (hgr),
manchmal gelbgrün (gegr)
gelb (ge)
hellgelb (hge);
schließlich welkt (w) das Blatt.

Der Name dunkelgrün soll zuerst nur das relativ tiefste Grün bezeichnen, welches an den Blättern eines normal wachsenden rein grünen Individuums auftritt, aber wenn man reingrüne Pflanzen aussucht, so ist allermeist das eben ausgewachsene Blatt schön dunkelgrün. Das Verblassen von dunkelgrün nach hellgrün hin geht ganz allmählich vor sich, so daß keine scharfe Grenze zwischen den verschiedenen grünen Zuständen besteht; doch sind bei direkter Vergleichung der Blätter einer Pflanze die Bezeichnungen für die Abgrenzung der gut entwickelten Färbungen zu brauchen.

Wie wir sehen werden, ist das Hellerwerden des Grüns wahrscheinlich zuerst auf eine Verminderung des ergastischen Eiweißes der Chloroplasten und die damit verbundene Abnahme des Chlorophyllfarbstoffes zurückzuführen. Der gelbe Stich, den das Grün annimmt, wenn es sehr hell wird, hängt dann wahrscheinlich damit zusammen, daß die gelben Farbstoffe sich nicht entsprechend der Abnahme des Volumens der Chloroplasten vermindern, sondern liegen bleiben. Wir werden das nur völlig verstehen können, wenn wir die späteren Kapitel studiert haben. Die Chloroplasten enthalten, wie wir wissen, zwei grüne Farbstoffe, das blaugrüne Chlorophyll a (Willstätter) von der Formel $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ und das gelbgrüne Chlorophyll b (Willstätter) $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$, ferner Karotin ($C_{40}H_{56}$) und zwei Xanthophylle ($C_{40}H_{56}O$). Die grünen Farbstoffe überwiegen stets. Das Verhältnis des Chlorophylls (a + b) zu den gelben Pigmenten (Karotin + Xanthophyll) in

Molen ausgedrückt, ist im Mittel der Bestimmung 3,56, bei Lichtblättern 3,07, bei Schattenblättern 4,68. Gewöhnlich findet sich doppelt soviel Xanthophyll wie Karotin.

Vielleicht bleiben die gelben Farbstoffe wesentlich unverändert in den gelb gewordenen Blättern zurück. Eine sichere Entscheidung wäre dadurch zu treffen, daß man gleiche Blattflächen dunkelgrüner und dunkelgelber oder gelbgrüner Blätter von Tropaeolum gleich nach der Methode von Willstätter und Stoll (1913, pag. 99) behandelte und die gelben Auszüge kolorimetrisch und spektroskopisch direkt vergliche.

Die Verfärbung von dgr zu ge geht auch bei ganz intakten Blättern, von denen wir hier allein reden, bis zuletzt nicht gleichmäßig vor sich. Bestimmte Stellen der Spreite oder sogar bestimmte Einzelzellen einer Spreitenstelle, gehen meist in der Verfärbung voraus. Letzteres ist z. B. der Fall, wenn gelbgrüne Färbungen auftreten. Gewöhnlich bleiben die Blätter bis zum Eintreten von hgr Färbungen gleichmäßig gefärbt, dann tritt bei kräftig wachsenden Pflanzen in der Mitte der Maschen, welche die gröberen Nerven bilden, eine hellgrüne, dann gelb werdende Färbung ein, während um die gröberen Nerven das gr oder hgr länger erhalten bleibt, so daß im Zentrum des Blattes, wo die Hauptnerven zusammenlaufen, das Grün zuletzt verschwindet. Es ist diese Verfärbungsweise schon von Stahl charakterisiert worden (1909, pag. 132 und Swart 1914, pag. 71). Wir wollen solche Blätter gegebenenfalls als hellgrün- oder gelb-fleckig (hgr- oder ge-fl) bezeichnen. Selten kommt es bei an der Pflanze sitzenden Blättern, häufiger bei abgeschnittenen, auf Wasser liegenden Blättern vor, daß ein Blatt am Rande und um die Nerven herum verhältnismäßig früh hgr oder ge wird. Nur bei sehr langsam wachsenden Pflanzen findet man ein ganz gleichmäßiges Hgr- oder Ge-werden.

Der folgende Versuch soll als Beispiel für den Verlauf der Verfärbung der Blätter einer im Lichte wachsenden Tropaeolumpflanze dienen.

Versuch 1.

Eine nicht kletternde, im Gewächshaus gezogene Pflanze, von welcher Zweige und Blüten dauernd entfernt wurden. Die Hauptachse war bei Beginn des Versuches 13 cm, nach Beendigung desselben 41 cm lang. Es waren bei Beginn des Versuches sechs erwachsene Blätter vorhanden, deren oberstes mit 1 bezeichnet wird. Die Pflanze wuchs nach und nach langsamer, so daß die neu hinzukommenden Blätter immer kleiner wurden.

Blatt	9. VII.	13. VII.	16. VII.	20. VII.	25. VII.	5. VIII.	14. VIII.	18. VIII.	19. VIII.	20. VIII.	31. VIII.
1	dgr	dgr	dgr	dgr	gr	gr-hgr	hgr-fl	hgr	hgr	sehr hgr	ge
2	dgr	dgr	dgr	gr	hgr	hgr	hgr-fl	hgr-fl	ge-fl	ge	
3	dgr	dgr	dgr	gr	hgr	gegr-fl	ge				
4	dgr	dgr	hgr	ge							
5	hgr	gegr	ge								
6	gegr	ge									

Mikroskopische Untersuchung des Blattes 1 am 20. VIII.

Die Palisadenzellen sind im Zustande a des gegr Blattes (s. Abschnitt 3), dabei sind die Chloroplasten über den Zytoplasmaschlauch völlig zerstreut. Ihre Farbe ist hell 3. Alle Sekrettröpfchen liegen noch in den Chloroplasten. Mit 23%iger Salpeterlösung gelang die Plasmolyse noch.

Mikroskopische Untersuchung des Blattes 2. Rein gelbe Stelle.

Die Chloroplasten fast in allen Zellen zerfallen; nur in einzelnen noch völlig gelbe, unzerfallene Chloroplasten. Plasmolyse tritt nicht mehr ein. Zwischen den beiden untersuchten Zuständen liegt höchstens ein Zeitraum von 12 Stunden.

Der Versuch lehrte, daß ein Blatt um so früher gelb wurde, je älter es war. Blatt 6 brauchte ungefähr 4, 5 = 7, 4 = 11, 3 = 36, 2 = 41, 1 = 52 Tage. Die starke Verlangsamung bei dem ersten Blatte rührte von dem zuletzt sehr verlangsamten Wachstum her. Alle Blätter durchlaufen dieselbe Skala von Färbungen. Im allgemeinen verläuft die Verfärbung bei gut wachsenden Pflanzen so, daß ein Blatt vom Zustande des Ausgewachsenseins bis zum Welken nach diesem und später mitzuteilenden Versuchen ungefähr 25 Tage dgr, 6 Tage gr, 12 Tage hgr und 3 Tage ge genannt werden kann. Der Umschlag von hgr zu ge geht in einer Blattstelle relativ schnell vor sich.

2. Die makroskopische Xanthoproteinreaktion und die Färbung der lebenden Blätter.

Molisch (1916) wandte die Xanthoprotein-, die Millon'sche- und die Biuret-Reaktion nach dem Vorbilde der Sachs'schen Jodprobe auf ganze Pflanzenorgane, vorzüglich auf Blätter an. Die Methoden sind wegen des Vorkommens störender Substanzen nicht mit allen Blättern ausführbar, für die Tropaeolumblätter aber, wie Molisch zeigt, sehr geeignet.

Ich führte die makroskopische Xanthoproteinreaktion, die ich allein verwendete, im wesentlichen wie Molisch aus, nur ließ ich das mindestens überflüssige Abkochen der Blätter weg. Die zu prüfenden Blätter wurden bis zur Entfärbung mit siedendem Alkohol von 80% behandelt, dann

4 Stunden in Salpetersäure von 16,5 % eingelegt, schnell mit Wasser abgespült und 10 Minuten lang in Ammoniak von 3,3 % gebracht. Mit einem weißen Kartonstückchen wurden die Blattstücke aufgefischt und auf diesem weißen Grunde betrachtet. Die Farbenprüfung wurde sofort vorgenommen, doch erhielt sich die Färbung gut, wenn man die Kartonstücke mit den Blattstücken in eine Doppelschale legte, auf deren Boden sich etwas 3,3 %iges Ammoniak befand.

Zur Beurteilung der Färbung wurde in folgender Weise eine Farbenskala hergestellt, auf welche sich alle unsere Angaben beziehen. Auf einem weißen Karton wurde durch wiederholtes Auftragen einer transparenten Anilinfarbe ein gelber Strich hergestellt, welcher die Färbung der dunkelsten Xanthoproteinreaktion, welche mit Blättern von Tropaeolum erhalten werden konnte, besaß und mit 5 bezeichnet wurde. Ferner wurde die Reaktion mit einem hellgelben Blatte, welches kurz vor dem Welken stand, angestellt und ein entsprechend gefärbter Strich aufgetragen. Seine Farbe war fast weiß, nur durch Vergleichung mit einem ganz weißen Karton als gelblich zu erkennen. Er wurde als 1 bezeichnet. Zwischen beiden Strichen wurden drei Farbenstriche angebracht, welche Übergänge zwischen 1 und 5 bildeten. Die fünf Farbenstriche bildeten die Farbenskala 1—2—3—4—5, mit welcher die bei der Reaktion erhaltenen Färbungen verglichen wurden. Neben dieser Vergleichung ist die der durch die Reaktion gefärbten Blattstücke unter sich von allergrößter Bedeutung. Man kann dann noch relativ feine Unterschiede feststellen.

Wie schon Molisch erkannte, gibt ein ausgewachsenes Laubblatt dieselbe Xanthoproteinfärbung, wenn man ein Stück desselben morgens und wenn man ein Stück desselben abends untersucht, nachdem kräftige Assimilation stattgefunden hat. Molisch erklärt sich dieses folgendermaßen (pag. 131): „Der Umstand, daß der größte Teil des Eiweißes seinen Sitz in den Chromatophoren hat, ist auch der Grund, warum man Schwankungen im Eiweißgehalt eines grünen Blattes nicht angezeigt erhält; es ist eben mit dem Stroma der Chromatophoren schon so viel Eiweiß gegeben, daß man immer ein gutes positives Resultat erhält, und Änderungen in der Proteinmenge in der Zelle nicht erkannt werden können."

Molisch hält darnach die Eiweißmenge des „Stromas" für unveränderlich. Außerdem ist es klar, daß „ein gutes positives Resultat" das Auftreten von Unterschieden in der Färbung nicht ausschließt. Es werden bei derartigen Versuchen entweder gar keine Differenzen im Eiweißgehalt der Blätter geschaffen, oder es kommen

nur so kleine zustande, daß sie wegen der ungenügenden Empfindlichkeit der makrochemischen Xanthoproteinreaktion nicht nachgewiesen werden können. Daß die zweite Möglichkeit zutrifft, werden wir später sehen.

Trotzdem die Reaktion nicht so hervorragend empfindlich ist, kann man mit ihr zeigen, daß die Blätter, je nach ihrem Alter und der diesem Alter entsprechenden Färbung der Spreite, einen verschiedenen Eiweißgehalt besitzen. Im allgemeinen zeigte es sich, wie die aus den Versuchsprotokollen entnommenen Zahlen demonstrieren, daß den von uns unterschiedenen und geschätzten Färbungen, welche die Blattspreiten während des Alterns annehmen, folgende Grade der Gelbfärbung entsprachen:

Normal beleuchtete ausgewachsene Blätter.

Blattfarbe	Xanthoproteinreaktion
dgr	5—4 4
gr	4 3—4 3 3—4
hgr	3 3 3 3 2—3
gegr	2—3 2—3 2—3
ge	2 2 2 2
hege	1 1—2

Verdunkelte Blatthälften.

dgr	4 4 3—4 3—4 3
gr	3 3 3 3 3—4
gegr	2—3 2—3
ge	2 2 1—2
hege	1 1

Es entspricht also durchschnittlich der Färbung eines Blattes eine bestimmte Gelbfärbung der Xanthoproteinreaktion und zwar die gleiche bei den im Lichte gewachsenen und den dauernd verdunkelten Blättern. Wir sehen auch, daß schon die verschiedenen Pflanzen entstammenden, als dgr, gr, hgr bezeichneten Blätter, also die immerhin noch als gr anzusehenden, so deutliche Unterschiede der Reaktion zeigen, daß wir sie bei Vergleichung mit unserer Farbenskala entdecken.

Die Tatsache, daß an einem Sprosse aufeinander folgende, noch grüne Blätter, die sich also nur wenig durch Farbe und Alter unterscheiden, sich bei direkter Vergleichung der Xanthoproteinreaktion als verschieden eiweißreich erkennen lassen, demonstrieren die nachfolgenden Versuche:

Versuch 2.

Ein im Freien gewachsener blühender Zweig wurde am 9. VIII. mittags 12 Uhr geerntet. Einige Blätter wurden der Xanthoproteinreaktion unterworfen; von allen wurde die Farbe notiert. In der Tabelle sind die noch nicht ausgewachsenen Blätter des Sprosses mit a—d bezeichnet, die ausgewachsenen mit Zahlen.

	2 ganz kleine Blätter	Farbe	Xanthoproteinreaktion
a		gr	
b	3,2 cm Durchmesser	gr	4—5
c		gr	
d	5 cm Durchmesser	gr	4—5
1	5,5 cm Durchmesser	dgr	
2		dgr	4
3		dgr	
4		dgr	
5		dgr	
6	6,4 cm Durchmesser	dgr	4
7		dgr	
8		dgr	
9		halb dgr, halb hgr	3—4 der dgr Teil
10		dgr	
11		gr	
12		gr	3—4
13		dgr	
14		gr-hgr	3
15		gr-gegr	2—3
16		hgr	3
17		ge	1—2
18		hgr-gegr	
19		gegr	2—3

Versuch 3.

Ein am 14. VIII. nachmittags 5 Uhr geernteter Sproß einer in einem Kasten auf einem sonnigen Balkon gewachsenen Pflanze. Von den neun unausgewachsenen Blättern des Sprosses ist nur das älteste in die Tabelle aufgenommen und mit f bezeichnet worden.

Blatt	Farbe	Xanthoproteinreaktion
f	gr	3—4, fast 4
1	gr	3—4, bei direktem Vergleich eine Spur heller als f
2	gr	3—4, eine Spur heller als 1
3	gr	3—4, eine Spur heller als 2
4	gr	3—4, wie Blatt 3
5	gr	3—4, wie Blatt 3
6	gr-hgr	3
7	gr-hgr	3, wie Blatt 6
8	hgr	2—3
9	ge	
10	ge	
11	hellge	

Es zeigt sich also, daß wir mittels der makroskopischen Xanthoproteinreaktion schon bei den grünen Blättern einer Pflanze allermeist Unterschiede zwischen den verschieden alten Blättern feststellen können.

Die Reaktion zeigt wohl sicher Eiweiß an; Molisch hat ja neben ihr und der Millon'schen Reaktion auch die Biuret-Reaktion in gleichsinniger Weise an den Tropaeolumblättern erhalten.

Da Molisch keine eingehende Beschreibung des mikroskopischen Bildes einer nach der Xanthoproteinreaktion behandelten Zelle gibt, die uns über den Sitz des reagierenden Eiweißes in der Zelle genau unter-

richtet, habe ich, wie wir sehen werden, die Palisadenzellen des Tropaeolumblattes unter Berücksichtigung aller eiweißhaltigen Formelemente der Zelle untersucht. Wie schon Molisch annahm, sitzt das reagierende Eiweiß ganz wesentlich in den Chloroplasten. Ergastische, aus Eiweißstoffen bestehende Gebilde kommen in den Chloroplasten von Tropaeolum nicht vor. Kern und Nukleolen beteiligen sich an der Hervorbringung der Färbung nur wenig, ebenso das Zytoplasma und gewöhnlich die Allinante. Die Unterschiede im Eiweißgehalte der Blätter, welche wir mit der makroskopischen Xanthoproteinreaktion nachweisen, sind daher ganz wesentlich durch den Gehalt der Chloroplasten an ergastischem Organeiweiß der optisch homogenen Substanz der Chloroplasten bedingt. Aber für den makrochemisch bestimmbaren Stickstoff- und Phosphorsäuregehalt der Blätter sind die Eiweißstoffe des Kernes, der Nukleolen, des Zytoplasmas und der Allinante keineswegs ohne Bedeutung.

Unsere Reaktion zeigt also schon eine Verminderung des Eiweißes der Chloroplasten während des Alterns der noch grünen Blätter an. Es ist von Interesse für uns, daß sich das makroskopisch mittels der Xanthoproteinreaktion nachgewiesene Eiweiß ähnlich verhält wie der makrochemisch bestimmte Eiweißstickstoff. Schultze und Schütz (1909, pag. 325) bestimmten den Gehalt der Blätter von Acer Negundo an Eiweißstickstoff in verschiedenen Monaten und fanden für 200 Blätter ungefähr gleicher Größe in Grammen (Mittelwert):

7. V.	0,64
6. VI.	0,96
5. VII.	1,2
2. VIII.	0,78
3—6. IX.	0,81
25. IX.	0,50

Dabei muß man allerdings berücksichtigen, daß die 200 Blätter keine ganz konstante Größe sind, sowohl wegen der nicht genau festgestellten Größe der Einzelblätter als wegen deren nicht ganz gleichen Alters an den Zweigen.

Wir haben also gesehen, daß die Abnahme der grünen Färbung der Laubblätter sowie das Hervortreten der gelben Färbung und die Abnahme des Eiweißgehaltes der Blätter beim Altern ungefähr parallel gehen und daß wir so aus der Färbung des Blattes einen ungefähren Schluß auf den Eiweißgehalt desselben bei einer Pflanze machen können.

Der hauptsächliche Grund für diese Tatsache liegt, wie wir in dem 3. Abschnitte sehen werden, darin, daß gleichzeitig mit der Abnahme des in den Chloroplasten vorkommenden ergastischen Eiweißes das ergastische Chlorophyll der Chloroplasten mehr und mehr schwindet

3. Mikroskopische Untersuchung der Palisadenzellen des Laubblattes von Tropaeolum majus, vom ausgewachsenen Zustande bis zum Absterben.

In Abschnitt 1 haben wir gesehen, daß man die aufeinander folgenden Färbungen dgr, hgr, gegr, ge, hge unterscheiden kann. Wo diese deutlich ausgeprägt an einer Pflanze beobachtet werden, entspricht jeder derselben ein besonderes mikroskopisches Bild. Wenn wir nun in diesem Abschnitte den Bau der Palisadenzelle eines dgr, hgr, gegr, hge Blattes schildern, so haben wir die wichtigsten Veränderungen, welche die Palisadenzelle zeigt, festgelegt und können uns die dazwischen liegenden Verhältnisse leicht konstruieren. Wir wissen dann, wie sich die Palisadenzellen, überhaupt die Mesophyllzellen, des vergilbenden Blattes vom ausgewachsenen Zustande bis zum Tode des Laubblattes verhalten.

Dunkelgrünes Blatt.

Die makroskopische Xanthoproteinreaktion ergab die Färbung 4. Stärke fand sich in den Chloroplasten in geringer Menge.

In Wasser liegende lebende Palisadenzelle.

Die Zellen waren ungefähr 50—60 μ lang und 10—15 μ breit.

Die Farbe der Chloroplasten der lebenden Palisadenzelle wurde nach einer Farbenskala bestimmt, die folgendermaßen hergestellt wurde: Mit G. Wagner's Aquarellfarben wurde ein Gemisch von Saftgrün und Dunkelchromgelb hergestellt, dessen Farbe der Farbe der Chloroplasten entsprach, wie wir sie mit Apochromat 2 mm, Apert. 1,3 von Zeiss und Kompensationsokular 12 bei halb geöffneter Blende sahen. Es zeigte sich, daß sehr viel Chromgelb mit wenig Saftgrün zu mischen war. Ferner wurde die Farbe der freien Tropfen der vollständig toten Laubblätter festgestellt und als reines Chromgelb bestimmt. Zwischen diesen beiden Endfarben wurden ferner drei Gemische von Saftgrün und Chromgelb ein-

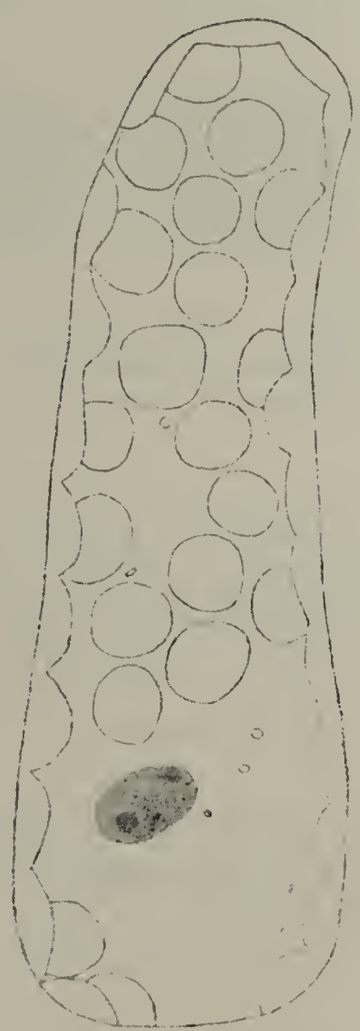


Fig. 1. Skizze einer Palisadenzelle eines dgr Blattes von Tropaeolum majus mit Kern, Chloroplasten, Allinanten. Chloroplasten und Allinante gehören der Zelle an, welche mit der Zellmembran nach einem in Wasser liegenden Präparate gezeichnet ist. Der Kern ist nach einem mit Osmiumsäure und Jod versetzten anderen Präparate eingezeichnet.

geschoben. So entstand eine Reihe von fünf Färbungen, von denen das Grün mit 1, das Dunkelchromgelb mit 5 bezeichnet wurde. Die Farbe der Chromatophoren des dgr Blattes ist also mit 1 zu bezeichnen.

Die Chloroplasten enthielten in dem grün gefärbten, optisch homogenen Stroma relativ kleine, schwer erkennbare Tropfen von Assimilationssekret (Arthur Meyer 1917), die kaum merklich stärker lichtbrechend, wie es schien, selbst unter Umständen ein wenig schwächer lichtbrechend waren, als das verhältnismäßig stark lichtbrechende Stroma, welches sein Lichtbrechungsvermögen unter Umständen zu ändern schien. Man konnte nicht unterscheiden, ob die Ante des Sekretes farblos oder grün seien.

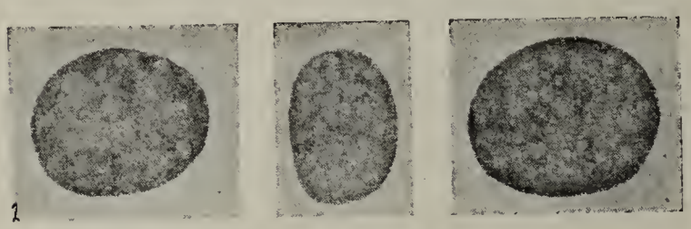


Fig. 2. Chromatophoren aus den in Wasser liegenden Palisadenzellen des dgr Blattes. Apochromat 2 mm, Apert. 1,30 mm. Okular 12. Vergr. 2600.

In Fig. 2 sind die Chloroplasten bei mittlerer Blendenstellung und etwas hoher Einstellung dargestellt. Der Durchmesser der von oben gesehen ungefähr kreisförmigen Chloroplasten war: kleinster Durchmesser = 4,5 μ, Mittelwert aus 40 Messungen = 5,8 μ, größter Durchmesser 7 μ. Die Kerne erkennt man selten. Allinante sieht man als rundliche oder etwas gestreckte, etwas stärker als das Zytoplasma das Licht brechende, verhältnismäßig leicht verquellende Ante.

Osmiumsäure.

Zu einem Schnitte mit intakten Palisadenzellen wurde während der Betrachtung 2 %ige Osmiumsäure gegeben. In dem Stroma der sich, wie Fig. 3 zeigt, etwas kontrahierenden Chloroplasten traten die Sekrettropfen etwas deutlicher, wie es schien, dunkler geworden, hervor.

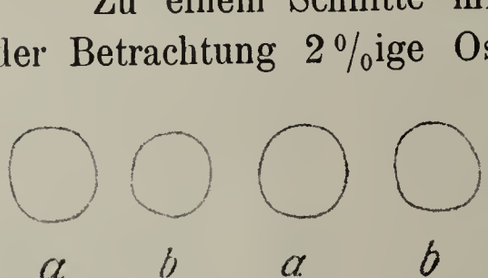


Fig. 3. *a* Umrisse eines Chloroplasten einer in Wasser liegenden Palisadenzelle. *b* Derselbe Chloroplast durch Osmiumsäure kontrahiert. Zeiss' Obj. $^1/_{12}$, Okul. 4. Vergr. 1300.

Das Zytoplasma erschien völlig homogen. Kerne und Allinante waren jetzt deutlich zu sehen, vorzüglich, wenn man etwas Jodjodkalium zusetzte, welches beide Dinge gelb färbt.

Xanthoproteinreaktion plasmolysierter Zellen.

Das dgr Blatt einer Pflanze, welche zur Entfernung der Stärke 3 Tage in schwachem Licht gestanden hatte, dann 1 Stunde in 5 %ige

Salpeterlösung im Vakuum plasmolysiert worden war, wurde mit siedendem Alkohol entfärbt und zur Herstellung von Schnitten benutzt.

Diese wurden 1 Stunde in 16,5%ige Salpetersäure gelegt und zeigten mit Apochromat 2 mm, Apert. 1,3 von Zeiss und Kompensationsokular 8 oder 12, welche Optik stets benutzt wurde, wenn es sich um Entscheidungen über mikroskopische Färbungen handelte, die Chromatophoren sehr deutlich gelb gefärbt. Diese grenzen sich sehr gut von dem in seiner Substanz anscheinend schwächer als die Chloroplasten gefärbtem Zytoplasma ab und erscheinen, wahrscheinlich durch die Höhlchen der herausgelösten Sekrettropfen, punktiert. Die Kerne sind viel schwächer gelb gefärbt als die Chloroplasten, die Kernkörperchen noch schwächer als die Kerne. Die Allinante sind gelblich. Setzt man zu den Präparaten 0,25%iges Ammoniak, so werden die Elemente dunkler und bräunlich gefärbt, das Bild wird aber im allgemeinen unklarer. Die nur noch sehr dünnen Membranen, von denen sich der Protoplast abgehoben hat, sind farblos. Liegen Stärkekörner in den Chloroplasten, so findet man sie angegriffen und sieht am Orte derselben helle Stellen in den Organen.

Millon's Reagens.

Legt man die mit Alkohol extrahierten Schnitte 1 Stunde auf dem Objektträger in Millon's Reagens unter Deckglas, so werden die eiweißhaltigen Organe und ergastischen Gebilde noch deutlicher als mit Salpetersäure gefärbt und schön braunrot.

Eisessig + 15% Wasser.

Setzt man die (so 81%ige) Essigsäure zu einer stärkefreien Palisadenzelle, so sieht man die Chloroplasten homogen werden und das Sekret in Tröpfchen austreten; dann entfärben sich Chloroplast und Tröpfchen völlig, und die Sekrettröpfchen treten scharf hervor.

Eisessig.

Wird er zu den möglichst trocken liegenden, lebenden Palisadenzellen zugesetzt, so treten schnell dieselben Reaktionen ein, nur werden die Tropfen, meist unter geringer Anschwellung, gelöst.

Chloralhydrat (2 + 5).

Verhält sich wie Eisessig; es löst das Sekret in unverdünntem Zustande und löst es nicht, sobald das Reagens durch Aufnahme von Wasser etwas verdünnt wird.

Bendafixage und Heidenhains Färbemethode.

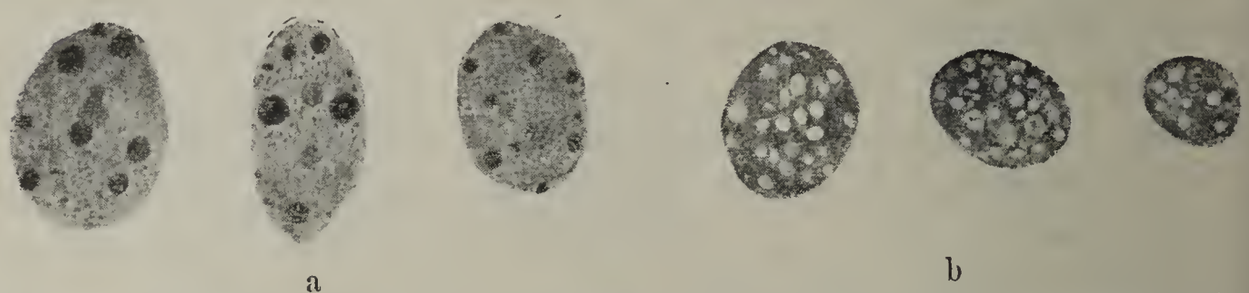
(Arthur Meyer, Erstes mikroskop. Praktikum, pag. 197, 198 u. 200).

Blattstückchen kamen 5 Tage in Bendafixage usw.; die Schnitte wurden dann nach Heidenhain 2 Tage gebeizt, 2 Tage gefärbt und 5—10 Minuten differenziert.

Passend differenzierte Stellen zeigten die dunkelgefärbten Chloroplasten mit farblosen Stellen, den Höhlchen, aus welchen die mehr oder weniger flach gedrückten Sekrettropfen herausgelöst waren.

Die Nukleolen der Kerne halten den Farbstoff relativ fest.

Größe der gefärbten Kerne: Mittel des Durchmessers aus je 20 Messungen: kleinster Durchmesser 4,7 μ, größter 7,0 μ.



a b

Fig. 4. a Kerne und b Chromatophoren aus der Palisadenzelle von Tropaeolum mit Benda fixiert und nach Heidenhain gefärbt. Kompens. Okular 12, Apochr. zum Apert. 1,3. Vergr. 2600.

Kleinster der gemessenen Kerne: kleiner Durchmesser 3,7 μ, größter Durchmesser 5,4 μ. Größter der gemessenen Kerne: kleiner Durchmesser 6,5 μ, großer Durchmesser 8,0 μ.

Hellgrünes Blatt.

An einem Sprosse, welcher eine Reihe Blätter besitzt, die Übergänge von dgr bis hgr in Form von gr Blättern trägt, läßt sich zeigen, daß die Chromatophoren der Blattreihe keine direkt auffälligen Unterschiede aufweisen. Mit der Eisessig + 15 % Wasser-Reaktion findet man nun leicht, daß die Sekrettröpfchen aus den Chromatophoren der gr Blätter etwas reichlicher austreten als aus denen der dgr Blätter. Sehr deutlich treten aber die Unterschiede zwischen den dgr und hgr Blättern hervor.

Das hgr Blatt besaß um 12 Uhr mittags noch Stärke in den Palisadenzellen. Die makroskopische Xanthoproteinreaktion ergab fast die Färbung 3.

Wasser.

Die Farbe der Chloroplasten ist 2—3, also noch relativ kräftig blaß gelbgrün. Der Durchmesser der gleichförmig über die Seitenwände verteilten Chloroplasten beträgt: Durchschnitt 4,2 μ, kleinster Durchmesser 2,9 μ, größter 6,2 μ. Der Chloroplast umhüllt, wie Fig. 5 zeigt, die in der Flächenansicht des Chloroplasten sehr deutlichen

Sekrettropfen. Man sieht, daß sie die Substanz der Chloroplasten noch nicht vorwölben und dieser deshalb noch glatte Konturen besitzt.

Tropfen, die durch Zusammenfließen von Sekrettröpfchen entstanden sein könnten, finden sich noch nicht im Zytoplasma.

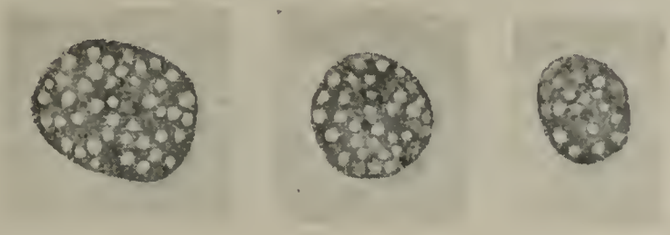


Fig. 5. Drei lebende Chloroplasten aus den Palisadenzellen eines hellgrünen Blattes. Apochromat 2 mm, Apert. 1,3, Kompens.-Okular 12. Vergr. 2600.

Osmiumsäure.

Die Sekrettropfen in den Chloroplasten färben sich graubraun. Nach Jodjodkaliumzusatz tritt der Kern gut hervor (Fig. 6).

Eisessig + 15% Wasser.

Die Sekrettropfen lösen sich nicht.

Kalilauge, 33%ige.

Die Sekrettropfen lösen sich nicht.

Bendafixage und Eisenhämatoxylinfärbung.

Die Sekrettröpfchen sind von einer noch ziemlich dicken Eiweißschicht umhüllt. Die Chloroplasten halten die Farbe weniger stark zurück als der Kern, welcher die Nukleolen leicht erkennen läßt. Vereinzelt finden sich im Zytoplasma dunkle Ante, welche Allinante sein können.

Größe der gefärbten Kerne im Mittel: großer Durchmesser 5,9 μ, kleiner 5,0 μ. Größter Kern: kleiner Durchmesser 5,6 μ, großer 7,7 μ. Kleinster Kern: kleiner Durchmesser 3,8 μ, großer 3,8 μ.

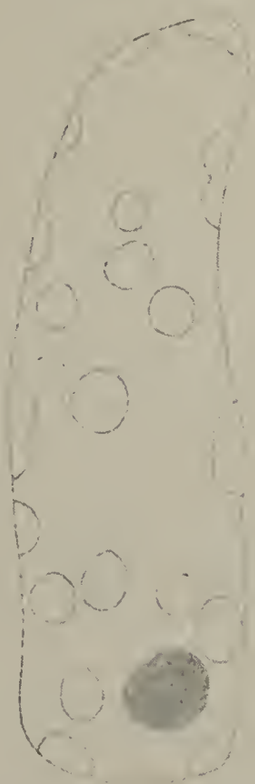


Fig. 6. Skizze einer Palisadenzelle eines hellgrünen Blattes nach Zusatz von 2% Osmiumsäure. Kern aus einer anderen in Osmiumsäure liegenden Zelle, nach Zusatz von Jodkalium, eingezeichnet. Objektiv $^1/_{12}$ (Ölimmersion von Zeiss). Vergr. 1300.

1 Vol. gesättigte Kalilauge + 1 Vol. 25%iges Ammoniak.

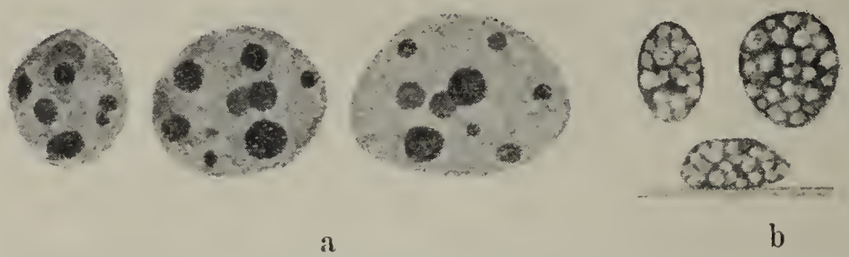
Verändert das Sekret nicht. Fettropfen bilden Kristalle.

Rauchende Salpetersäure.

Wird ein Schnitt mit dem Reagens mittels Harzes unter Deckglas eingeschlossen und 3 Tage liegen gelassen, so erscheinen die Sekrettropfen schaumig oder blasig. Fettropfen werden nicht verändert.

Gelbgrünes Blatt.

Die makroskopische Xanthoproteinreaktion ergab die Färbung 2. Man unterschied in den Schnitten Zellen von zwei verschiedenen Zuständen der Vergilbung, zuerst solche im Zustand a, wo die Chloroplasten noch auf den Zellwänden gleichmäßig zerstreut sind und die Farbe der Chloroplasten ungefähr mit 3 bezeichnet werden kann. Dem gegenüber stehen die Zellen, die sich im Zustand b befinden, bei dem alle oder die meisten Chloroplasten um den Kern versammelt sind und die Farbe 4 zeigen. Der Zustand b ist aus dem Zustand a entstanden, und zwischen beiden findet man selbstverständlich Übergänge.



a b

Fig. 7. a Kern, b Chloroplasten aus den Palisadenzellen eines hellgrünen Blattes. Bendafixage, Färbung mit Eisenhämatoxylin. Apochr. 2 mm, Apert. 1,3, Kompensationsokular 12. Vergr. 2600. Die beiden hellen Stellen mit dem schwarzen Punkte in der Mitte sind durch einen Fehler des Klischees verursacht.

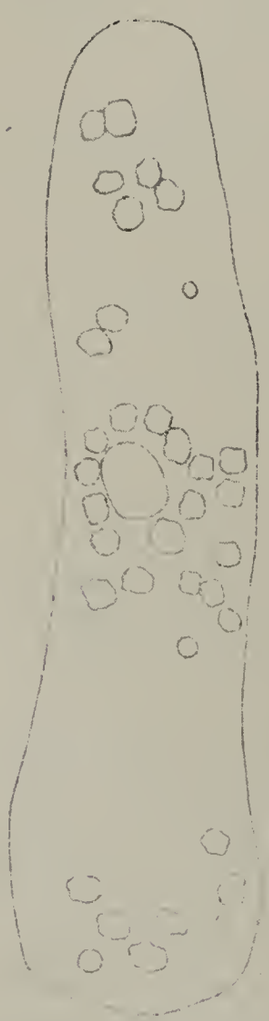


Fig. 8. Skizze des Zustandes b der Palisadenzellen des gelbgrünen Blattes, in 2%iger Osmiumsäure liegend. Objektiv $^1/_{12}$ Ölimmersion. Zeiss' Okul. 4. Vergr. 1300.

Zustand a.

Wasser.

Die Empfindlichkeit der Chloroplasten gegen Wasser ist so groß wie bei den früheren Zuständen. Der Durchmesser der Chloroplasten beträgt 3—3,5 μ. Wie man vorzüglich gut bei seitlicher Lage der Chloroplasten sieht, umhüllt die Masse des Chloroplasten die Sekrettropfen noch vollkommen, welche die anscheinend gefärbte Chloroplastensubstanz kaum vorwölben. Die Feststellung, ob Sekret oder Chloroplastenmasse gefärbt ist, ist auch hier noch schwierig.

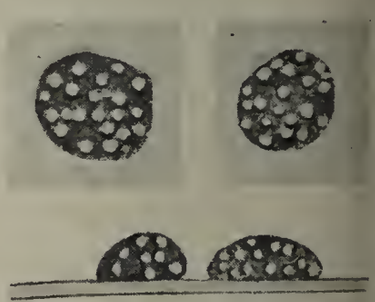


Fig. 9. Gelbgrünliche Trophoplasten der Palisadenzellen der gelbgrünen Blätter, welche sich im Zustande a befinden. Apochr. 2 mm, Apert. 1,3, Kompens.-Okul. 12. Vergr. 2600.

Der Kern erscheint blaß, homogen, transparent. Nukleolen sind kaum zu erkennen. Allinante fehlen. Zytoplasma homogen.

Osmiumsäure.

Die Tröpfchen des Sekretes werden graubraun gefärbt. Nach Jodzusatz erscheint der Zellkern homogen, hellbräunlich, scharf begrenzt. Die Chromatophoren sind durch die Sekrettröpfchen höckerig.

Mikroskopische Xanthoproteinreaktion.

Die Trophoplasten kaum gelblich. Ebenso der Kern.

Millon's Ragens.

Färbung kaum erkennbar, doch etwas deutlicher als mit Salpetersäure.

Eisessig + 15% Wasser.

Sekrettropfen unlöslich.

Plasmolyse.

Sie gelang mit 20%iger Salpeterlösung.

Zustand b.

Wasser.

Die Chloroplasten haben die Farbe 4—5; ihr Durchmesser beträgt 2—3 μ. Sie enthalten nur noch ungefähr 5—10 Sekrettröpfchen, umhüllt von der geringen Menge Chloroplastensubstanz. In dem Zellsaft schwimmen schon einige mehr oder weniger gelblich gefärbte Sekrettropfen, die anscheinend aus den Chloroplasten ausgetreten sind.

Fig. 10. Gelbe Trophoplasten aus den in Wasser liegenden Palisadenzellen, die im Zustande b befindlich sind, aus dem gelbgrünen Blatte. Apochromat 2 mm, Apert. 1,3, Komp.-Okul. 12. Vergr. 2600.

Der Kern enthält einige Höhlchen, die auch schon im Zustande a hier und da vorkommen. Nukleolen sieht man nicht.

Mit Alkohol fixiertes Material in Wasser.

Die sehr kleinen Trophoplasten scheinen aus 3—6 unregelmäßigen Körnchen zu bestehen, die durch etwas homogene Masse verbunden sind. Das Bild klärt sich nach Zusatz von Jodjodkalium; die Chloroplasten erscheinen nun als Massen mit einem oder mehreren Höhlchen. Kerne meist noch mit schärferen Umrissen, aber höhlig.

Plasmolyse.

Sie gelang nicht mit 20%iger, wohl aber mit 50%iger Salpeterlösung. Der kontrahierte Zytoplasmasack enthielt einen stark licht-

brechenden Inhalt. Ist die Zelle ein wenig im Altern fortgeschritten, so tritt keine Plasmolyse mehr ein.

Osmiumsäure, Salpetersäure, Millon's Reagens wie bei Zustand a.

Bendafixage und Eisenhämatoxylinfärbung.

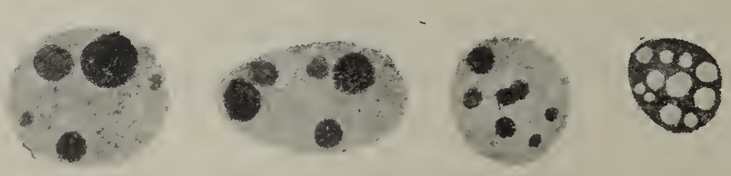
Zustand a. Man sieht die Höhlchen, welche die Sekrettropfen enthielten, schön. Die Sekrettropfen waren überall von der Chloroplastenmasse umhüllt. Stärkekörner der Chloroplasten können tief schwarz wie die Kerne gefärbt bleiben. Wo die Autoplasten gut differenziert sind, sind die Kerne tief schwarz. Bei stärkerer Differenzierung treten die Nukleolen gut hervor. Allinante sind nicht zu sehen.

Größe der gefärbten Kerne: Mittel der Durchmesser von 20 Kernen: kleiner Durchmesser 3,4 μ, großer Durchmesser 4,8 μ. Kleinster Kern: kleiner Durchmesser 2,1 μ, großer 4,0 μ. Größter Kern: kleiner Durchmesser 5,0 μ, großer 5,8 μ.

Zustand b. Die um die Kerne versammelten Chloroplasten sind nach der Differenzierung noch deutlich grau gefärbt, wenn der Kern fast schwarz erscheint.

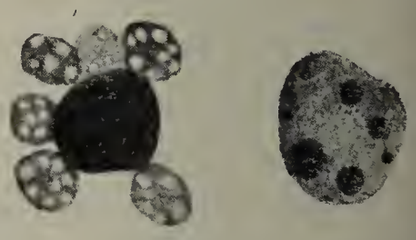
Die Nukleolen sind in stärker differenzierten Kernen noch gut zu sehen.

Größe der gefärbten Kerne: Mittel der Durchmesser von 20 Kernen: kleiner Durchmesser 3,7 μ, großer 4,0 μ. Kleinster Kern: kleiner Durchmesser 2,9 μ, großer 3,1 μ. Größter Kern: kleiner Durchmesser 4,8 μ, großer 5,6 μ.



a b

Fig. 11a u. b. a Kerne, b Chromatophor aus den im Zustande a befindlichen Palisadenzellen eines gelbgrünen Blattes. Bendafixage, Eisenhämatoxylin, Apochromat 2 mm, Apert. 1,3, Kompensationsokular 12. Vergr. 2600.



a b

Fig. 12. Chromatophoren und Kerne aus den im Zustande b befindlichen Palisadenzellen eines gelbgrünen Blattes. Bendafixage, Eisenhämatoxylin. a schwach differenzierter Kern mit den um ihn versammelten Chromatophoren. b stärker differenzierter Kern. Apochromat 2 mm, Apert. 1.3, Komp.-Okul. 12. Vergr. 2600.

Hellgelbes Blatt, kurz vor dem Vertrocknen.

Das Blatt ist fast völlig gleichmäßig hellgelb. Es gibt bei der makroskopischen Xanthoproteinreaktion die Farbe 1. Die Zellen sind

in nur ganz wenig verschiedenen Zuständen. Das Zytoplasma ist mehr oder weniger zerfallen. Man erkennt durch Vergleichung, daß die durch Eiweißabgabe zusammenschrumpfenden Chloroplasten die Tröpfchen des Sekretes mehr und mehr austreten lassen und daß sich dieses Sekret mehr und mehr im Zellsaft in Tropfen ansammelt. Die Tropfen fließen zusammen und sammeln sich an der oberen Spitze der Palisadenzellen, wenn das Blatt seine Unterseite nach unten kehrt, da ihre Substanz spezifisch leichter ist als Wasser.

Wasser.

Gelbe Tropfen verschiedener Größe schwimmen in der Zellflüssigkeit. Die Kerne erscheinen als relativ große, farblose und homogene Klumpen, die Chloroplastenreste als relativ kleine körnige Massen, wenn sie nicht von den Tropfen des Sekretes verdeckt sind, in dem die gelben Farbstoffe gelöst sind.

Osmiumsäure.

Färbt die Tropfen, die aus Sekret bestehen, in dem gelbe Farbstoffe gelöst sind, graubraun. Sind sie durch Osmiumsäure dunkel geworden, so lösen sie sich schwierig in Alkohol. Nach Zusatz von Jodjodkalium werden Kern und Chromatophorenreste gelb, die Tropfen dunkelbraun.

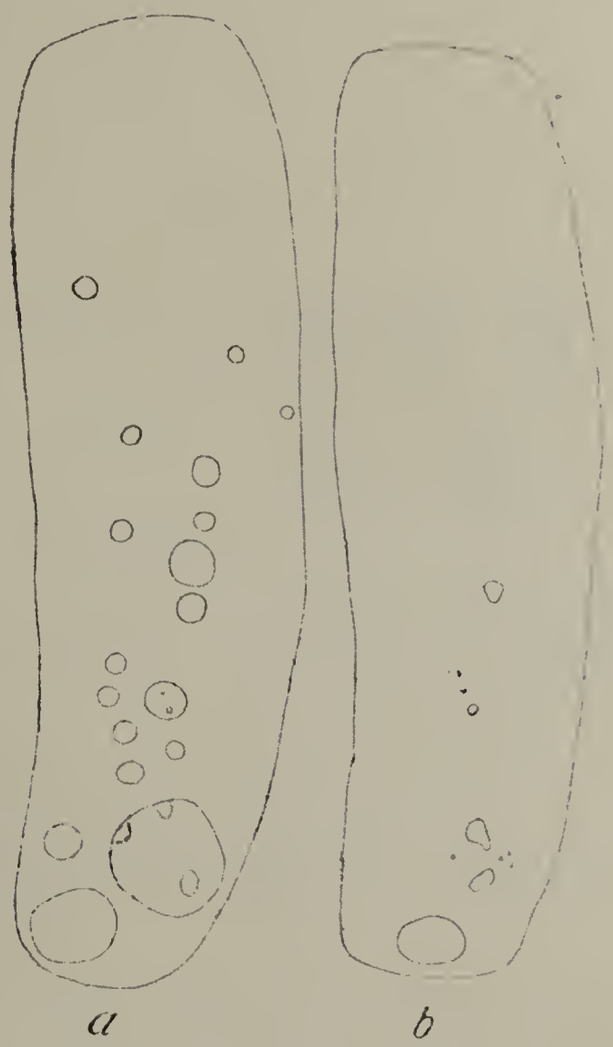


Fig. 13. Palisadenzelle aus einem gelben Blatte, welches zu welken beginnt. *a* Umriß einer in Wasser liegenden Zelle, mit Kernrest (vorderster Umriß unten links) und gelben Tropfen (alle übrigen Umrisse). Umriß derselben Zelle, nachdem die Tropfen durch Zusatz von absolutem Alkohol gelöst sind. Unten vorn der Umriß des kontrahierten Kernes, die übrigen Umrisse stammen hauptsächlich von Resten der Trophoplasten. $^1/_{12}$ Ölimmersion. Zeiss' Okul. 4. Vergr. 1300.

Verhalten des mit Alkohol ausgezogenen Materials.

Bei Zusatz von Alkohol zu den in Wasser liegenden Schnitten lösen sich die Tropfen leicht. Der Zellkern tritt als homogenes, auch höhliges Gebilde hervor. Was sonst bleibt, sind wesentlich Reste der Chromatophoren; das Zytoplasma scheint ganz zerfallen zu sein.

Alkoholmaterial zeigt alle Reste nach Jodjodkaliumzusatz intensiv gelb gefärbt. Mit Millon's Reagens werden die Reste kaum gefärbt, erhalten aber doch einen Schimmer von Färbung, ebenso mit Salpetersäure.

Reaktionen der Tropfen.

Eisessig + 15 % Wasser.

Löst nicht.

Äther.

Löst.

Gesättigte Kalilauge.

Die Tropfen bleiben gelb und lösen sich nicht.

20 %ige Kalilauge.

Wie vorher.

10 ccm gesättigte Kalilauge mit 1 ccm absolutem Alkohol oder ein Gemisch von gleichen Volumen gesättigter Kalilauge und 25 %igem Ammoniak. Verändert die Tropfen nicht mehr als vorher.

Rauchende Salpetersäure.

Wird ein Präparat mit rauchender Salpetersäure unter dem Deckglase mit Harz eingeschlossen und 120 Stunden liegen gelassen, so erscheinen die Tropfen fein getrübt.

Benzin.

Trocknet man einen frischen Schnitt auf dem Objektträger und legt man ihn mit diesem in Benzin, so findet man die Substanz der Tropfen noch. Dieses Resultat ist vielleicht durch die Undurchdringlichkeit der trockenen Membran für Benzin zu erklären. Karotin und Sekret sind in Benzin löslich, nur Xanthophylle nicht. Mer (1876, pag. 177) sagt von den „Öltröpfchen" aus, daß Benzin sie nach einiger Zeit löse.

Erhitzen auf 120 Grad.

Wird ein frisches Präparat 30 Minuten auf 120° auf dem Objektträger erhitzt, so findet man die Tropfen, nach Zusatz von Wasser, noch erhalten. Auch hier wird wohl die Undurchlässigkeit der Membran eine Rolle spielen. Allerdings muß ein Teil der Substanz zurückbleiben, denn Karotin und Xanthophylle sind bei 120° nicht flüchtig, aber es scheint alles erhalten zu sein, denn sonst wären die Tropfen wohl nicht so leichtflüssig. Das Sekret, wie es in den Öltröpfchen der

Chloroplasten noch nicht vergilbter alter Blätter von Funkia Sieboldiana vorliegt, ist bei 120° flüchtig. Wird ein Schnitt dieses Blattes auf dem Objektträger 2 Stunden bei 100° erhalten, so treten danach doch bei Zusatz von Eisessig + 15 % Wasser Tropfen auf. Hat man den Schnitt 1 Stunde auf 120° erhitzt, so geschieht dies nicht mehr.

Alkoholmaterial mit Bendafixage behandelt und nach Heidenhain gefärbt.

Schon bei schwächster Differenzierung blieben fast nur die Kerne gefärbt. Sie waren höhlig und klumpig. Nukleolen waren bestimmt nicht mehr vorhanden (Fig. 14).

Die Größe dieser mit Alkohol fixierten und gefärbten Kerne war: Durchschnitt von 20 Messungen: kleiner Durchmesser 3,1 μ, großer 4,0 μ. Kleinster Kern: kleiner Durchmesser 2,7 μ, großer 2,7. Größter Kern: kleiner Durchmesser 3,9 μ, großer 5,4 μ.

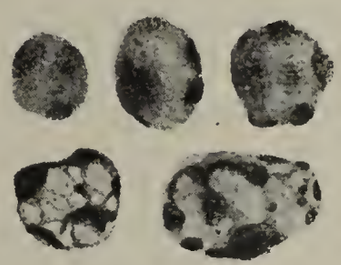


Fig. 14. Fünf Kerne aus den Palisadenzellen eines hellgelben Blattes. Das Material wurde mit kaltem 80 %igen Alkohol fixiert, mit Bendafixage gebeizt und mit Eisenhämatoxylin gefärbt. Apochromat 2,0 mm, Apert. 1,3, Kompens.-Okul. 12. Vergr. 2600.

Mit Benda fixiert und mit Eisenhämatoxylin gefärbt.

Das Sekret kann teilweise grau gefärbt erhalten sein. Die Kerne sind meist homogen, manchmal diffus fleckig und manchmal mit Höhlchen versehen. Nukleolen fehlen sicher.

Bei schwacher Differenzierung sieht man dunkel gebliebene, körnige Fäden, die wohl die Reste der Chromatophoren sein müssen. Größe der mit Benda fixierten und mit Eisenhämatoxylin gefärbten Kerne: Durchschnitt von 20 Messungen: kleiner Durchmesser 3,1 μ, großer 4,4 μ. Kleinster Kern: kleiner Durchmesser 2,7 μ, großer 3,3 μ. Größter Kern: kleiner Durchmesser 4,0, μ großer 5,2μ.

a *b*

Fig. 15. Mit Benda fixiert, mit Eisenhämatoxylin gefärbt. Aus den Palisadenzellen eines hellgelben Blattes. *a* Kerne, *b* Chromatophoren. Apochrom. 2 mm, Apert. 1,3, Komp.-Okul. 12. Vergr. 2600.

Die für uns wichtigste Tatsache, welche diese Untersuchung zutage förderte, ist, daß die Chloroplasten des dgr Blattes bedeutend größer sind, als die des hgr. Wir sehen und werden im Laufe der Untersuchung weiter sehen, daß die Durchmesser der Chloroplasten der Palisadenzellen der verschieden verfärbten Blätter ungefähr sich ver-

halten wie: dgr : gr : hgr : ge = 100 : 86 : 72 : 52, wozu noch das Verhältnis der durch das Experiment gewonnenen tiefdunkelgrünen (tdgr) Blätter mit 126 kommt.

Das ungefähre Verhältnis der Volumen der verschiedenen Zustände wäre demnach: tdgr : dgr : gr : hgr : ge = 200 : 100 : 64 : 38 : 14.

Da das Eiweiß der Palisadenzellen hauptsächlich in den Chloroplasten sitzt, so ist es selbstverständlich, daß die makroskopische Xanthoproteinreaktion der Blätter mit der Verfärbung der Blätter abnimmt. Der Kern spielt bei der Änderung der Gelbfärbung keine wesentliche Rolle, da er bis zuletzt relativ wenig an Größe abnimmt und sich selbst das Volumen der Nukleolen verhältnismäßig wenig ändert. Ebenso kommt eine Änderung des Eiweißgehaltes des Zytoplasmas nicht in Betracht.

4. Neubildung ergastischen Organeiweißes in den durch Verdunkelung eiweißarm gemachten Chloroplasten.

Es ist für die trophoplastenfreien Pilze wohl sicher festgestellt, daß ihre Protoplasten sowohl im Dunkeln wie auch im Lichte aus anorganischen und nicht proteinartigen organischen N-Verbindungen Eiweiß herstellen können. So viel ich sehen kann, weiß man noch nicht, ob bei Beleuchtung eines Pilzes mehr Eiweiß als im Dunkeln erzeugt wird. Und doch wäre eine Entscheidung dieser Frage sehr wichtig, denn es ist zu erwarten, daß es so ist, wenn nicht die Fähigkeit der erhöhten Eiweißerzeugung im Licht von allen drei Organen des Protoplasten nur den Trophoplasten zukommt.

Die Protoplasten der Trophoplasten führenden Gewächse können ebenso wie die der trophoplastenfreien Pilze im Dunkeln und im Lichte aus nicht eiweißartigen N-Verbindungen und passenden Kohlehydraten Eiweißstoffe herstellen. Das beweisen z. B. die Resultate der Versuche von Zaleski (1897), Prianischnikow (1899), Iwanoff, Schreder, Schulow, die an Zwiebeln, Kartoffeln, Dahliaknollen, Runkelrüben gewonnen wurden, und ferner die Erfahrungen, welche an Laubblättern gemacht wurden. So z. B. arbeitete Sapožnikow (1894) mit Laubblättern von Vitis vinifera und Labrusca. Er analysierte die eine Blatthälfte der Blätter, stellte dann die Blätter mit den Stielen in Wasser oder Nährlösung, beleuchtete sie eine Zeitlang und bestimmte auch in den anderen Blatthälften den Eiweißstickstoff. Das aus den Resultaten der Eiweißstickstoffbestimmung berechnete Eiweiß hatte bei den in Knop'scher Nährlösung stehenden Blättern um ungefähr 0,4 g für Quadratmeter und Stunde zugenommen. Bei schwacher Beleuch-

tung und Darreichung von viel Nitraten wurden alle Kohlehydrate, welche das Blatt bildete, zu Eiweiß verarbeitet.

Auf mikrochemischem Wege stellte Hansteen (1896 und 1898) fest, daß Lemna aus Asparagin + Dextrose, Harnstoff + Dextrose usw. im Dunkeln Eiweiß herstellen konnte, wenn er sie auf Lösungen dieser Stoffe schwimmen ließ.

Zaleski (1897) ließ abgeschnittene Blätter von Helianthus annuus mit den Stielen, im Dunkeln, in Knop'scher Nährlösung stehen und fand Zunahme an Eiweißstickstoff. Nach Palladin (1899) bilden etiolierte Blätter von Vicia faba im Dunkeln auf Rohrzuckerlösung Eiweiß, und ähnliche Resultate erhielt Suzuki mit etiolierten Gerstenkeimlingen.

In diesen Versuchen wurde nicht festgestellt, in welchem Organe des Protoplasten die Eiweißstoffe gespeichert werden. Bei den Pilzen kann nur Zytoplasma oder Kern der Ort der Bildung und Speicherung sein; hier können auch die Trophoplasten eine Rolle spielen.

Es hat sich aber nun weiter herausgestellt, daß ein bestimmtes Laubblatt im Lichte in der gleichen Zeit eine größere Eiweißmenge bilden kann als im Dunkeln.

Schon Schimper's (1888) Nachweis, daß die Nitrate der grünen Laubblätter nur im Lichte verschwinden, ließ vermuten, daß nur im Lichte reichliche Verarbeitung der Nitrate der Blätter stattfindet. Palladin (1899) zeigte dann, daß etiolierte Blätter von Vicia faba in gleicher Zeit auf Rohrzuckerlösung im Lichte doppelt so viel Eiweiß erzeugten wie im Dunkeln. Als Laurent und Marchal (1903) Kresse in einer salpeterhaltigen 4 %igen Nährlösung 10 Tage im Dunkeln und im Lichte stehen ließen, übertraf sogar der Eiweißgewinn im Lichte den im Dunkeln um das Dreifache.

Die erwähnten Versuche bewiesen also zweifellos, daß Licht die Eiweißbildung in den Laubblättern begünstigt. Da Hansteen und andere gezeigt hatten, daß die Eiweißbildung aus Nitraten, Ammon und organischen N-Verbindungen nur bei Gegenwart von passenden Kohlehydraten eintrete, so konnte die reichliche Entstehung passender Kohlehydrate durch die Assimilation der Grund für die Steigerung der Eiweißbildung im Lichte sein. Über den Ort der Eiweißspeicherung oder Eiweißbildung in dem Protoplasten sagten auch die Resultate dieser Versuche nichts aus.

Die eben erwähnte Hypothese der indirekten Verstärkung der Eiweißbildung mußte aufgegeben werden, als gezeigt wurde, daß das Licht auch die Eiweißbildung fördert, wenn sich die Laubblätter bei

genügendem Vorhandensein von Bildungsstoffen für Eiweiß in kohlensäurefreier Atmosphäre befinden, wie es die Versuche von Godlewski (1903) zeigen.

Dieser benutzte Weizenpflanzen, bei denen ungefähr 10 g Trockensubstanz von Wurzel- und Samenresten auf 17 g Trockensubstanz von Blatt- und Stengelresten kamen, bei denen also die Chloroplasten führenden Gewebe überwogen. Seine Versuche zeigten, „daß die in kohlensäurefreier Atmosphäre im Lichte gezogenen Weizenpflanzen eine bedeutend größere Menge von Eiweißstickstoff enthielten als die Samen. Die Eiweißsynthese im Lichte hat also trotz der mangelnden Assimilation nicht nur die ganze Menge der Eiweißstoffe, welche während der Entwicklung der Keimlinge gespalten wurde, wieder hergestellt, sondern noch darüber ein gewisses Plus ergeben. Im Dunkeln erreichte die Eiweißbildung kein einziges Mal die Höhe der Eiweißspaltung, so daß die geernteten Pflänzchen immer weniger Stickstoff enthielten als die Samen."

Die Laubblätter führen also im Lichte eine stärkere Eiweißsynthese als im Dunkeln durch, auch wenn keine Kohlehydraterzeugung durch die Chloroplasten erfolgt. Zaleski's (1904) Versuche scheinen mir nichts an diesen Resultaten zu ändern. Die Fragen, ob das Licht als Reizursache wirkt, welche als Reizwirkung die Verarbeitung nicht eiweißartiger Stickstoffverbindungen mit Hilfe von durch chemische Spaltung frei werdender Energie hervorruft, oder ob das Licht direkt in die Eiweißmoleküle eintritt, zu chemischer Spannkraft des Eiweißmoleküls werdend, sind nicht entschieden.

Wo die Eiweißsynthese und die Eiweißspeicherung im Protoplasten der Zellen des Laubblattes erfolgt, ist auch durch diese Versuche nicht erwiesen.

Die Frage aber, wo im Protoplasten die durch die Lichtwirkung entstehenden Eiweißstoffe hauptsächlich auftreten, lösen meine im folgenden beschriebenen Versuche, in denen gezeigt wird, daß in den am Lichte Kohlenstoff assimilierenden Zellen das ergastische Eiweiß sich in großen Mengen in den Chloroplasten ansammelt, während im Zytoplasma nur wenig Eiweiß in Form der ergastischen Gebilde, der Allinante, auftritt, die Kerne sich kaum verändern.

Die Chloroplasten sind also mindestens die hauptsächlichsten Organe, welche das Eiweiß speichern, das im Lichte entsteht, wenn sie nicht die hauptsächlichen Geburtsstätten des Eiweißes sind, welches im Lichte gebildet wird. Möglicherweise stammt die geringe Menge des im Dunkeln erzeugten Eiweißes der Zelle aus dem Zytoplasma und dem Kern.

Mit dem, was ich gefunden habe, stimmen auch die Resultate eines Versuches von Chrapowicki (1889), den ich leider nur aus dem Referate von Rothert kenne, überein. Der Autor ging von Zacharias' Beobachtung aus, daß die Chromatophoren die eiweißreichsten Teile der Zelle seien. Sie brachte ihn zu der Vermutung, daß sie der Ort der Eiweißsynthese sein könnten. Er versuchte auch schon den Eiweißgehalt der Pflanze durch Verdunkelung in einer für die Versuche genügenden Weise herabzudrücken, doch gelang ihm dieses nicht. Er züchtete deshalb die Pflanzen (Phaseolus, Cucurbita, Zea) 1—2 Monate in N-freier Nährlösung, um die Blätter „nahezu eiweißfrei" zu machen. „Werden sie in Alkohol entfärbt und mit Raspail'schem, Fröhde'schem, Millon'schem oder Zacharias'schem Eiweißreagens behandelt, so färben sie sich gar nicht oder schwach." Hierauf ließ er die Pflanzen in normaler Knop'scher Nährlösung wachsen — und in ein paar Tagen hatten die Blätter ihren normalen Eiweißgehalt wieder erlangt. Und zwar erwies sich, daß die neu gebildeten Eiweißstoffe zuerst und hauptsächlich in den Chromatophoren auftreten.

Versuch 4.

Topfpflanze IV mit 24 cm langer Hauptachse und acht erwachsenen Laubblättern. Am 2. VII. alle Zweige und Blüten entfernt und die ausgewachsenen Blätter halbseitig verdunkelt, indem die halbe Spreite eines jeden Blattes in Stanniol gehüllt wurde. Am 7. VII. wurde das Stanniol entfernt und die Pflanze unter eine innen mit befeuchtetem Fließpapier ausgelegte Glocke gebracht. Am 13. VII. wurde die Glocke entfernt und die Pflanze im Glashause voll beleuchtet.

In der Tabelle ist die Farbe der Blattspreiten, teilweise die Zahl für die Färbung der Chloroplasten (Chl. Farb.), der Durchmesser der Chloroplasten (D. d. Chl.) und die Nummer für die Intensität der Xanthoproteinreaktion (Xanth.) eingetragen.

(Siehe Tabelle pag. 108 oben.)

Die übrigen fünf Blätter waren schon zu weit ausgesogen und ließen kein Auffüllen der Chloroplasten mit Eiweiß mehr zu.

Bemerkungen über die mikroskopische Untersuchung. Blatt 2 wurde 1 Tag nach der Entfernung des Stanniols untersucht, also am 8. VII. In der verdunkelten Seite war die mittlere Größe der Chloroplasten, wie gesagt, 3,6 μ, als Mittel von 30 Messungen. Der größte Chloroplast hatte einen Durchmesser von 5 μ, der kleinste von 3 μ. Am 18. VII. war der mittlere Durchmesser in der unverdunkelten Blatthälfte 5,4 μ; Maxim. 6,5, Minim. 4,5 μ. Allinante klein. In der verdunkelten Blatthälfte war die mittlere Größe der Chloroplasten 4,7 μ; Maxim. 6,5, Minim. 3,5 μ. Allinante klein.

Versuch 5.

Topfflanze VI mit 12 cm langer Hauptachse und sieben erwachsenen Blättern. Am 3. VIII. werden, nachdem die Blüten und Zweige entfernt sind, die Blätter halbseitig mit Stanniol verdunkelt. Am 9. VIII. wird das Stanninol entfernt und

Blatt	2. VII.		7. VII.		18. VII.	
	unverdunkelt	verdunkelt	unverdunkelt	verdunkelt	unverdunkelt	verdunkelt
1	dgr	dgr	dgr Xanth. 4	gr Xanth. 3—4	dgr Xanth. 4	fast dgr Xanth. 4 (ganz gleich dem unverdunkelten Spreitenteil)
2	dgr	dgr	dgr Xanth. 4	gr gegrfleckig D. d. Chr. 3,6 μ Xanth. 3	dgr D. d. Chr. 5,4 μ Xanth. 3—4	gr D. d. Chr. 4,7 μ Xanth. 3—4 (ganz gleich dem unverdunkelten Spreitenteil)
3	dgr	dgr	dgr Xanth. 4	hgr, gegrfleckig Xanth. 3	dgr Xanth. 3—4	gr Xanth. 3—4 (ganz gleich dem unverdunkelten Spreitenteil)

die Pflanze zuerst unter einer mit feuchtem Fließpapier ausgekleideten Glocke, dann frei im Gewächshaus weiter kultiviert.

Blatt	3. VIII.		9. VIII.		17. VIII.		24. VIII.	
	unverdunkelt	verdunkelt	unverdunkelt	verdunkelt	unverdunkelt	verdunkelt	unverdunkelt	verdunkelt
1	dgr	dgr	dgr Xanth. 4	gr Xanth. 3—4	dgr Xanth. 3—4 fast 4	gr am Rande gr-hgr Xanth. 3—4 fast 4	dgr Xanth. fast 4	dgr am Rande noch gr Xanth. fast 4 (ganz gleich dem unverdunkelten Spreitenteil)
2	dgr	dgr	dgr D. d. Chr. 5,8 Xanth. 4	gr—hgr D. d. Chr. 4,2 Xanth. 3	dgr D. d. Chr. 5,4 Xanth. fast 4	gr am Rande gr-hgr D. d. Chr. 5,0 Xanth. fast 4	dgr Xanth. fast 4	dgr am Rande gr Xanth. fast 4 (ganz gleich dem unverdunkelten Spreitenteil)

Mikroskopische Untersuchung von Blatt 2.

Am 9. VIII. 6 Stunden nach dem Aufdecken untersucht.

Unverdunkelte Hälfte. Mittlerer Durchmesser (aus 40 Messungen) 5,8 μ; Maxim. 7 μ, Minim. 4,5 μ. Farbe der Trophoplasten 1—2. Trophoplasten körnig, nach Zusatz von Essigsäure viele kleine Tröpfchen. Kleine Allinante.

Verdunkelte Hälfte. Farbe der Trophoplasten 3. Mittel aus 40 Messungen des Durchmessers der Trophoplasten 4,2 μ; Maxim. 5,5 μ, Minim. 3 μ. Trophoplasten sehr homogen, nach Zusatz von Essigsäure weniger Tröpfchen als im unverdunkelten Teile. Allinante sehr klein.

Am 17. VIII. untersucht.

Unverdunkelte Blatthälfte. Farbe der Trophoplasten 1—2, fast 2. Mittlere Größe aus 30 Messungen 5,4 μ; Maxim. 7 μ, Minim. 4 μ. Trophoplasten körnig, nach Zusatz von Essigsäure viele kleine Tröpfchen. Kleine Allinante.

Verdunkelte Blatthälfte. Farbe der Trophoplasten 2—3, näher 3. Mittlere Größe aus 35 Messungen 5,0 μ; Maxim. 6 μ, Minim. 4 μ. Trophoplasten im Leben fast homogen, nach Zusatz von Essigsäure weniger Tröpfchen als im unverdunkelten Blatteile. Allinante sehr selten.

Am 24. VIII. untersucht.

Unverdunkelte Blatthälfte. Farbe der Trophoplasten 1—2, näher 2. Durchschnittsgröße 5,5 μ (25 Messungen).

Verdunkelte Blatthälfte. Farbe der Trophoplasten 2. Mittlerer Durchmesser 5,2 μ (25 Messungen).

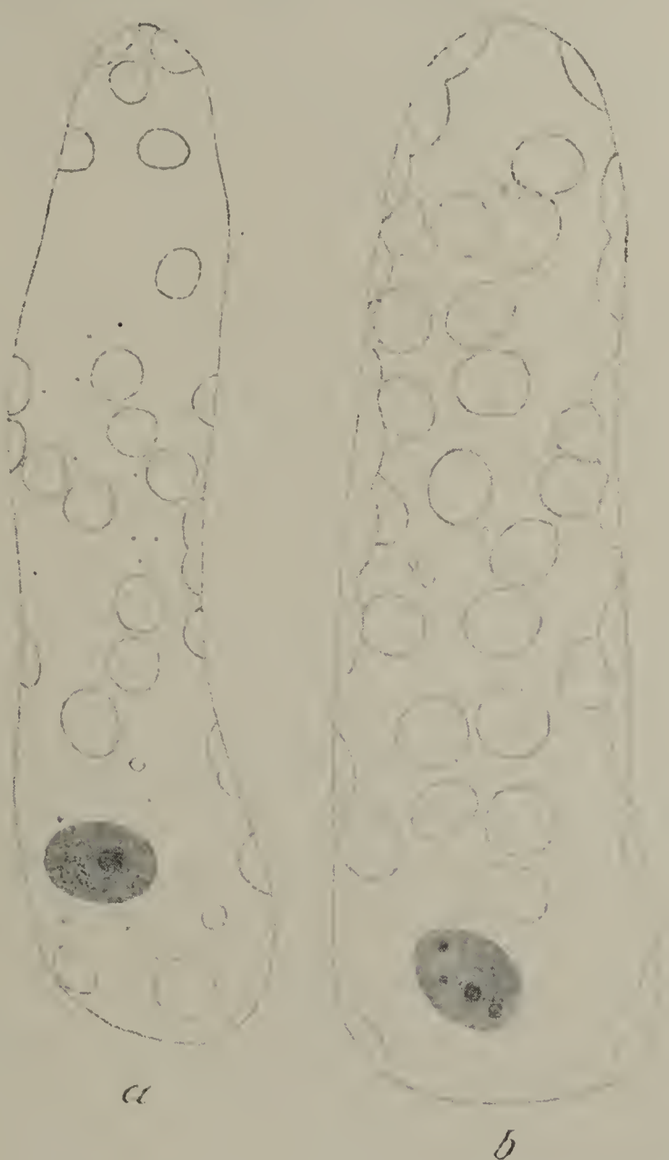


Fig. 16. Skizzen der Umrisse von Palisadenzellen mit Trophoplasten nach Osmiumsäurezusatz zu lebenden Zellen. Der Kern ist nach Zusatz von Jodjodkalium aus einer anderen Zelle eingezeichnet. a) Nach 5tägiger Verdunkelung des Blattes 2 der Pflanze VI am 9. August gezeichnet (das Blatt hatte vor dem Zeichnen zur Zerstreuung der Trophoplasten einige Stunden im Tageslicht gestanden). b) Gezeichnet, nachdem dasselbe Blatt 2 Wochen beleuchtet worden war. Objektiv $^1/_{12}$, Ölimmersion, Okular 4. Vergr. 1300.

Versuch 6.

Am 16. VIII. wurden von einer jungen Topfpflanze VIII mit 26 cm langer Hauptachse, die nur drei erwachsene Blätter entwickelt hatte, die jungen Zweige entfernt und die Blätter halbseitig verdunkelt. Am 21. VIII. wurde das Stanniol entfernt und von der Pflanze, deren Hauptachse jetzt 33,5 cm lang war, die Spitze in einer Länge von 20 cm abgeschnitten. Sie wurde bis zum 25. VIII. unter die mit feuchtem Fließ-

papier ausgekleidete Glasglocke gestellt, dann unbedeckt im Glashause weiter kultiviert. Vom 25.—30. VIII. war das Wetter trübe, dann sonnig.

Blatt	16. VIII	21. VIII.		27. VIII.		30. VIII.	
	beide Hälft.	unverdunkelt	verdunkelt	unverdunkelt	verdunkelt	unverdunkelt	verdunkelt
1	dgr	dgr Xanth. 4	gr Xanth. 3—4	dgr Xanth. 4	dgr Xanth. 4	dgr Xanth. 4	dgr Xanth. 4 (ganz gleich dem unverdunkelten Spreitenteil)
2	dgr	dgr Xanth. 4	hgr Xanth. 3	dgr Xanth. 4	gr-hgr Xanth. 3—4	dgr Xanth. 4	gr, hg und fast weißfleckig Xanth. fast 4
3	dgr	dgr Xanth. 4	hgr Xanth. 3	dgr Xanth. 4	gr—hgr ein Teil des Randes abgestorben Xanth. 3—4 etwas heller als Blatt 2	dgr	gr-hgr Rand stirbt ab

Die verdunkelte Hälfte von Blatt 2 war am 30. VIII. nach der Mitte des Blattes zu gr, dann etwa in der Mitte des verdunkelten Blattstückes waren hellgrüne und fast weiße Stellchen gemischt, der äußerste Rand war hellgrün. Im weiteren Verlaufe der Beleuchtung wurden die fast weißen Stellchen hellgrün, die hellgrünen gr, so daß am 7. IX. die weißen Stellchen zu vereinzelt waren. Aber schon am 30. VIII. war kaum ein Unterschied zwischen den Blatthälften bei der Xanthoproteinreaktion zu bemerken.

Wir haben in dem Kapitel 3 Erfahrungen über die Lösung und das Auswandern des ergastischen Eiweißes der Chloroplasten und die gleichzeitige Farbenänderung des Blattes kennen gelernt. Wir sahen, daß mit der Spaltung Auswanderung oder Veratmung des Eiweißes der Chloroplasten ein Kleinerwerden der Chloroplasten und danach eine Abnahme der Chlorophyllmenge der Chloroplasten eintrat, während die Kerne ihr Volumen weniger änderten und ihre Nukleolen nicht merklich lösten, solange noch etwas Chlorophyll in den Chloroplasten vorhanden war. Dasselbe konnten wir wieder in diesen Versuchen verfolgen, so lange wir die Blatthälften verdunkelten. Wir konnten auch feststellen, daß mit der Länge der Verdunkelung die Xanthoproteinreaktion immer heller ausfiel, bis sie bei gr-hgr auf etwa 3 gesunken war. Wenn die Farbe der gedeckten Hälften durch die Verdunkelung hgr geworden war, so waren die Chloroplasten noch nicht so weit geschwächt, daß die Eiweißerzeugung in den nun beleuchteten Hälften

kleiner sein mußte als die Eiweißlösung während der Nacht. Die zu große Schwächung der Chloroplasten bewirkt, wie wir sehen werden, vielleicht zuerst eine zu geringe Produktion von Kohlehydraten am Tage und dadurch eine stärkere Lösung des ergastischen Eiweißes der Chromatophoren während der Nacht, die nicht durch die am Tage stattfindende Synthese von Eiweiß ausgeglichen werden kann, wenn die Chloroplasten zu klein geworden sind. Bei guten Assimilationsverhältnissen konnten die nicht zu stark gealterten Chloroplasten wieder Eiweiß speichern und langsam ihren normalen Chlorophyllgehalt wieder herstellen.

In dem Versuche 1 war durch eine fünftägige Verdunkelung in der einen Spreitenhälfte des Blattes 2 die Eiweißmenge in den Chloroplasten so verringert, daß die Xanthoproteinreaktion nur die Färbung 3 gegenüber der Färbung 4 der unverdunkelten Blatthälfte ergab, während zugleich der Durchmesser der Chloroplasten von 5,4 auf 3,6 μ und die Blattfärbung von Dunkelgrün auf grün herabgegangen war. Die Verschiedenheit der Blattfärbung und die der Xanthoproteinreaktion ließen sich ganz genau erkennen, genauer feststellen als sie durch die Bezeichnung ausgedrückt werden können, wie sich auch das Gleichwerden der Reaktionsfärbung ganz genau verfolgen ließ, da die Xanthoproteinreaktion mit einem Streifen der Spreite vorgenommen wurde, in dem die verdunkelte Stelle direkt an die unverdunkelte grenzte.

Als das Blatt 2 nun ganz beleuchtet worden war und die Assimilation der Chloroplasten 11—12 Stunden angedauert hatte, hatten die Chloroplasten einen Durchmesser von 4,7 μ erlangt, und die Spreite gab die Xanthoproteinfärbung 3—4, die Färbung der unverdunkelten und der verdunkelten Hälfte der Spreite war dabei absolut gleich. Also:

120 Stunden verdunkelt	ungefähr 132 Stunden danach beleuchtet und 132 Stunden dunkel
Farbe der Spreite gr, teilweise gelbgrünfleckig	grün
Durchmesser der Chloroplasten 3,6	4,7
Xanthoproteinfärbung 3	3—4

Bei Blatt 2 des Versuches 2 stellten sich die Verhältnisse folgendermaßen:

144 Stunden verdunkelt	danach ungefähr 96 Stunden beleuchtet und 96 Stunden dunkel
Farbe der Spreitenhälfte gr—hgr	gr—hgr
Farbe der Chloroplasten 3	2—3, näher 3
Durchmesser der Chloroplasten 4,2	5,0
Xanthoproteinfärbung 3	fast 4

Bei Blatt 2 des Versuches 3 beobachteten wir:

	120 Stunden verdunkelt	ungefähr 108 Stunden beleuchtet und 108 Stunden dunkel
dgr		gr, hellgrün und fast weißfleckig von einzelnen Zellen, welche ihre Chloroplasten nicht wieder auffüllten und die farblosen Klumpen enthalten.
Xanthoproteinreaktion	3	fast 4.

Schließlich will ich noch darauf aufmerksam machen, daß in den in diesem Kapitel beschriebenen Versuchen sich an den verdunkelten und unverdunkelten Stellen der Spreite eher Gleichheit der Xanthoproteinreaktion einstellte als Gleichheit der Grünfärbung der Blattfläche. Bei genauer Beobachtung sah man stets, daß die Bildung des Chlorophylls in den Chloroplasten der Aufspeicherung des Eiweißes nachhinkte.

5. Einfluß verschiedener Faktoren auf die Verfärbung der Blätter.

Um uns über die Wirkung äußerer und innerer Einflüsse auf den Vergilbungsprozeß zu unterrichten, beginnen wir mit einem Versuche, welcher uns über die Wirkung der Saugung der wachsenden Pflanzenteile aufklären soll.

Versuch 7.

Vergleichung der Farbenänderung der Blätter der Pflanze IV, deren Hauptachsenspitze wuchs, mit der Pflanze V, deren Hauptachsenspitze abgeschnitten worden war.

Pflanze IV: Topfpflanze mit 14,5 cm langer Hauptachse, sieben erwachsenen und sieben jüngeren Blättern. Am 20. VIII. ist die Hauptachse 54 cm lang und trägt außer den sieben Versuchsblättern neun erwachsene und acht junge Laubblätter. Am 31. VIII. ist die Hauptachse 94 cm lang und trägt außer den sieben Versuchsblättern 14 erwachsene und 11 junge Laubblätter.

Pflanze V: Topfpflanze mit fünf erwachsenen Laubblättern; die Hauptachse ist in 8,5 cm Höhe, vom Boden an gerechnet, abgeschnitten.

Von beiden Pflanzen wurden Zweige und Blüten fortgesetzt entfernt. Bei beiden Pflanzen wurde jede Blattspreite der beim Beginn des Versuches ausgewachsenen Blätter halb mit Stanniol umhüllt, so daß eine am Tage beleuchtete und eine fortgesetzt verdunkelte Blatthälfte zu unterscheiden war.

Mikroskopische Untersuchung der unverdunkelten Seite des tiefdunkelgrünen Blattes am 30. IX.

Ich habe dem Blatte die Bezeichnung tdgr gegeben, weil sie so dunkel war, daß man sie nicht mit dgr bezeichnen durfte. Die Chloroplasten dieses Blattes, welches anormal alt geworden war und relativ lange Zeit assimiliert hatte, waren auffallend groß und reich an sehr deutlichen Sekrettropfen. Der mittlere Durchmesser (30 Messungen) betrug 7,3 μ, der Durchmesser des kleinsten der untersuchten Chloroplasten betrug 5 μ, der des größten 9,5 μ. Die Färbung war $= 2$. In den allermeisten Mesophyllzellen lagen 1—3 große Sphäritenkomplexe. Wie

Verdunkelte Blattseiten der Pflanze IV.

Blatt	3. VIII.	6. VIII.	9. VIII.	11. VIII.	13. VIII.	15. VIII.	17. VIII.	20. VIII.
1	dgr	dgr	dgr	gr	hgr gegr-fl	R. ge M. hgr	gegr	ge
2	dgr	dgr	gr	R. gegr M. gr	R. gegr M. hgr	R. ge M. gegr	R. ge-w M. gegr	
3	dgr	dgr	R. gegr M. hgr	R. ge M. gegr	ge			
4	dgr	dgr	hgr	gegr	ge			
5	dgr	gr	gegr	ge				
6	dgr	gr	gegr	ge				
7	dgr	gr-hgr	ge					

Bei den gedeckten Hälften begann der Rand (R.) oft schneller gelb zu werden als die Gegend in der Mediane (M.) des Blattes, weshalb wir dann beide Partien besonders bezeichnet haben.

Unverdunkelte Blattseite der Pflanze IV.

Blatt	3. bis 17. VIII.	20. VIII.	24. VIII.	25. VIII.	27. VIII.	5. IX.	9. IX.	12. IX.
1	dgr	dgr	dgr	dgr	gr	hgr	ge-fl	ge
2	dgr	dgr	dgr	dgr	gr	gegr	ge	
3	dgr	dgr	dgr	gr	gr	ge		
4	dgr	dgr	hgr	hgr	gegr	ge		
5	dgr	dgr	ge-fl	ge				
6	dgr	gr	gegr	gegr	ge			
7	dgr	gr	ge					

Verdunkelte Blattseite der Pflanze V.

Blatt	3. VIII.	9. VIII.	13. VIII.	17. VIII.	22. VIII.	24. VIII.	28. VIII.	31. VIII.
1	dgr	dgr	dgr	gr	hgr	R. gegr M. hgr	R. gegr M. hgr	R. ge M. gegr
2	dgr	dgr	gr	hgr	R. gegr M. hgr	R. gegr M. hgr	R. ge M. hgr	
3	dgr	dgr	R. gegr M. hgr	R. ge M. hgr	R. ge-w M. hgr			
4	dgr	gr	hgr	R. gegr M. hgr	R. ge M. hgr			
5	gr	gr	gr	hgr	R. gegr M. hgr	R. ge M. hgr		

Unverdunkelte Blattseite der Pflanze V.
Alle Blätter blieben bis zum 28. VIII. dunkelgrün.

Blatt	31. VIII.	11. IX.	15. IX.	30. IX.
1	dgr	dgr	tdgr	tdgr
2	dgr	dgr	tdgr	tdgr
3	dgr	dgr	dgr	gr
4	dgr	dgr	gr	hegr
5	gr	gr	gr	ge

überall fehlten auch hier Oxalatkristalle in den Mesophyllzellen. Mit Millon's Reagens färbten sich die Chloroplasten des mit Alkohol ausgezogenen Materials äußerst stark braunrot. Die makroskopische Xanthoproteinreaktion des Blattes lieferte eine Färbung, die man fast als 6 bezeichnen müßte.

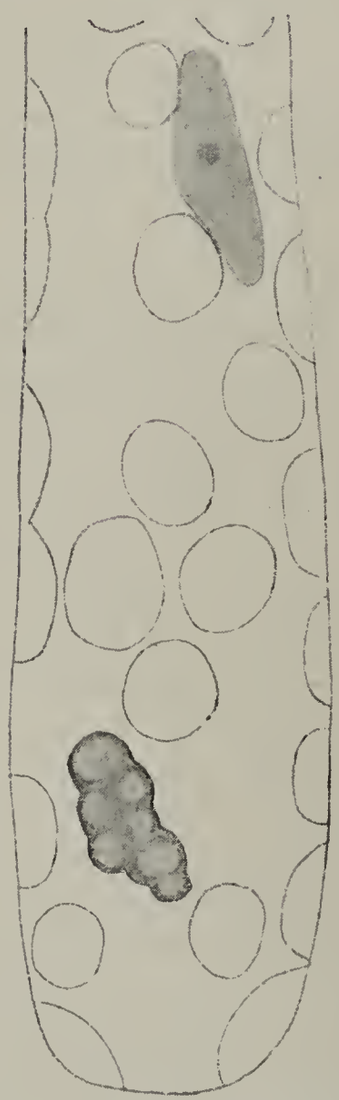


Fig. 17. Skizze eines Stückes einer Palisadenzelle der unverdunkelten Blattseite des tdgr Blattes 1 am 30. IX. Kern, Chromatophoren und Sphäritenkomplex einer in 2 %iger Osmiumsäure liegenden lebenden Palisadenzelle. Vergr. 1300.

Die Sphäritenkomplexe (s. Fig. 17) wurden an Alkoholmaterial untersucht. Es zeigte sich, daß diese auch in der lebenden Zelle gleich reagierenden Sphärite kein Eiweiß und keine Kohlehydrate enthielten. Sie lösten sich in Pikrinsäure und in verdünnter Essigsäure. Mit Schwefelsäure bildeten sie Gipsnadeln und mit in Salpetersäure gelöstem molybdänsaurem Ammon reichliche Kristalle von phosphormolybdänsaurem Ammon. Beim Glühen wurden sie anfangs sehr schwarz gefärbt. Sie bestehen danach aus Kalzium, Phosphorsäure und einer organischen Substanz. Vielleicht sind sie Kalziummalophosphat (?) (Belzung 1893, pag. 265).

Bei Vergleichung der Tabellen sehen wir deutlich, daß sowohl die verdunkelten als die unverdunkelten Blatthälften langsamer gelb werden, wenn sie an einer Pflanze sitzen, deren wachsende Spitze entfernt ist, als dann, wenn sie eine Pflanze trägt, deren Spitze erhalten ist. Augenscheinlich wirkt die wachsende Spitze des Sprosses auf die Lösung des Eiweißes der Chloroplasten anregend.

An unserer intakten Versuchspflanze war von den verdunkelten Blatthälften der sieben Blätter die Blatthälfte des ersten nach 17 Tagen von dgr auf ge gekommen.

Von den sieben unverdunkelten Blatthälften war die Blatthälfte des ersten Blattes nach 39 Tagen gelb geworden.

An der geköpften Pflanze war von den verdunkelten Blatthälften der fünf Blätter die des ersten, welches der anregenden Wirkung mehr unterworfen war als das erste der intakten Pflanze, nach 28 Tagen von dgr auf gelb gekommen.

Von den fünf unverdunkelten Blatthälften war die des ersten Blattes nach 43 Tagen noch dgr.

Wenn wir zuerst nur die das Vergilben, also auch die Lösung des Eiweißes befördernde Wirkung der wachsenden Sproßspitze berücksichtigen, so wird sie verständlich, wenn wir beachten, daß aus dem Blatte nach den wachsenden Organen der Sproßspitze eine Auswanderung der Spaltungsprodukte des Eiweißes stattfindet, die unterbleiben muß, wenn die wachsenden Teile entfernt sind. Die wachsende Spitze wirkt durch Wegnahme und Festlegung der Spaltungsprodukte des Eiweißes gleichsam ansaugend auf die Eiweißstoffe ein, ähnlich wie es die Speicherorgane der Pflanze tun.

Wir können es ja direkt mikroskopisch sehen, daß die wachsende Spitze außer Stärke auch die Eiweißstoffe der Chloroplasten zur beschleunigten Lösung veranlaßt, und nach Analogie unserer Erfahrung mit den Blättern der Laubhölzer, die unter dem saugenden Einfluß der Reservestoffe speichernden Achse stehen, müssen wir auch annehmen, daß die Eiweißstoffe bei Tropaeolum auswandern.

Daß eine solche Auswanderung z. B. aus den Blättern der Platane stattfindet, zeigen die Zahlen von Tucker und Tollens (1900). Sie fanden in 5000 qcm Blattfläche der zwei ältesten Blätter an den Zweigen der Platane, die am 8. X. schon einzelne gelbe Flächen zeigten, am 5. XI. abgestorben waren, folgendes:

Datum	N	K_2O	P_2O_5
15. VII.	0,90	0,32	0,19
22. VIII.	0,71	0,31	0.18
7. IX.	0,74	0,33	0,18
8. X.	0,51	0,24	0,14
24. X.	0,30	0,17	0,09
5. XI.	0,19	0,20	0,07

Die drei wichtigen Substanzen wandern also vom Oktober ab, wahrscheinlich schon von Mitte September ab, stark aus den Blättern aus.

Dasselbe zeigen auch die Versuche von Swart, welcher grüne Blätter kurz vor der Färbung mit solchen verglich, welche unmittelbar nach der Verfärbung, ungefähr 3 Wochen nach dem Pflücken der grünen Blätter, gesammelt worden waren.

	Grün	Gelb	
N	1,46	0,46	Liriodendron tulipifera
P_2O_5	0,47	0,26	
K_2O	0,87	0,68	
N	1,80	0,59	Ginkgo biloba
P_2O_5	0,93	0,66	
K_2O	0,78	0,44	
N	1,06	0,25	Parotia persica
P_2O_5	0,34	0,21	
K_2O	0,49	0,39	

Daß der Stickstoff ganz oder teilweise von dem Eiweiß herrührt, lehren z. B. die Zahlen von Schultze und Schütz (1909, pag. 325), die in 200 Blättern von Acer Negundo am 2. bis 6. IX. 0, 81 g Eiweiß-N, am 25. IX. 0,49 Eiweiß-N fanden.

Vielleicht wandert auch der P ganz oder teilweise in Form organischer Verbindungen, die Spaltungsprodukte des Eiweißes sind. Wir kennen die Zusammensetzung des ergastischen Eiweißes der Chromatophoren nicht, doch scheint es nach mikrochemischen Erfahrungen nicht unmöglich, daß es Nukleinsäure enthält. Ebenso sind wohl die Nukleolen P-haltig. Es wandert durchschnittlich so wenig P im Verhältnis zum N aus, daß N und P sehr wohl ganz von Nukleoproteinen herrühren könnten.

Die abfallenden Blätter unserer Laubbäume enthalten immer noch N und P.

Ramann (1912) sammelte grüne „und zugleich abgestorbene und abgetrocknete Blätter desselben Baumes, die bei leichter Erschütterung der Äste abfielen". Er fand in 1000 Teilen Trockensubstanz:

	Eiche		Birke		Ahorn		Robinie	
	grün	abgest.	grün	abgest.	grün	abgest.	grün	abgest.
K_2O	11,54	4,99	13,01	7,25	10,73	7,87	18,01	17,06
P_2O_5	6,7	3,59	2,87	2,09	2,61	1,93	3,87	2,49
N	21,88	11,49	25,16	13,32	16,05	4,64	29,01	14,67

Bei einer anderen Reihe von Untersuchungen fand er, daß von N in den Blättern zurückblieben bei der Eiche 54,6 %, Birke 49,4 %, Ahorn 28,9 %, Robinie 60,6 %.

Die jährlich die Blätter abwerfenden Bäume sind vielleicht darauf eingerichtet, daß sie hauptsächlich die zur Synthese des Eiweißes besonders geeignete Spaltungsprodukte der Eiweißstoffe in die Achsen saugen, die Hauptmasse der übrigen N- und P-Verbindungen ihren Wurzeln durch die abfallenden Blätter wieder zuführen. Die Pflanzen, welche die Blätter an der Achse verdorren lassen, schicken vielleicht auch nur die Spaltungsstücke der Eiweißmoleküle in die Achsen, könnten aber auch den anorganischen N und die anorganische P_2O_5

mit zurücknehmen. Ganz ausgesogene Blätter dieser Art wurden noch nicht untersucht. Die Blätter von Laserpitium latifolium, welche Swart untersuchte, waren noch nicht genügend ausgesogen. Die gesonderte Untersuchung der nach Alter und Färbung geordneten, von großen Kulturen einer Rasse von Tropaeolum majus gesammelten Blätter würde die Frage der Auswanderung aller wichtigen Stoffe beim Altern der Blätter einwandfrei lösen können.

Das Chlorophyll verschwindet aus den Blättern vollständig mit der Lösung des ergastischen Eiweißes der Chloroplasten. Die grüne Farbe des Blattes blaßt selten gleichmäßig ab, meist bleibt das Chlorophyll in der Umgebung der Nerven am längsten erhalten. Stahl (1909, pag. 132) kommt durch dieses Verhalten der Blätter zu der Meinung, daß das Chlorophyll in ähnlicher Weise durch die Leitbündel auswandere wie die Stärke, und zwar in Form seiner Abbauprodukte.

Als Beweis dafür betrachtet er die Tatsache, daß abgeschnittene Blätter langsamer vergilben als solche, die an der Achse sitzen, ebenso ausgestanzte Stücke, daß sich ferner über durchschnittenen Leitungsbahnen das Grün länger hält. Er meint dann (pag. 530), daß der gelbe Anteil, der nur aus CHO besteht, in der Pflanze verbliebe, der grüne zerstört würde, weil er Mg und N enthielte und diese von der Pflanze gebraucht würden, daß also Mg und N des Chlorophylls auswanderten.

Davon, daß der Chlorophyllfarbstoff als solcher auswandere, sieht man nirgends etwas (s. auch Swart 1914, pag. 75). Daß Mg wahrscheinlich nicht auswandert, zeigte Swart (pag. 78). Dafür, daß N des Chlorophylls auswandere, haben wir keinen Anhaltspunkt. Dennoch wäre es nicht unmöglich, daß die biologische Deutung, welche Stahl dem Verbleiben der gelben Farbstoffe und dem Verschwinden der grünen Farbstoffe gibt, im wesentlichen richtig ist. Mir ist es jedoch wahrscheinlicher, daß sich die Sache folgendermaßen verhält. Das Grünbleiben der Chloroplasten in der Nähe der Leitungsbahnen hat seinen Grund darin, daß das Chlorophyll in dem Maße zersetzt wird, als ergastisches Eiweiß aus den Chloroplasten auswandert, und daß, kurz gesagt, das Chlorophyll sich ähnlich wie Stärke verhält. Bei Unterbrechung der Leitungsbahnen, welche die Spaltungsprodukte des Eiweißes abführen, verzögert sich dessen Verschwinden aus den Chloroplasten und damit die Zersetzung des Chlorophyllfarbstoffes.

Ehe wir uns auf die Besprechung der Tatsache einlassen, welche unser Versuch 7 auch lehrt, daß der Mangel des täglichen Lichtgenusses das Vergilben beschleunigt, wollen wir einen Versuch (8) beschreiben, welcher uns das Verhalten abgeschnittener und verdunkelter Blätter zeigt.

Bei solchen Blättern entspricht einer bestimmten Färbung der vergilbenden Blätter ganz dasselbe mikroskopische Bild, wie es in Abschnitt III für die an der Achse normaler Pflanzen vergilbten Blätter geschildert wurde, und doch muß die Verminderung des Eiweißes des Protoplasten hier von ganz anderen Faktoren bestimmt werden wie bei diesen.

Wir haben früher (Deleano 1912) das makrochemische Verhalten von im Dunkeln wachsenden Blätter untersucht. Wir arbeiteten mit Weinblättern. Die Blattspreiten wurden im Mediannerven durchgeschnitten, und jeder zu untersuchenden Portion gleich viele rechte und linke Hälften zugeteilt. Die eine Portion wurde getrocknet, die andere eine bestimmte Zeit atmen gelassen und dann ebenfalls getrocknet. Wassergehalt der Portionen und erzeugte CO_2 wurden bestimmt. Ich teile ein paar Versuchsresultate mit.

Für 100 g Frischgewicht fanden sich in Grammen:

Direkt untersuchte Blatthälften		Nach der Atmung
	Atmungszeit	22 Stunden
5,48	Kohlehydrate	5,31
0,67	Gesamt-N	0,66
0,55	Eiweiß-N	0,54
0,12	Extrakt-N	0,12
	Kohlensäure	0,21
	Atmungszeit	45 Stunden
	Stärkereaktion	stark
5,67	Kohlehydrate	4,84
0,67	Gesamt-N	0,66
0,57	Eiweiß-N	0,56
0,10	Extrakt-N	0,10
	Kohlensäure	1,09

Direkt untersuchte Blatthälften		Nach der Atmung
	Atmungszeit	144 Stunden
	Stärkereaktion	schwach
6,81	Kohlehydrate	3,99
0,36	Gesamt-N	0,64
0,54	Eiweiß-N	0,49
0,09	Extrakt-N	0,15
	Kohlensäure	4,41
	Atmungszeit	288 Stunden
	Stärkereaktion	fehlend
7,54	Kohlehydrate	1,11
0,64	Gesamt-N	0,66
0,10	Extrakt-N	0,24
	Kohlensäure	9,20

Aus der Gesamtheit der gemachten Untersuchung ging hervor, daß bis zu ungefähr 100 Stunden Atmungszeit, wo in der nach der Atmung untersuchten Portion ungefähr 4 g statt der anfangs vorhandenen 6 g Kohlehydrate gefunden wurden, die Eiweißstoffe annähernd intakt bleiben. Der Eiweiß-N bleibt bis zu 100 Stunden konstant. Die nach 288 Stunden gefundenen 0,45 g Eiweiß-N entsprechen ungefähr 2,81 g Eiweiß, davon waren in den 6 Tagen nach Beginn des Eiweißverbrauches 0,81 g verloren gegangen. Zugleich hatte der Extrakt-N zugenommen von 0,1 auf 0,24 g. Es waren also anscheinend alle N-haltigen Spaltungsstücke des Eiweißes noch in der Zelle vorhanden, denn die 0,14 g N entsprechen ungefähr 0,87 Eiweiß.

Diese Zahlen können uns selbstverständlich nur einen Fingerzeig dafür geben, was in der Einzelzelle, ja in einem einzelnen Blatt, während des Vergilbens durch die Atmung geschieht, da verschieden alte

und verschieden stärkereiche Blätter gemischt waren, die sich in verschiedenen Vergilbungsstadien befanden, als die makrochemische Untersuchung der Probe stattfand.

Einen klaren Einblick in die Verhältnisse, die in jedem Zustande der Verfärbung herrschen, würde man nur erhalten, wenn man dgr Blätter von Tropaeolum abschnitte und im feuchten Raume bis zu den Färbungen dgr, gr, hgr, sehr hgr, dunkel ge atmen ließ und die von gleicher Färbung gesondert sammelte und auf Kohlehydrate, Gesamt-N, Eiweiß-N, Extrakt-N untersuchte.

Wir können aber nach unseren Zahlen schon voraussehen, daß der Eiweißstickstoff bis zu einem gewissen geringen Kohlehydratgehalt der abgeschnittenen Blätter erhalten bleiben wird, daß aber dann eine energische Zerspaltung des Eiweißes und eine Veratmung der C-haltigen Spaltungsstücke eintreten wird, während der N in irgendeiner Form, z. B. als Ammoniak, in der Zelle zurückbleibt. Die Kohlehydrate schützen also das Eiweiß vor Lösung infolge der Atmung.

Was uns von den Resultaten des Versuches 8 zuerst interessiert, ist, daß 1. die abgeschnittenen auf Wasser liegenden Blätter beim Verdunkeln ganz denselben Farbenwechsel zeigen wie die an der Achse sitzenden, daß aber nicht regelmäßiges fl-werden eintritt, sondern, daß sich oft unregelmäßige Bezirke ausbilden, die selbständig vergilben und verhältnismäßig oft gegr werden; daß 2. die abgeschnittenen Blätter laugsamer vergilben als die der Saugung des abgeschnittenen Sprosses ausgesetzten Blätter.

Das abgeschnittene Blatt IV (Versuch 8) brauchte 31 Tage, das Blatt 3 desselben Versuches an dem abgeschnittenen Sprosse mit 15 Blättern 13 Tage, die verdunkelte Blatthälfte des an der intakten Pflanze mit 14 Blättern sitzenden Blattes 2 (Versuch 7) 14 Tage, die verdunkelte Blattseite des zweiten Blattes der geköpften Pflanze V, mit fünf Blättern (Versuch 7), 20 Tage. Durch die Tag und Nacht erfolgende Atmung des abgeschnittenen Blattes allein werden also die Kohlehydrate, welche das Eiweiß vor Lösung schützen, relativ langsam verbraucht, während durch die Atmung + die Saugung der wachsenden Spitze dieser Verbrauch schneller erfolgt, so daß Lösung des Eiweißes und Gelbwerden relativ bald eintritt. Es ist deshalb auch erklärlich, daß Tucker und Tollens (1900, pag. 41) fanden, daß 5000 qcm Blattfläche der Platane (5,54) enthielten

am 24. X.	in ungedeckten Blättern	0,302	g N
	in gedeckten Blättern	0,271	g N
am 9. XI.	in ungedeckten Blättern	0,430	g N
	in gedeckten Blättern	0,311	g N

Versuch 8.

Am 14. August wurde von einer im Freien wachsenden Pflanze mittags ein Sproß mit 16 erwachsenen Laubblättern, von denen das unterste schon gelb war, wie die Tabelle zeigt, abgeschnitten, von Zweigen, Blüten und Früchten befreit und mit dem unteren Ende in ein Glas mit Wasser gestellt. Die Blätter, die in der Tabelle mit römischen Ziffern bezeichnet sind (II, IV, VI, VIII, X, XII, XIV), wurden vom Sprosse entfernt und, ohne Stiel, mit der Oberseite auf Wasser gelegt. Der Sproß und die Schale mit den abgeschnittenen Blättern wurden in den Dunkelschrank gestellt. Der Sproß wuchs eine Zeitlang.

Blatt	14. VIII.	17. VIII.	20. VIII.	21. VIII.	22. VIII.	23. VIII.	24. VIII.	27. VIII.	4. IX.	15. IX.
1	dgr	gr	gr	hgr	R. ge-fl hgr	R. ge-fl hgr	R. gegr hrg	**ge**		
II	dgr	dgr	dgr	gr	gr	gr, hgr Flecken	hrg, gegr Flecken	gegr	**ge**[1])	
3	dgr	gr	gr	hgr	hgr, ge Flecken	hgr, ge Flecken	gr, gegr	**ge**		
IV	dgr	gr	gr	gr	gr	hgr	hgr, gegr Flecken	gegr	gegr	**ge**
5	dgr	gr	hgr	hgr gegr-fl	hgr und gegr	hgr und gegr	hgr, gegr ge	**ge**		
VI	dgr	gr	gr	gr, gegr Flecken	gr, gegr Flecken	gr, gegr Flecken	hgr, gegr Flecken		**ge** teilw. faul	
7	dgr	gr	hgr	gegr	**ge**					
VIII	dgr	gr	M. gegr gr	R. gr M. gegr	gegr	gegr	fast ge	**ge**		
9	dgr	gr	gegr	ge und gegr	**ge**					
X	gr	hgr und gegr	hgr und gegr	hgr und gegr	hgr und gegr	R. gegr ge	**ge**			
11	hgr	hgr	**ge**							
XII	hgr	hgr, gegr Flecken	gegr	ge und gegr	**ge**					
13	hgr	**ge**								
XIV	gegr-fl hgr, gegr Flecke	hgr, gegr Flecke	gegr	gegr, ge Flecke	ge, gegr Flecke	**ge**				
15	gegr	ge								
16	ge									

1) War durch Abschneiden von Stücken stark verletzt.

Beschleunigt wird selbstverständlich das Gelbwerden der auf Wasser liegenden, abgeschnittenen Blätter durch jeden Einfluß, welcher die Intensität der Atmung erhöht. So können z. B. Verletzungen des Blattes das Vergilben der verletzten Stellen oder des ganzen Blattes beschleunigen.

Daß die Lösung des ergastischen Eiweißes der Chloroplasten kein Vorgang ist, den die Achse in irgendeiner Weise unterstützen muß, sondern ein Prozeß, der von dem Protoplasten des Blattes, vielleicht vorzüglich von den Chloroplasten, durchgeführt wird, sobald Mangel an Kohlehydraten eintritt, geht daraus hervor, daß dieser Prozeß auch in abgeschnittenen Blättern vor sich geht.

Wenn ich die Atmung und die Absaugung die Wegnahme zuerst der Kohlehydrate, dann der C-haltigen Spaltstücke des Eiweißes besorgen lasse, so daß die Wirkung des Protoplasten oder vielleicht seiner Enzyme voll einsetzen kann, so muß die Lösung des Eiweißes sehr schnell vor sich gehen. Daß das in der Tat der Fall ist, zeigt Versuch 9.

Versuch 9.

Das Blatt 3 einer gegeizten Topfflanze mit sieben erwachsenen Blättern und einer mit sieben noch nicht völlig erwachsenen Blättern besetzten Spitze von 80 cm Länge wurde in einen tubulierten Glaskolben, dessen einer Tubus mit einer Natronkalkröhre verschlossen war und auf dessen Boden sich Kalilauge befand, luftdicht eingeschlossen und beleuchtet.

Nach 4 Tagen war das Blatt völlig hell-ge, nur um die Nerven befand sich noch ein hellgrüner Rand von höchstens 0,3 mm Breite. Obgleich die Pflanze sehr stark wuchs, war Blatt 5 noch dunkelgrün.

Unter normalen Verhältnissen kommt in den Blättern die Atmung als die Eiweißlösung beschleunigender Prozeß gar nicht zur Wirkung, da ja durch die Assimilation, wenn sie kräftig genug ist, immer wieder soviel Kohlehyrat gebildet wird, daß trotz Atmung + Ableitung das Eiweiß vor dem Angriff durch Atmung geschützt bleibt.

Nachdem, was wir bisher kennen gelernt haben, ist es sicher zu erwarten, daß man bei genauer makrochemischer Untersuchung des Eiweißgehaltes der Blattspreiten normal vegetierender Pflanzen am Morgen weniger Eiweiß in den Spreiten finden wird als am Abend. Es muß eine Zunahme des Eiweißes am Tage erfolgen, in der Art wie wir sie in Abschnitt 4 kennen lernten, wenn die Chloroplasten nicht durch die ganztägige Absaugung des ergastischen Eiweißes mehr und mehr an Volumen abnehmen sollen. Schulze und Schütz (1909, pag. 325) haben in 200 annähernd gleich großen Blättern von Acer Negundo an Eiweißstickstoff gefunden, am:

	Morgens	Abends
7. V.	0,61 g	0,67 g
6. VI.	0,87 g	1,05 g
5. VII.	1,15 g	1,25 g
2. VIII.	0,77 g	0,79 g

Hier tritt deutlich ein Unterschied im Eiweißgehalte der am Morgen und Abend gesammelten Blätter hervor. Bei Benutzung gleichaltriger und bei sorgfältiger Messung der Blattflächen würde man wohl noch größere Unterschiede feststellen und einwandfreie Zahlen erhalten können.

Da die Lösung des Eiweißes der Chloroplasten ein Vorgang ist, der von dem Protoplasten selbständig durchgeführt wird, so ist zu erwarten, daß noch andere als die hier aufgeführten, hauptsächlich in Betracht kommenden Faktoren die Energie der Eiweißlösung und das Vergilben unter Umständen beeinflussen könnten.

Was nun die Tatsache, daß die ältesten Blätter eines Sprosses stets zuerst vergilben, die anderen ihrem Alter nach folgen, welche wir in Versuch 1 und 7 klar hervortreten sehen, betrifft, so ist diese Erscheinung schon lange bekannt. Stahl (1909, pag. 132) und ebenso Swart (1914, pag. 10) machen darauf aufmerksam. Swart bespricht die Bedeutung des „Alterunterschiedes“. Er sagt: „Die Arten, die im Frühling ihre Blätter in weit auseinanderliegenden Fristen entfalten, sehen wir gleichzeitig mit ganz vergilbten und noch frischen grünen Blättern versehen; andere Arten wieder, an denen sich sämtliches Laub fast zu gleicher Zeit entwickelt, haben sich dementsprechend auch gleichmäßig mit ihrer Herbstfarbe geschmückt.“ pag. 113 finden wir: „Kurz zusammengefaßt können wir also unsere anfänglich gestellte Frage dahin beantworten, daß das Ableben der Blätter in der Hauptsache selbstregulatorisch erfolgt und sich im allgemeinen als Alterserscheinung dokumentiert.“

Es ist selbstverständlich, daß die Lebensgrenze, welche (s. Arthur Meyer, 1906) jedes aus sich nicht mehr teilenden Zellen bestehende Organ besitzt, von Bedeutung für die maximale Zeit ist, nach welcher das Vergilben eines Blattes eintreten muß. Aber es vergilbt das Blatt oft normalerweise viel früher als es aus Altersursachen sterben müßte, so daß wir den Blattfall nicht ohne weiteres als „Alterserscheinung“ bezeichnen dürfen.

Wir sehen z. B. in Versuch 7 das Blatt 1 der normalen Pflanze nach 40 Tagen gelb werden, das der geköpften nach 58 Tagen noch dgr, so daß es also frühestens nach 90 Tagen ge sein würde. Es tritt also bei ganz normalem Wachstum der Pflanze die Gelbfärbung in der Mitte der Lebenszeit des Blattes ein.

Es spielt aber doch die Zeit, welche der Protoplast gearbeitet hat, vielleicht die Dauer der Abnutzung der Maschine, eine Rolle bei dem Gelbwerden der Blätter. Es ist Tatsache, daß mit dem Alter eine „Schwächung" der Organismen eintritt, wie man eine solche „Schwächung" auch künstlich durch „schädigende" Mittel hervorbringen kann. Ich habe die Frage der Schwächung untersuchen lassen. Garbowski (1907) fand, daß die Schwächung durch die verschiedensten Agentien mit demselben Resultate hervorgebracht werden kann.

Ich habe nun ein Blatt mit Ammoniak geschwächt und sah, daß es relativ früh vergilbte. Versuch 10 demonstriert dieses Verhalten des Blattes.

Versuch 10.

Die benutzte Topfpflanze hatte am 3. VIII. eine 13 cm lange, sieben erwachsene Laubblätter tragende Hauptachse. Am 22. VIII. war die Hauptachse 100 cm lang und trug außer den Blättern fünf neue erwachsene und 16 junge Blätter. Die sieben erwachsenen Blätter vom 3. VIII. waren an dem folgenden Tage und demnach nach folgender Anzahl von Tagen gelb geworden:

Blatt	Am	Nach Tagen
7	17. VIII.	14
6	22. VIII.	19
5	30. VIII.	27
4	2. IX.	33
3	5. IX.	36
2	9. IX.	40
1	11. IX.	42

Das jüngste der am 22. VIII. außer den sieben vorhandenen ausgewachsenen fünf Blättern, welches also fünf Blätter von Blatt 1 nach der Spitze zu entfernt war, wurde den Dämpfen einer 5 %igen Ammoniaklösung 10 Sekunden lang ausgesetzt; es sah am 24. durchaus gesund aus, bekam aber schon am 27. im dgr gr Stellen und wurde am 11. IX. gelb. Es war also anscheinend eine Schwächung eingetreten, welche zur relativ frühen Lösung des Eiweißes führte.

Wir können aber diesen Einfluß der Schwächung durch das Alter verdecken, wenn wir ein Blatt einer Pflanze gegenüber den anderen Blättern derselben Pflanze kohlehydratarm oder überwiegend kohlehydratreich machen. Das lehren uns z. B. die Blätter 4 und 11 des folgenden Versuches. Das an Kohlehydraten reiche Blatt 11 sollte seinem Alter nach früher vergilben als das kohlehydratarme Blatt 4; 11 vergilbt aber am 4. X., 4 sogar schon am 3. X.

Bei Versuchen, in welchen die Altersunterschiede der Blätter durch den Kohlehydratreichtum derselben ausgeglichen werden sollen, ist zu beachten, daß sie an genügend lichtreichen und warmen Tagen angestellt werden müssen und daß die Stärkefreiheit des Blattes nicht ohne weiteres eine genügende Kohlehydratarmut gewährleistet. Nach

Gast (1917, pag. 28) enthielt die trockene Blattsubstanz von Tropaeolum majus am 25. VII. 3 Uhr vormittags 5,6 % Stärke, 2,6 % Saccharose, 0,7 % Maltose, 2 % Dextrose + Lävulose. Man muß also Blätter, nachdem sie ihre Stärke im Dunkeln verloren haben, noch einige Zeit weiter verdunkelt an der Pflanze halten, wenn sie genügend arm an Kohlehydraten werden sollen.

Der Versuch 11 lehrt uns aber auch, daß dann, wenn verschiedene Reihen an der Pflanze sitzender Blätter in verschiedene Assimilationsverhältnisse, überhaupt in Verhältnisse, in denen ihr Vermögen, Kohlehydrate zu erlangen, in gleicher Art beeinflußt wird, für jede Reihe der Unterschied in den Zeiten, in welchen das Vergilben einer Reihe der Blätter stattfindet, erhalten bleibt.

Versuch 11.

Die benutzte, im Glashaus wachsende, gegeizte Pflanze besaß 18 ausgewachsene Laubblätter. Das 1. und 13. Blatt enthielt Stärke. Es wurden die Blätter 3, 5, 7, 10 abgeschnitten und am 17. IX. im Dunkeln mit der Unterseite auf Wasser gelegt (....).

Die Pflanze wurde verdunkelt. Am 20. IX. war das gr Blatt 1 und das gegr 13 stärkefrei. Jetzt wurde das schon ge-fl Blatt 12, das vereinzelte gegr Flecke zeigende Blatt 9 und das hgr Blatt abgeschnitten und im Dunkeln auf Wasser gelegt (—).

Die Pflanze wurde am 20. IX. geköpft und an das Licht gestellt. Am 24. IX. enthielt das Blatt 1 in den Palisadenzellen wieder Stärke. Es wurde im Dunkeln auf Wasser gebracht: das hgr-fl Blatt 11, das hgr etwas ge-fl Blatt 8, das gleich aussehende Blatt 6 und das hgr Blatt 2 (=).

Die Blätter vergilbten an den im folgenden angegebenen Tagen:

2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
=	....	—	....	=	....	=	—	....	=	—
6. X.	5. X.	3. X.	5. X.	5. X.	4. X.	5. X.	28. IX.	2. X.	4. X.	27. IX.

Also die ursprünglich stärkehaltigen Blätter:	3	5	7	10
	5. X.	5. X.	4. X.	2. X.
Die nach der Verdunkelung wieder durch Beleuchtung stärkehaltig gemachten Blätter:	2	6	8	11
	6. X.	5. X.	8. X.	4. X.
Die stärkefreien Blätter:	4	9	12	
	3. X.	28. IX.	27. IX.	

Das Wasser war abgekocht und die Blätter mit der Brause sorgfältig gewaschen; sie blieben deshalb völlig pilzfrei. Das Vergilben trat an verschiedenen Blattstellen, wohl weil sie das Wasser verschieden berührten, sehr verschieden schnell ein, doch war die Verschiedenheit des Endtermins deutlich zu erkennen.

Wenn wir wissen, daß der verhältnismäßige Kohlehydratreichtum von Bedeutung für die Vergilbungszeit ist, so werden wir wohl recht

haben, wenn wir annehmen, daß auch in jeder Reihe der Gesamtkohlehydratgehalt in den älteren Blättern geringer ist als in den jüngeren und deshalb auch die Schutzwirkung für Eiweiß. So würde sich die Tatsache erklären, daß das Vergilben in der Reihenfolge des Alters der Blätter erfolgt.

Den Einfluß des Alters müßten wir dann in der verhältnismäßig geringen Produktion von Kohlehydraten durch ältere Blätter suchen. Wir besitzen auch für die verhältnismäßig kleine Assimilationsenergie alter Blätter schon ein Zeugnis.

Willstätter und Stoll (1915) erhielten folgende Resultate:

		qcm Blattfläche	In einer Stunde assimilierte CO_2 in g
2. XI.	Populus pyramidalis, tiefgrüne Blätter . .	376	0,152
2. XI.	Derselbe Baum, gelbgrüne Blätter	336	0,031
30. VII.	Acer pseudoplatanus, tiefgrün	271	0,080
5. X.	„ „ grüne Blätter mit gelben Flecken	344	0,064
26. X.	Robinia pseudacacia, jüngere tiefgrüne Blätter, ...	340	0,083
24. X.	Derselbe Baum, ältere gelblichgrüne Blätter	355	0,011

Schöner würde es sich wohl für unsere Zwecke bei Tropaeolum zeigen lassen, daß die Assimilationsenergie von dgr nach gr, hgr und ge hin abnimmt, wenn man den CO_2-Verbrauch eines an der Pflanze sitzenden dgr, gr, hgr und ge Blattes unter denselben Licht-, Kohlensäure-, Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsverhältnissen bestimmte. Es müßten vier möglichst gleiche und gleich wachsende Pflanzen ausgesucht und gegeizt werden, an jeder nur ein Versuchsblatt gelassen werden, und die Pflanzen noch 1—2 Tage vor dem Versuche nebeneinander im Gewächshause in Kultur gehalten werden.

Aber durch diese Bestimmung der geringeren Assimilationsgröße älterer, selbst der hgr Blätter, hätten wir wahrscheinlich keine einfache Größe gemessen, denn diese Assimilationsenergie des Blattes ist bedingt durch das Kleinerwerden der Chloroplasten und die Schwächung des Organes, die durch das Altern desselben bewirkt wurde. Wir müssen die Schwächung des Organes und den Erfolg des Schwindens des ergastischen Eiweißes auseinanderhalten. Die Schwächung des Organes ist der ursprüngliche Anstoß, der Abbau des Eiweißes die Folge dieses Anstoßes, dann aber ein Faktor, welcher das Vergilben beschleunigt.

Ich denke, daß durch meine Untersuchung eine etwas größere Klärung unseres Wissens von dem Vergilbungsvorgang bewirkt worden

ist, einem Vorgang, für welchen sich auch mein verehrter Kollege Stahl interessierte, zu dessen Füßen ich als lernbegieriger Student saß.

Eine Zusammenfassung will ich nicht geben, da eine genaue makrochemische Untersuchung der Vorgänge, die sich bei der Atmung abspielen, noch fehlt.

Meine Assistenten, Herr Dr. Ch. Kiehn und Herr Dr. Fr. J. Meyer, sind mir bei den Versuchen in dankenswerter Weise zur Hand gegangen und haben die Zeichnungen angefertigt.

Botanisches Institut der Universität Marburg, am 15. Oktober 1917.

Literatur.

Belzung, Nature des Sphérocristaux des Euphorbes calciformes. Journal de Botanique 1893, Tome VII, pag. 221.

Chrapowicki, Beobachtungen über die Eiweißbildung in den chlorophyllführenden Pflanzen. Arbeiten der St. Petersburger Naturforscher-Gesellsch., Bd. XVIII, pag. 1—27 [Russisch]. Referat von Rothert in Botan. Zentralbl. 1889, Bd. XXXIX, pag. 352.

Deleano, Nicolas T., Studien über den Atmungsstoffwechsel abgeschnittener Laubblätter. Jahrb. f. wissensch. Botanik 1912, Bd. LI, pag. 541.

Garbowski, L., Über Abschwächung und Variabilität bei Bacillus luteus und Bacillus tumescens. Dissert. Marburg 1907. Auch Zentralbl. f. Bakteriol. und Parasitenk. 1907, II. Abt., Bd. XIX.

Gast, Quantitative Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel im Laubblatt. Hoppe-A. Seyler's Zeitschr. f. physiol. Chemie, 99. Straßburg 1917.

Godlewski père, Sur la formation des matières albuminoides dans les plantes. Anzeig. der Akademie der Wissensch. in Krakau 1903, pag. 313.

Griffon, Relations entre l'intensité de la coloration verte des feuilles et l'assimilation chlorophyllierme; Note présentée par M. Gaston Bonnier. Compt. rend. 1899, pag. 253.

Hansteen, Beiträge zur Kenntnis der Eiweißbildung und der Bedingungen der Realisierung dieses Prozesses im phanerogamen Pflanzenkörper. Berichte der Deutschen botan. Gesellsch. 1896.

Ders., Über Eiweißsynthese in grünen Phanerogamen. Jahrb. f. wissensch. Botanik 1899, Bd. XXXIII, pag. 417.

Laurent et Marchal, Recherches sur la synthèse des substances albuminoides par les végétaux. Bruxelles 1903 und Bulletins de l'Académie Royale de Belgique 1903, pag. 55.

Mer, Des phénomènes végétatifs qui précèdent ou accompagnent le dépérissement et la chute des feuilles. Bulletin de la Société Botanique de France 1876 Tome XXIII, pag. 176.

Meyer, Arthur, Das während des Assimilationsprozesses in den Chloroplasten entstehende Sekret. Berichte der Deutschen botan. Gesellsch. 1917.

Ders., Notiz über eine die supramaximale Tötungszeit betreffende Gesetzmäßigkeit Berichte der Deutschen botan. Gesellsch. 1906, Bd. XXIV, pag. 340.

Molisch, Hans, Die Eiweißprobe makroskopisch angewendet auf Pflanzen. Zeitschrift f. Botanik 1916, 8. Jahrg., pag. 124.

Palladin, Influence de la lumière sur la formation de matières protéiques actives. Revue générale de Botanique 1899, Tome II.

Prianischnikow, Eiweißzerfall und Eiweißrückbildung in den Pflanzen. Berichte der Deutschen botan. Gesellsch. 1899, Bd. XVII, pag. 151.

Ramann, Die Wanderungen der Mineralstoffe beim herbstlichen Absterben der Blätter. Landwirtschaftl. Versuchsstationen 1912, Bd. LXXVI, pag. 157.

Sapožnikow, Eiweißstoffe und Kohlehydrate der grünen Blätter als Assimilationsprodukte. 61 pag. Mit 1 Tafel. Tomsk 1894. Referat von Rothert, Botan. Zentralbl. 1895, Bd. LXIII, pag. 246.

Schimper, A. F. W., Über Kalkoxalatbildung in den Laubblättern. Botanische Zeitung 1888, pag. 81.

Schultze und Schütz, Die Stoffwandlungen in den Laubblättern des Baumes, insbesondere in ihren Beziehungen zum herbstlichen Blattfall. Landwirtsch. Versuchsstationen 1909, Bd. LXXI, pag. 299.

Stahl, Zur Biologie des Chlorophylls, Laubfarbe und Himmelslicht, Vergilbung und Etiolement. Jena 1909, Gustav Fischer.

Swart, Die Stoffwanderung in ablebenden Blättern. Jena 1914, Gustav Fischer.

Tucker und Tollens, Über den Gehalt der Platanenblätter an Nährstoffen und die Wanderung dieser Nährstoffe beim Wachsen und Absterben der Blätter. Journal f. Landwirtsch. 1900, Bd. XLVIII, pag. 39.

Willstätter und Stoll, Untersuchungen über Chlorophyll. Berlin 1913, Springer.

Dies., Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berichte der Deutschen chem. Gesellsch. 1906, Bd. II, pag. 1540.

Zaleski, Zur Kenntnis der Eiweißbildung in der Pflanze. Berichte der Deutschen botan. Gesellsch. 1897, Bd. XV, pag. 536.

Ders., Über die Rolle des Lichtes bei der Eiweißbildung in der Pflanze. Berichte der Deutschen botan. Gesellsch. 1909, Bd. XXVII, pag. 56.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Flora oder Allgemeine Botanische Zeitung

Jahr/Year: 1918

Band/Volume: 111-112

Autor(en)/Author(s): Meyer Arthur

Artikel/Article: Eiweißstoffwechsel und Vergilben der Laubblätter von Tropaeolum majus 85-127