Einige Untersuchungen über das Cytochrom der Bakterien.*

Von

Seizaburo Yamagutchi.

Mit 1 Textfigur.

Eingegangen am 30. März 1937.

Über das Cytochrom von Bakterienzellen liegt schon eine Anzahl der Arbeiten vor, in denen aber die Angaben von verschiedenen Autoren nicht immer miteinander völlig übereinstimmen. Im folgenden seien die Resultate meiner neueren diesbezüglichen Beobachtung mitgeteilt, die den Angaben von anderen Forschern zum Teil ergänzend zum Teil aber etwas zuwiderlaufend erscheinen.

Methodisches.

Zur Untersuchung gelangten in der Regel die auf Pepton-Bouillon-Agar 20 Stdn. lang gezüchteten Bakterien, ausgenommen nur *Bacillus mycoides* und *B. xylinum*, die auf Pepton-Bouillon 40 Stdn. lang kultiviert wurden. Kulturtemperatur war stets 30°. Vor dem Gebrauch wurden die Bakterien mittels einer Platinöse gesammelt, in 0.9-proz. NaCl-Lösung suspendiert und auf der Zentrifuge zweimal gewaschen. Zur Spektroskopierung (unter Anwendung des ABBÉ-Mikrospektroskops) wurde die Bakterienmasse entweder direkt auf den Objektträgern gebracht oder in $\frac{1}{5}$ Mol. Phosphatpuffer (pH 7.3) dick suspendiert. Als Lichtquelle diente eine 1000 Watt Osram-Metallfadenlampe.

Ergebnisse.

Die Cytochromtypen der untersuchten Bakterien sind in der Tabelle 1 zusammenfassend angegeben, wobei wie üblich folgende Bezeichnungen¹⁾ gebraucht wurden;

a_2 : der Streifen mit dem Absorptionsmaximum an etwa 630 m μ .

a_1 : derselbe an etwa 590 m μ .

* Mitteilung aus dem Tokugawa Biologischen Institut. Ein Teil der Ergebnisse vorliegender Arbeit wurde im Okt. 1935 an der 11. Versammlung der Japanese Association for the Advancement of Science in Kanazawa veröffentlicht.

1) Vergl. SHIBATA, K.: *Ergebn. Enzymforsch.*, **4** (1935), 348; KEILIN, D.: *Nature*, **133** (1934), 290; ROCHE, J. u. M.-TH. BÉNÉVENT: *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **18** (1936), 1650.

a : derselbe an etwa 603 $m\mu$.

a' : derselbe an etwa 598 $m\mu$.

b : derselbe an etwa 565 $m\mu$.

b_1 : derselbe an etwa 560 $m\mu$.

c : derselbe an etwa 550 $m\mu$.

$b > c$: b -Streifen ist intensiver als c .

$b = c$: b und c sind fast gleich intensiv.

$b < c$: c ist intensiver als b .

Die Klammer bedeutet die fragliche oder schwere Nachweisbarkeit des betreffenden Streifens.

Tabelle 1. Cytochromtypen der Bakterien.

<i>Micrococcus ochraceus</i>	$a' b_1 c$	$b_1 > c$	<i>B. coli communis</i>	$a_2 a_1 b_1(c)$	$b_1 > c$
<i>M. citreus</i>	$a' b c$	$b \leq c$	<i>Proteus vulgaris</i>	$a_2 a_1 b_1 c$	$b_1 > c$
<i>M. agilis</i>	$a' b c$	$b = c$	<i>P. mirabilis</i>	$a_2 a_1 b_1 c$	$b_1 > c$
<i>Sarcina lutea</i>	$a' b c$	$b \leq c$	<i>Bacillus mycoides</i>	$a b_1$	
<i>S. aurantiaca</i>	$a' b(c)$	$b > c$	<i>B. tumefaciens</i>	$a b_1 c$	$b_1 = c$
<i>Sarcina</i> sp.	$a' b_1 c$	$b_1 = c$	<i>Staphylococcus aureus</i>	$a' b_1$	
<i>Bacillus pyocyaneus</i> II	$a' b_1 c$	$b_1 \leq c$	<i>S. citreus</i>	$a' b_1$	
<i>B. pyocyaneus</i> IV	$(a') b_1 c$	$b_1 \leq c$	<i>Bacterium xylinum</i>	$a b_1 c$	$b_1 < c$
<i>B. fluorescens</i> liq.	$a' b_1 c$	$b_1 \leq c$	<i>Bacillus subtilis</i>	$a b c$	$b = c$
<i>B. fluor. albus</i>	$a' b_1 c$	$b_1 \leq c$	<i>B. mes. vulgatus</i>	$a b c$	$b < c$

Beim Überblick über die obige Zusammenstellung bestätigt man folgende Tatbestände:

(1) Bei allen untersuchten Bakterienarten ist stets der b - (oder b_1) Streifen vorhanden.

(2) Wenn der a -Streifen fehlt oder wenigstens nicht sichtbar ist, sind stets die Streifen a_2 und a_1 oder der Streifen a' vorhanden. Bei *B. fluorescens liquefaciens*, *B. fluorescens albus* und *B. mycoides*, bei denen wir in der früheren Arbeit¹⁾ den a -Streifen nicht nachweisen konnten, wurden durch Erhöhung der Dicke der Bakterienmasse a' - bzw. a -Streifen mehr oder minder deutlich beobachtet.

(3) Der c -Streifen ist bei fast allen untersuchten Bakterienarten vorhanden. Im Gegensatz zu den Befunden von KEILIN²⁾ sowie von FUJITA und KODAMA³⁾ liess sich bei *Proteus*-Arten der c -Streifen ziemlich deutlich nachweisen. Auch bei *B. coli communis*, der gewöhnlich als c -frei bekannt ist, bemerkt man bei Verdickung der Bakterienmasse eine asymmetrische

1) TAMIYA, H. u. S. YAMAGUCHI: Acta Phytochim., **7** (1933), 233.

2) KEILIN, D.: Nature, **133** (1934), 290.

3) FUJITA, A. u. T. KODAMA: Biochem. Zeitschr., **273** (1934), 186.

Streckung des b_1 -Streifens nach kurzwelliger Seite bis zum Bereich des c -Streifens. Es ist sehr wohl möglich, dass hierbei der c -Streifen, der sich gewöhnlich dem spektroskopischen Nachweis entzieht, von dem b_1 -Streifen beschattet vorliegt. Nur bei *B. mycoides* und *Staphylococcus*-Arten konnte ich auch bei genügender Konzentrierung der Bakterienmasse gar keine Verdunkelung an $550\text{ m}\mu$ beobachten. Diese letzteren Arten sind noch dadurch charakterisiert, dass deren b_1 -Streifen etwas nach kurzwelligerer Seite verschoben ist (ca. $557\text{ m}\mu$).

(4) Die Streifen a_2 und a_1 kommen nur bei *B. coli communis* und *Proteus*-Arten zur Beobachtung. Der Streifen a_2 ist stets viel intensiver und schärfer als a_1 . Die Lage der a_2 -Streifen stimmt mit den Befunden von KEILIN sowie FUJITA u.a. gut überein. Dagegen liess sich die Maximalabsorption von a_1 -Streifen, der sich von $600\text{ m}\mu$ bis etwa $585\text{ m}\mu$ erstreckt, wegen der Verschwommenheit des Bandes kaum genau feststellen.

Bei wiederholter Beobachtung kam es gelegentlich vor, dass bei ein und derselben Bakterie die Anwesenheit und die Lage der einzelnen Streifen sowie die Intensitätsverhältnisse der Bänder jenach den Kulturbedingungen nicht immer gleich auffallen, was man bei Besprechung der Cytochromtypen immerhin ins Auge zu fassen hat.

Wenn man die Bakteriensuspension mit Luft heftig schüttelt, so verschwinden alle Streifen vollständig. Beim ruhigen Stehen tritt zunächst der c -Streifen plötzlich auf und erreicht geschwind ihre maximale Intensität; dagegen erscheint der b - (oder b_1 -) Streifen immer später und gelangt seine Maximalstärke stets viel langsamer als der c -Streifen. Schüttelt man die vollreduzierte Bakterien-suspension mit wenig Luft, so verschwinden in meisten Fällen zunächst nur der b - (oder b_1 -) Streifen, während dabei der c -Streifen noch fast voll intensiv bleibt. Der a - (oder a' -) Streifen, verhält sich im wesentlichen analog dem c -Streifen. Die ganze Erscheinung stellt also den neulich von TAMIYA u.a.¹⁾ definierten Quasigleichgewichtszustand der Cytochromkomponenten dar, der nach den genannten Autoren besonders bei Zellen mit schwacher Dehydraseaktivität eindeutig zur Beobachtung kommt.

Auch gegen Blausäure verhalten sich die einzelnen Cytochromstreifen recht verschiedentlich, indem das Verschwinden von c -Streifen durch CN viel deutlicher gehemmt wird als dasjenige von b - (oder b_1 -) Streifen. Setzt man zur Bakterien-suspension nach dem Schütteln mit Luft eine verdünnte KCN-Lösung (z.B. 10^{-4} Mol) hinzu, so tritt zunächst der c -Streifen plötzlich auf, während der b -Streifen viel später erscheint. Um den Einfluss von CN näher zu untersuchen, wurde eine Suspension von

1) TAMIYA, H. u. Y. OGURA: Acta Phytochim., 9 (1937), 123.

Sarcina lutea, die zur Abschwächung des Dehydrasesystems vorher 60 Minuten lang auf 52° erwärmt wurde, mit KCN-Lösung von verschiedenen Konzentrationen versetzt, und dann mit Luft heftig geschüttelt, wobei folgendes konstatiert wurde:

Mol. KCN	<i>b</i> ₁ -Streifen	<i>c</i> -Streifen
0	verschwindet vollkommen; beim Stehen tritt nach 30 Sek. undeutlich auf, um erst nach 100–120 Sek. vollintensiv zu werden.	verschwindet vollkommen; tritt nach 25–30 Sek. plötzlich auf, und erreicht sofort maximale Intensität.
10 ⁻⁵	wie oben.	verschwindet teilweise.
10 ⁻⁴	wie oben.	bleibt in voller Stärke.
2 × 10 ⁻⁴	verschwindet teilweise; beim Stehen erreicht nach 100–120 Sek. maximale Stärke.	wie oben.
10 ⁻³	verschwindet teilweise; beim Stehen erreicht nach 120–140 Sek. maximale Stärke.	wie oben.

Was nun die anderen Cytochromstreifen anbelangt, so ist es auch bei *a*₁- und *a*₂-Komponenten (bei *Proteus*-Arten und *B. coli communis*) der Fall, dass der Streifen beim Schütteln mit Luft vollständig verschwindet und beim ruhigen Stehen wieder an ursprünglichem Ort erscheint. Gleichzeitig mit dem Verschwinden von *a*₂-Streifen bemerkt man oft eine sehr verschwommene Absorption an etwa 645 *mμ*¹⁾. Verschwinden von *a*₁-Streifen wird durch Blausäure in niedriger Konzentration (10⁻⁵ Mol) praktisch gar nicht, in höherer (2 × 10⁻³ Mol.) aber vollständig gehemmt. Bei Zugabe von CN in höherer Konzentration kommt eine gewisse Verstärkung des *a*₁-Streifens zustande, wobei aber keine Verschiebung des Absorptionsmaximums festgestellt werden konnte. Ferner steht meine Beobachtung mit den Befunden von KEILIN, FUJITA u.a.¹⁾ darin nicht in Einklang, dass der *a*₂-Streifen bei KCN-Zugabe (z.B. 2 × 10⁻³ Mol.), gleichgültig ob unter anaerober oder aerober Bedingung, unverändert bleibt. Das Verhalten von *a*₁- und *a*₂-Streifen bei *Proteus mirabilis* ist aus der Darstellung in der

Fig. 1. Cytochromstreifen von *Proteus mirabilis*.

1) Vergl. KEILIN, D.: l.c. und FUJITA, A. u. KODAMA, T.: l.c.

beiliegenden Figur ersichtlich. Jedenfalls wird das Verschwinden des a_2 -Streifens durch CN recht deutlich gehemmt, was bei der Besprechung des Wirkungsmechanismus der a_2 -Komponente in Erwägung gezogen werden muss.

Zum Schluss erfülle ich gern die Pflicht, Herrn Direktor Dr. H. HATTORI, Herrn Prof. Dr. K. SHIBATA sowie auch Herrn Dr. H. TAMIYA, für die lebenswürdige Unterstützung bei dieser Arbeit meinen besten Dank auszudrücken.

Tokugawa Biologisches Institut, Tokyo.

Über die Konvektion und Verdunstung als physikalische Komponente der Transpiration.

(Vorläufige Mitteilung.)

Von

Kwan Koriba.

Mit 1 Tafel und 2 Textfiguren.

Eingegangen am 31. März 1937.

Dass der Wärme- und Dampfaustausch des Blattes durch Konvektionen beeinflusst wird, wurde schon mehrfach betont (1, 3, 7, 8, 9, 10, 11, 12); die nähere Analyse dieser Vorgänge ist aber noch nicht ausgeführt. Gewöhnlich versteht man unter der Konvektion Luftbewegungen, die kaum als Wind definierbar sind. In kausaler Hinsicht muss man aber, sofern man ein Blatt oder überhaupt einen Austauschkörper in Betracht zieht, streng auseinanderhalten, ob die Strömung vom Blatt selbst ausgeht oder von aussen herbeigeführt wird. Die erstere wird durch Dichteänderung blattnaher Luftschichten gegenüber den sie umgebenden hervorgerufen, sie ist mit Bezug auf das Blatt eine autogene Strömung, während die letztere von heterogener Natur ist. Wir möchten daher jene als „Autokonvektion“ und diese als „Heterokonvektion“ bezeichnen. In aeromechanischer Hinsicht ist jene statisch, während diese dynamisch ist.

1. Rauchprobe für schwache Strömung.

Bei der Untersuchung der Autokonvektion ist es vor allem nötig, zuerst