

## Ueber Sauerstoffausscheidung von Pflanzenzellen im Mikrospektrum.

Von

**Th. W. Engelmann**

in Utrecht.

---

Hierzu Tafel XI.

---

Im vergangenen Herbst und Winter habe ich die Abhängigkeit der Sauerstoffausscheidung grüner Zellen von der Wellenlänge des Lichtes mittelst der Bakterienmethode <sup>1)</sup>, unter Anwendung eines für diesen Zweck nach meinen Angaben von Carl Zeiss angefertigten Mikrospektralapparates, näher untersucht. Eine kurze Mittheilung hierüber möge an diesem Orte gestattet sein.

Der Apparat <sup>2)</sup>, welcher bestimmt ist, ein mikroskopisch kleines Spektrum in der Ebene des Objekts zu entwerfen, tritt beim Gebrauch an die Stelle der gewöhnlichen Beleuchtungsvorrichtungen des Mikroskops (Spiegel und Diaphragmen). Er besteht aus: 1) einem in jeder Richtung verstellbaren Planspiegel, 2) einem doppelten Spaltmechanismus, nämlich a) einem mittelst einer Mikrometerschraube bilateral symmetrisch beweglichen Spalt, dessen Weite innerhalb der Grenzen von 0 und 2 mm bis auf etwa 0,001 mm genau regulirt werden kann, b) zwei senkrecht zu denen von a beweglichen 's Gravesande'schen Schneiden, zur Regulirung der Länge der Lichtspalte, 3) einer Collimatorlinse, 4) einem geradsichtigen Prisma, 5) einem Objektivsystem zur Entwerfung des Spektralbildes des Spalts. Da es, in Verband mit der Natur der Objekte und der disponibelen, bezüglich erforderlichen Lichtstärke,

---

1) Vgl. dies Archiv, Bd. XXV. 1881. S. 285.

2) Derselbe ist an den grösseren Zeiss'schen Stativen ohne Weiteres zu verwenden. Er ist mit zugehörigem Ocularmikrometer zum Preise von ca. 130 Mark von C. Zeiss in Jena zu beziehen.

wünschenswerth ist, die absolute Grösse des Spektrums verändern zu können, ist das Objectivsystem nicht fest verbunden, sondern können verschiedene angeschraubt werden. Für die Objective A, B und C von Zeiss, die für die meisten Zwecke genügen, beträgt der absolute Abstand der Fraunhofer'schen Linien a und E bezüglich 0,236, 0,180 und 0,092 mm. — Die Schärfe der Spektren ist derartig, dass bei Anwendung von Sonnenlicht (auch sehr geschwächtem) und einer Spaltweite von  $15\ \mu$  und weniger, einige Hunderte von Fraunhofer'schen Linien deutlich sichtbar sind. — Die Lichtstärke ist, selbst bei Gebrauch von Objectiv A in Verband mit einer gewöhnlichen Gasflamme als Lichtquelle, genügend um Beobachtung der Bakterien bei starker Vergrösserung noch bei einer Spaltweite von  $10\ \mu$  und weniger zu gestatten. — Zur genauen Bestimmung der Lichtart (Wellenlänge) dient, namentlich bei Anwendung continuirlicher Spektren, die Skala eines Ocularmikrometers, die für jede Combination von Objectiven auf das Sonnenspektrum reducirt wird. — Die Lage des Spektrums im Gesichtsfeld in Bezug auf die Skala kann mittelst einiger Schrauben regulirt werden. Bei continuirlichen Spektren erfolgt dabei die scharfe Einstellung mit Hilfe der Natronflamme.

Unter Ersatz des Prisma's durch ein Gitter kann der Apparat auch in einfacher Weise zur Erzeugung eines mikroskopischen Interferenzspektrums hergerichtet werden. Mit der Ausführung dieser in einiger Hinsicht Vorthelle bietenden Einrichtung ist Herr Zeiss augenblicklich beschäftigt.

Die hier mitzutheilenden Resultate wurden unter Benutzung des prismatischen Mikrospektrums erhalten. Sie betreffen die Frage nach der relativen Grösse der Sauerstoffausscheidung chlorophyllhaltiger Zellen in den verschiedenen Theilen des Spektrums.

Wesentlich in zweierlei Formen liess sich die Bakterienmethode zur Beantwortung dieser Frage verwenden. Sie mögen unterschieden werden als Methode der simultanen und der successiven Beobachtung.

Bei der Methode der simultanen Beobachtung wird die Wirkung der verschiedenen Strahlen des Spektrums auf verschiedene nebeneinander gelegene Stellen desselben Objectes oder auch verschiedene, möglichst gleichartige und gleichmässig im Spektrum vertheilte Objecte gleichzeitig beobachtet. Im ersteren Falle muss das Object eine regelmässige, z. B. cylin-

drische oder prismatische Form, und einen namentlich rücksichtlich der Vertheilung des Chlorophylls sehr gleichmässigen Bau besitzen. Viele Fadenalgen, Oscillarineen, lange Diatomeen oder Diatomeencolonien sind besonders geeignet. Das Objekt wird dann mit seiner Längsaxe quer, d. i. senkrecht zur Richtung der Fraunhofer'schen Linien, im Mikrospektrum gelagert.

Hierbei beobachtet man Folgendes.

Bei von Null an wachsender Lichtstärke beginnt die Bewegung der in unmittelbarer Nähe der grünen Zellen durch Sauerstoffmangel zur Ruhe gekommenen Bakterien im Allgemeinen zuerst im Roth, gewöhnlich zwischen B und C oder doch nahe bei C.

Bei weiterem Steigen der Lichtstärke breitet sich die Wirkung nach beiden Seiten hin aus bis an die Grenze des Ultraroth und ins Violett. Es bleiben aber anfänglich Anhäufung und Geschwindigkeit der Bakterien am grössten im Roth. Für grüne Zellen (*Euglena*, *Cladophora*, *Oedogonium* u. s. w.), nicht für braune (Diatomeen) und blaugrüne (Oscillarineen) lässt sich im Sonnenlicht (nicht im Gaslicht) ein Minimum im Grün, etwa bei E, und ein zweites Maximum, etwa bei F, nachweisen.

Sind sehr viel Bakterien vorhanden, so hat man in solchen Fällen eine Art graphischer Darstellung des Zusammenhangs zwischen Wellenlänge und Assimilationsenergie vor Augen, wobei die Abscisse vom Objekt selbst, die Ordinaten durch die bezüglichen Höhen der Bakterienlage repräsentirt werden, wie Fig. 1, Taf. XI zeigt.

Bei sehr grosser Lichtstärke werden die Unterschiede geringer, indem Anhäufung und Geschwindigkeit an allen Stellen des Spektrums sehr bedeutend werden. Solange jedoch das Spektrum sehr rein bleibt (enger Spalt), ist der Unterschied zu Gunsten des rothen Theils immer sehr merklich.

Bei allmählich abnehmender Lichtstärke wiederholen sich die beschriebenen Erscheinungen in umgekehrter Reihenfolge.

Bei der Methode der successiven Beobachtung wird das Objekt, welches klein oder doch schmal sein muss, nacheinander in die verschiedenen Theile des Spektrums gebracht und jedesmal die Spaltweite bestimmt, bei welcher die durch Osmangel in nächster Nähe des Objekts zur Ruhe gekommenen Bakterien sich zu bewegen anfangen. Die Lichtquelle muss während einer Versuchsreihe natürlich constant sein, eine Bedingung, die

sich ziemlich leicht erfüllen lässt, da für jede Messung im Allgemeinen nur eine oder wenige Minuten erfordert werden. Unter Benutzung guter, d. h. gleichmässig und nicht allzu empfindlicher Bakterien, gestattet die Methode äusserst scharfe Messungen.

Die Ergebnisse bestätigen einestheils die nach der ersten Methode erhaltenen, andernteils erweitern und ergänzen sie dieselben. Die Wirkung beginnt an der Grenze des äussersten Roths, erreicht ihre grösste Stärke zwischen B und C und sinkt von hier, anfangs schnell, später langsamer, mit abnehmender Wellenlänge. Im Spektrum des Sonnenlichts erfolgt dieser Abfall langsamer als in dem von Gaslicht und liegt für grüne (nicht für braune und blaugrüne) Zellen ein Minimum (meist 15–20%) im Grün etwa bei E—b, und ein zweites Maximum (bis über 36%) im Blaugrün etwa bei F.

In Fig. 2 sind die bei drei verschiedenen Arten von Objekten (grüne *Cladophorazellen*, eine gelbe *Diatomee*, eine blaugrüne *Oscillaria*) im Spektrum von Gaslicht erhaltenen Resultate graphisch dargestellt und zum Vergleich die nach der Methode des Gasblasenzählens von Pfeffer<sup>1)</sup> für *Elodea canadensis* erhaltene Curve hinzugefügt.

Die Curven erfordern noch einige Korrekturen wegen der ungleichen Dispersion und wegen des Umstandes, dass mit der Weite des Spaltes auch die Qualität<sup>2)</sup> des Lichtes an jeder Stelle sich etwas ändert. Inzwischen haben diese Korrekturen auf das Hauptresultat keinen Einfluss.

Dieses weicht, wie man sieht, namentlich insofern sehr wesentlich von dem von Pfeffer, wie früher schon besonders von Draper und Sachs erhaltenen Ergebnisse ab, als das Maximum der Wirkung nicht ins Gelb sondern ins Roth, zwischen B und C, fällt. wie ja auch Fig. 1 unmittelbar zeigt.

Man darf hierin aber keine Bestätigung der theoretischen Betrachtungen von Lommel und der Versuche von N. J. C. Müller erblicken wollen, rücksichtlich derer ich mich wesentlich nur der Sachs-Pfeffer'schen Kritik anschliessen kann. Vielmehr erklärt

1) W. Pfeffer, Pflanzenphysiologie I. 1881. S. 211. Fig. 29.

2) Die bilateral-symmetrische Bewegung des Spaltes beschränkt die Aenderung der Qualität bei Aenderung der Spaltweite auf das mögliche Minimum.

sich die Abweichung der Hauptsache nach wohl genügend aus dem Umstande, dass bei den bisher üblichen Methoden makroskopische Objekte, (Blätter, ganze Pflanzen) benutzt werden mussten, bei denen man es mit der Wirkung des Lichts auf eine Anzahl aufeinanderfolgender chlorophyllhaltender Schichten zu thun hat. Nur die oberflächlichste empfängt nahezu unverändertes Licht; bei den tieferen macht sich die Absorption der oberflächlicheren geltend. Diese Absorption betrifft nun, wie bekannt und durch die Mikrospektralanalyse schon bei einem einzelnen Chlorophyllkorn sehr deutlich nachzuweisen ist, vor Allem die rothen Strahlen zwischen B und C, die nach meinen Versuchen gerade die wirksamsten sind. Da nun die Sauerstoffausscheidung der oberflächlichsten Chlorophyllschicht im Allgemeinen nur ein verhältnissmässig kleiner Theil der gesammten Sauerstoffproduktion des Blattes, bez. der ganzen Pflanze ist, kann das Maximum der Wirkung bei letzteren nicht mehr zwischen B und C fallen, sondern wird im Allgemeinen in der Richtung nach Grün zu verschoben sein.

Die Richtigkeit dieser Betrachtung bestätigten Versuche nach der Bakterienmethode mit Licht, welches durch eine dünne Chlorophylllösung oder durch ein dünnes grünes Blatt hindurchgegangen war. Ja, im Mikrospektrum gewöhnlichen Lichtes zeigte sich schon bei jeder einzelnen sehr chlorophyllreichen, nicht zu dünnen Zelle (z. B. von *Cladophora*) dieser Einfluss der Absorption sehr deutlich, indem hier die dichteste Anhäufung und schnellste Bewegung der Bakterien unter der Zelle, also an der der Lichtquelle zugewandten Seite, im Roth, über der Zelle im Gelb bis Gelbgrün stattfand. Beispielsweise betrug bei einer *Cladophora*-zelle von 0,028 mm Dicke die relative Grösse der Sauerstoffausscheidung an verschiedenen Stellen des Spektrums geschwächten Sonnenlichts bei Messung an der

	bei	B—C	D	D <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	E	E—b	F	F <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	G
unteren Fläche der Zelle		100	48,5	37	24	36,5	10		
oberen	"	36,5	94	100	52	22	12		

Bezüglich weiterer Thatsachen und Schlussfolgerungen sei auf demnächst in der botanischen Zeitung erscheinende Mittheilungen und eine spätere ausführliche Darstellung verwiesen.

Fig. 1.

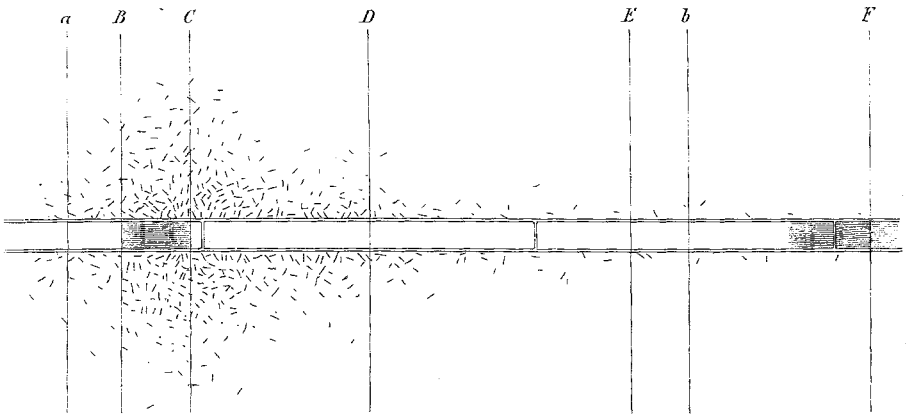


Fig. 2.

