

Biologisches Centralblatt

unter Mitwirkung von

Dr. M. Reess und **Dr. E. Selenka**

Prof. der Botanik

Prof. der Zoologie

herausgegeben von

Dr. J. Rosenthal

Prof. der Physiologie in Erlangen.

24 Nummern von je 2 Bogen bilden einen Band. Preis des Bandes 16 Mark.
Zu beziehen durch alle Buchhandlungen und Postanstalten.

VI. Band.

1. Dezember 1886.

Nr. 19.

Inhalt: **Engelmann**, Zur Technik und Kritik der Bakterienmethode. — **Madrid-Moreno**, Ueber die morphologische Bedeutung der Endknospen in der Riechschleimhaut der Knochenfische. — **List**, Ueber Strukturen der Drüsenzellen. — **Rosenthal**, Ueber das elektrische Leitungsvermögen tierischer Gewebe. — **Aus den Verhandlungen gelehrter Gesellschaften**; 59. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte zu Berlin. — **Kirchner** und **Blochmann**, Die mikroskopische Pflanzen- und Tierwelt des Süßwassers.

Zur Technik und Kritik der Bakterienmethode.

Von **Th. W. Engelmann**¹⁾.

Das am Schlusse meiner Untersuchungen über die quantitativen Beziehungen zwischen Absorption des Lichtes und Assimilation in Pflanzenzellen [Onderz. (3) IX S. 25] gegebene Versprechen einer ausführlichen Darstellung meiner bisherigen auf Bakterienmethode und Assimilation bezüglichen Untersuchungen habe ich aus gesundheitlichen Gründen leider noch nicht einlösen können. Auch jetzt bin ich zu meinem Bedauern noch nicht im stande, die beabsichtigte zusammenfassende Darstellung für die nächste Zeit in Aussicht zu stellen. Doch veranlasst mich der Aufsatz von **Pringsheim** „Ueber die Sauerstoffabgabe der Pflanzen im Mikrospektrum“ (Berichte d. d. bot. Ges., 1885, III, Heft II, und **Pflüger's** Archiv, Bd. XXXVIII, S. 142) wenigstens einige Punkte schon jetzt ausführlicher zu besprechen, welche für die Beurteilung und Anwendung des von mir eingeführten Verfahrens von besonderem Gewicht sind. Ersehe ich doch aus den thatsächlichen Angaben wie aus den kritischen Bemerkungen des ausgezeichneten Berliner Botanikers, dass das Verständnis und die Technik der Methode größern Schwierigkeiten begegnen, als ich voraussetzen zu dürfen glaubte. Indem ich diese Schwierigkeiten zu beseitigen versuche, hoffe ich damit nicht nur

1) Onderzoekingen, gedaan in het Physiologisch Laboratorium der Utrechtsche Hoogeschool. X, 1. Utrecht, 1886.

weitere Nachuntersuchungen wesentlich zu erleichtern, sondern auch einer weitläufigern Polemik vorzubeugen, mit welcher der Sache wenig genützt sein möchte.

Pringsheim kommt unter Anwendung der Bakterienmethode zu dem Resultat, dass die von mir behauptete „Koinzidenz der Maxima der Sauerstoffabgabe grüner Organismen im Mikrospektrum mit den Maximis der Lichtabsorption im Chlorophyll“ nicht stattfindet. Wie aus den von ihm angeführten Thatsachen hervorgeht, stützt sich dieser Ausspruch wesentlich, wo nicht ausschließlich, auf Beobachtungen nach der von mir so genannten Methode der simultanen Beobachtung [Onderzoek. (3) VII S. 193].

Ich muss nun zunächst betonen, dass ich diese Methode zur strengen Entscheidung jener fundamentalen Frage nie für hinreichend gehalten, noch zu den hierfür erforderlichen quantitativen Bestimmungen benutzt oder empfohlen habe, aus dem einfachen Grunde, weil sie mit einigen unvermeidlichen Fehlerquellen behaftet ist, welche das Gesetz der Abhängigkeit zwischen Wellenlänge und Sauerstoffausscheidung nicht rein zutage treten lassen. Diese Fehlerquellen schienen mir so offen darzuliegen, dass ich sie in meinen bisherigen, möglichst kurz gehaltenen Mitteilungen nicht hervorhob.

Den Hauptwert des Verfahrens erblicke ich darin, dass es auf höchst einfachem Wege, mit einem Blick, ein annähernd richtiges, sehr anschauliches Bild von der relativen assimilatorischen Wirkung der verschiedenen Spektralregionen zu erhalten gestattet.

Der Hauptgrund, weshalb dies Bild im allgemeinen kein völlig richtiger Ausdruck der Beziehungen zwischen Wellenlänge und Assimilation sein kann, ist offenbar der, dass die Größe der Sauerstoffspannung an jedem Punkte der Oberfläche des Objektes nicht nur von der an diesem Punkte stattfindenden Sauerstoffausscheidung, sondern auch von der Sauerstoffentwicklung entfernterer und zwar in erster Linie der zur Seite gelegenen, von andern Wellenlängen getroffenen Stellen abhängt. Wechselt, wie thatsächlich der Fall — hierüber herrscht ja Einstimmigkeit — Stellen stärkerer mit Stellen schwächerer Sauerstoffabgabe längs des Spektrums mit einander ab, so muss infolge dieser seitlichen Superposition der Sauerstoffspannungen die Wirksamkeit der schwächer assimilierenden Stellen zu groß erscheinen und umgekehrt.

Dies ist beispielsweise die Ursache, weshalb — auch bei sehr engem Spalt, genügende Lichtstärke vorausgesetzt — Bakterienanhäufung und -bewegung bis ins Ultrarot hineinreichen, obschon doch letzteres — wiederum nach den übereinstimmenden Erfahrungen aller Untersucher — gar keine assimilatorische Wirksamkeit besitzt. Ebenso ist, da die assimilatorische Wirkung von Rot nach Orange und Gelb hin sehr viel weniger steil als nach dem Ultrarot hin sinkt, es hieraus leicht begreiflich, wenn das Maximum der Anhäufung und

die größte Energie der Bewegung häufig nicht an der Stelle der stärksten Absorption im Rot, zwischen *B* und *C*, sondern mehr nach dem Orange hin fällt. Letztere von Pringsheim mit Unrecht für besonders wichtig gehaltene Thatsache habe ich, wie die vorige, schon in meiner oben zitierten Mitteilung bemerkt, indem ich sagte, dass bei von Null an wachsender Lichtstärke die Bewegung gewöhnlich zwischen *B* und *C* oder nahe bei *C* beginne. Mit „nahe bei *C*“ ist natürlich, wie aus dem Gegensatz „zwischen *B* und *C*“ hervorgeht, jenseits *C*, von *B* an gerechnet, gemeint.

Dieser verschiebende Einfluss der seitlichen Superposition der Sauerstoffspannungen wird bis zu einer gewissen Grenze mit der Dicke und dem Chlorophyllgehalt des Objektes wachsen müssen. Letztere beiden Umstände kommen aber auch insofern noch besonders in betracht, als von ihnen eine vertikale Superposition von Sauerstoffspannungen abhängt.

Diese nun unterstützt insofern die von der seitlichen Superposition abhängige Verschiebung der Maxima und Minima, als mit der Dicke der farbigen, assimilierenden Schicht sich der Betrag der Lichtabsorption und damit des assimilatorischen Effektes für verschiedene Wellenlängen in verschiedenem Grade, und zwar, wie ich schon am Schluss meines erwähnten Aufsatzes hervorhob, zu gunsten der schwächer absorbierten, weniger wirksamen Strahlengattungen ändert.

Hierbei ist aber noch weiter der Umstand zu beachten, dass die Sauerstoff entwickelnden Chromophyllteilchen zur Steigerung der Sauerstoffspannung an der Oberfläche der Zelle *et. par.* umsoweniger beitragen, je weiter sie von derselben entfernt sind. Im allgemeinen wird ihr Anteil für jeden Punkt proportional dem Quadrat ihrer Entfernung von diesem Punkte abnehmen. Nur dann würde dieser Umstand bedeutungslos sein, wenn die Differenzen des Abstandes der zur Wirkung kommenden assimilierenden Teilchen von der Stelle an der Zellenoberfläche, an welcher die Bakterienreaktion angestellt wird, gegen diesen Abstand selbst vernachlässigt werden dürften. Dies ist aber im allgemeinen nicht erlaubt.

Dieser Einfluss ungleicher Entfernung wird sich nun in verschiedener Weise mit dem von der Aenderung der relativen Absorptionsgröße mit der Dicke herrührenden Einfluss kombinieren. Er wird ihm entgegenwirken, wenn die Reaktion an der untern, dem Lichte zugewandten Fläche der Zelle angestellt wird, ihn unterstützen, wenn man auf die über der Zelle angesammelten Bakterien einstellt. Wie außerordentlich die Verschiebung im letztern Falle werden kann, lässt sich aus dem von mir (a. a. O. S. 198) angeführten Beispiel einer *Cladophora*-Zelle von 0,028 mm Dicke entnehmen, wo das Maximum der Assimilationsenergie über der Zelle im Gelbgrün zwischen *D* und *E*, unter der Zelle im Rot zwischen *B* und *C* gefunden wurde.

Schon die bisher angeführten Umstände genügen, wie ich glaube, völlig, um zu erklären, weshalb das Maximum bei der simultanen Beobachtung grüner Zellen nicht immer an der nämlichen Stelle, speziell nicht an der Stelle des Absorptionsbandes I, sondern meist mehr oder weniger weit nach *C* hin oder selbst jenseits *C* beobachtet wird. Es gibt aber noch verschiedene andere Umstände, welche verschiebend auf die Lage der Maxima und Minima wirken können. Beispielsweise — es gibt aber noch mehr — Ungleichheit in der Verteilung des Chlorophylls (ursprünglich vorhandene oder während des Versuchs entstandene), Unterschiede in der spezifischen Färbung (bei grünen Zellen vermutlich auf Mischung des grünen und gelben Farbstoffs in verschiedenen Verhältnissen beruhend), partielles Absterben der Zelle, verschiedene Durchsichtigkeit der Zellmembran an der dem Lichte zugekehrten Seite (durch aufsitzende Organismen, Ablagerungen von farbigen oder farblosen Stoffen und dergl.). Aus einigen dieser Umstände wird auch das Vorkommen von Veränderungen in der Lage der Maxima beim nämlichen Objekt begrifflich, eine Erscheinung, die mir übrigens (abgesehen natürlich von den durch Aenderung der Spaltweite, der Lichtstärke und der Einstellungsene bedingten) nur ganz ausnahmsweise vorgekommen ist und dann stets aus einem jener Umstände genügend erklärt werden konnte.

Ich muss nach alledem behaupten, dass die Angaben von Pringsheim, soweit sie die Erscheinungen im roten bis grünen Teil des Mikrospektrums bei grünen Zellen betreffen, nicht das Geringste gegen die von mir behauptete Koinzidenz beweisen, noch auch nur, wie Pringsheim meint, mit meinen thatsächlichen Angaben irgendwie in Streit sind.

Dasselbe gilt aus denselben Gründen bezüglich der allerdings sehr kurz gehaltenen Bemerkungen Pringsheim's über braune und rote Algen.

Was dagegen das Verhalten grüner Zellen im blauen Teil des Spektrums angeht, so muss ich mich in der That wundern, dass Pringsheim, auch wenn er nur nach der Methode der simultanen Beobachtung arbeitete, das von mir beschriebene zweite Maximum, im Blau bei *F*, nicht zu Gesicht bekommen zu haben scheint. Es tritt allerdings, wie ich sogleich in meiner ersten Mitteilung (a. a. O. S. 194) hervorgehoben, im prismatischen Spektrum nur bei Anwendung von Sonnenlicht, nicht in dem von Gaslicht in die Erscheinung und ist — schon wegen der bei Anwendung meines Apparates bei *F* fast dreimal größeren Dispersion — immer viel weniger auffällig als das im Rot. Vermisst habe ich es aber auch bei Anwendung der simultanen Beobachtungsmethode bei sorgfältiger Anstellung des Versuchs niemals und will es gern jederzeit bei günstigem Licht demonstrieren, wie ich es denn auch verschiedenen Forschern schon zeigte. Gewiss

werden sich auch leicht überzeugende photographische Aufnahmen gewinnen lassen, für die mir leider bisher die Vorrichtungen fehlten.

Ich verfare in der Regel so, dass ich erst bei maximaler Spaltweite und genügender Lichtstärke eine sehr starke Bakterienansammlung in der ganzen Länge des Spektrums sich ausbilden lasse. Dann verengere ich allmählich den Spalt — nicht zu langsam, damit die Bakterien nicht Zeit haben, nach dem Rot hin zu wandern — bis die Bewegung im Grün grade verlöscht: fast ausnahmslos ist sie dann am Anfang der starken „Endabsorption“ im Blau, bei F' , noch äußerst deutlich und erhält sich auch hier lange Zeit, wenn nicht weiter verdunkelt wird. Auch kehrt sie, falls der Spalt zu weit zgedreht war, beim Erweitern hier meist merklich früher zurück als im anstoßenden Grün und Gelbgrün.

Es kommt hier begreiflicherweise viel auf vorsichtige Handhabung des Spaltes an, damit man den entscheidenden Punkt nicht verpasse. Auch darf das Spektrum bei nur einigermaßen beträchtlicher Dicke des Objekts ja nicht zu klein sein, weil sonst die Bakterien auch bei schnellem Verengern des Spaltes sich leicht noch vom Blau hintber ins Rot begeben. Objektiv *C* von Zeiss ist deshalb als Projektions-system im allgemeinen nicht anzuraten. Bei Anwendung von System *B* oder *A* ist aber der vom Grün eingenommene Raum so breit, dass er nicht leicht von den im Blau befindlichen Bakterien in der Richtung nach Rot hin überschritten wird, wenn der Spalt einmal so weit zgedreht ist, dass die Wirkung im Grün unmerklich wird.

Nicht minder entscheidende Resultate gibt hinsichtlich dieses Punktes die Methode der successiven Beobachtung, welche vor der der simultanen als wichtigsten Vorzug den voraus hat, dass der störende Einfluss der seitlichen Superposition der Sauerstoffspannungen bei ihr in Wegfall gebracht werden kann. In richtiger Weise angewandt, gestattet sie außerdem brauchbare Zahlenwerte für die relative Größe der Sauerstoffausscheidung in den verschiedenen Regionen des Spektrums zu erhalten. Alle meine numerischen Angaben über diese Größe sind nach dieser Methode gewonnen. Wenn Pringsheim der Bakterienmethode die Brauchbarkeit zu genauen quantitativen Bestimmungen abstreitet, so ist mir dies nur daraus erklärlich, dass er die Methode der successiven Beobachtung nicht in der richtigen Weise handhabte. Es kommen bei derselben sehr viele Umstände in betracht. Eine hinreichend genaue Beschreibung des Verfahrens ist deshalb nicht kurz zu geben. Aus diesem Grunde beschränkte ich mich in meinen vorläufigen Mitteilungen darauf, einen Maßstab zur Beurteilung der Zuverlässigkeit der Methode zu gewähren durch Mitteilung mehrerer Zahlenbeispiele und der objektiven Beweise, welche in den aufgrund dieser Methode erhaltenen photometrischen Vergleichen von Sonnen- und Gaslicht zufällig zutage traten. Mir scheint auch jetzt noch, dass dies für den beabsichtigten Zweck voll-

ständig genügte, und ich bin auf den Versuch, diese Belege zu entkräften, in der That gespannt. Um jedoch für die Zukunft eine genaue Nachprüfung meiner Ergebnisse zu ermöglichen, will ich mein Versuchsverfahren hier genauer, immerhin in möglichster Kürze beschreiben.

Die wesentlichsten Punkte, auf deren Beachtung es ankommt, sind folgende:

Der Tropfen soll nur eine einzige Art von Bakterien enthalten, also einer Reinkultur entstammen. Namentlich dürfen nicht Formen von sehr verschiedenem Sauerstoffbedürfnis, also beispielsweise nicht neben *Bacterium termo* noch gewöhnliche Spirillen vorhanden sein. Die Gründe sind aus meinem Aufsatz „Zur Biologie der Schizomyceten“ [Onderzoekingen (3) VII S. 110] leicht zu entnehmen. Stammt das zu prüfende Objekt wie gewöhnlich aus einer nicht bakterienfreien Flüssigkeit, so muss es vorher durch wiederholtes Abspülen mit bakterienfreiem Wasser oder mit einer genügenden Menge der die Versuchsbakterien enthaltenden Flüssigkeit gründlich gereinigt werden.

Am besten nimmt man im allgemeinen Bakterien von ziemlich hohem Sauerstoffbedürfnis. Die Reaktion tritt dann *ceteris paribus* bei größern Spaltweiten, also bei größerer Helligkeit ein, was für die Schärfe der Beobachtung nicht gleichgiltig ist. Nur bei sehr kleinen oder wenig Chromophyll enthaltenden Zellen können empfindlichere Bakterien unter Umständen den Vorzug verdienen.

Die Bakterien sollen weder zu groß noch zu klein sein. Kokken von 1—2 μ Durchmesser, oder Stäbchen von 2—3 μ Länge und gegen 1 μ Breite entsprechen den Anforderungen in der Regel am besten. Kleinere werden bei der sehr geringen Helligkeit, bei der oft noch wahrgenommen werden muss, leicht nicht mehr deutlich genug gesehen, um eine scharfe Bestimmung des Momentes, worin die Bewegung aufhört, zu gestatten, namentlich nicht wenn die Messung im Rot geschehen muss. Zu große Bakterien reagieren meist nicht schnell und gleichmäßig genug.

Die Individuenzahl der Bakterien muss in jedem Falle so groß sein, dass sich rasch mächtige Ansammlungen um die Sauerstoffquellen ausbilden können. Der Tropfen darf dementsprechend bei Betrachtung mit bloßem Auge schwach getrübt erscheinen.

Durch sorgfältige Verkittung der Ränder des Deckglases mit Paraffin oder Vaseline muss Verdunstung während der Versuchsdauer völlig ausgeschlossen sein. Obschon hiermit auch der Sauerstoffzutritt von außen in der Regel genügend aufgehoben ist, empfiehlt es sich doch, das zu prüfende Objekt möglichst weit vom Rande des Deckglases zu lagern. Auch soll es sich dem Boden des Tropfens so nahe wie möglich befinden, am besten denselben berühren. Liegt es zu hoch, so sinken die Bakterien, wenn sie infolge der Sauerstoffabnahme

ihre Bewegungen einstellen, in die Tiefe und sammeln sich dann bei Erweiterung des Spaltes nicht schnell genug wieder um das Objekt an.

Sorgfältig ist ferner aus leicht ersichtlichem Grunde darauf zu achten, dass das Objekt so weit isoliert liege, dass bei seiner Verschiebung längs des Spektrums in keinem Falle ein anderer, der Sauerstoffausscheidung im Lichte fähiger Organismus ins Bereich des Mikrospektrums komme. Es dürfen aus demselben Grunde auch keine frei umherschwimmenden grünen Sporen, Flagellaten u. s. w. im Tropfen vorhanden sein.

Um das Objekt schnell und sicher in immer gleicher Lage an jeden beliebigen Ort des Spektrums einstellen zu können, muss es durchaus unbeweglich im Tropfen liegen und muss der Objektträger mittels einer Schraube bewegt werden. Ich benutze zu dem Zweck den von Zeiss konstruierten, im Preisverzeichnis von 1885 unter Nr. 56 erwähnten kleinen Apparat. Er wird durch Klemmen auf dem Tisch des Mikroskops festgehalten und auf ihm der Objektträger durch etwas Fett oder Vaseline fixiert. Die Verschiebung muss genau senkrecht zur Richtung der Spaltränder erfolgen, da wegen der unvermeidlichen kleinen Unregelmäßigkeiten an den Schneiden (Staubpartikelchen u. dergl.) die Lichtstärke auf verschiedenen Punkten der Höhe des Spektrums bei der nämlichen Wellenlänge ungleich ist, wie besonders anschaulich die kurz vor dem völligen Schluss jedes Spaltes auftretenden bekannten Längsstreifen und Längsbänder zeigen. Der Einfluss dieser Fehlerquelle ist natürlich um so größer, je enger der Spalt beim Eintritt der Reaktion ist, also am größten bei den wirksamsten Wellenlängen. Hier könnte er, wenn das assimilierende Objekt sehr klein ist, auch bei größtmöglicher Sauberkeit der Schneiden eine sehr merkliche Größe erreichen.

Welche Eigenschaften das Objekt selbst haben soll, um scharfe und möglichst weit theoretisch verwertbare Messungen zu gestatten, ergibt sich zum Teil schon aus dem früher Gesagten. Damit der Einfluss der seitlichen Superposition der Sauerstoffspannungen unmerklich werde, muss es wenigstens in der Richtung senkrecht zu den Fraunhofer'schen Streifen sehr schmal sein, um so schmaler natürlich, ein je kleineres Mikrospektrum man verwendet, mit andern Worten, je stärker das zur Projektion benutzte Objektivsystem ist. Die Größe des Abstandes der Streifen *B* und *C* zu überschreiten dürfte nicht ratsam sein, falls man sich nicht auf Messungen im stark brechbaren Teil des Spektrums beschränkt. — Ist das Objekt zylindrisch oder doch länglich, so muss es selbstverständlich mit der Längsaxe genau horizontal und parallel den Spalträndern gelagert werden.

Auch sein vertikaler Durchmesser soll möglichst gering sein, damit der oben bei der Methode der simultanen Beobachtung bereits besprochene Einfluss ungleicher Entfernung der assimilierenden Teilchen von den reagierenden Bakterien sich möglichst wenig geltend mache.

Dabei ist es wünschenswert, dass die Färbung intensiv, der Gehalt an Chromophyll also möglichst groß sei. Es gelingt sonst nicht leicht, eine zur Anstellung scharfer Reaktion genügende Menge von Bakterien um die Zelle zu versammeln. Da schon ein einziges Chlorophyllkorn im Lichte sehr merkliche Wirkungen äußert, braucht die Dicke der wirksamen Schicht einige Tausendstelmmillimeter nicht zu überschreiten.

Dass die Lichtquelle während der Versuchsdauer in jeder Beziehung konstant sein müsse, bedarf nicht besonderer Hervorhebung. Ebenso wenig, dass das Spektrum möglichst scharf, genau in der horizontalen Durchschnittsebene des Objekts entworfen werden soll. Weniger überflüssig dürfte eine die absolute Stärke der Lichtquelle betreffende Bemerkung sein. Diese ist so zu wählen, dass die Spaltweiten, bei welchen die Reaktion eintritt, weder außerordentlich gering, noch sehr groß ausfallen. In nächster Nähe des Nullpunktes — dessen Lage immer vorher genau zu kontrollieren ist — haben schon sehr kleine Fehler großes Gewicht, gleichviel ob sie von unrichtiger Einstellung, Irrtümern beim Ablesen oder falscher Lage des Nullpunktes herrühren. Auch können, bei Anwendung von Sonnenlicht, die Fraunhofer'schen wie die dazu senkrechten, von Ungleichmäßigkeiten der Spaltränder herrührenden Streifen und Bänder stören. Zu große Spaltweiten sind andererseits wegen des unten noch zu besprechenden Einflusses der Superposition verschieden brechbarer Strahlengattungen zu vermeiden. Sonnenlicht muss in jedem Fall vorher abgeschwächt werden. Ich schalte zu dem Zwecke zwischen Heliostat und Spiegel des Mikroskops unmittelbar vor letzterem eine oder zwei Scheiben von rein weißem mattem Glase ein.

Um alles etwa von unten her neben dem Objektiv des Mikrospektralapparates einfallende Licht auszuschließen, wird unmittelbar unter dem Objektisch ein nur mit einer zentralen Durchbohrung für das projizierende System versehener undurchsichtiger Schirm angebracht.

Durchaus nötig ist weiter, dass die Beobachtungen in der Dunkelkammer und außerdem im Dunkelkasten vorgenommen werden. Es wird dann nicht nur eine Störung durch seitlich von oben auf das Objekt fallendes Licht ausgeschlossen, sondern namentlich auch die Empfindlichkeit des Auges so bedeutend gesteigert, dass noch bei viel geringerer Spaltweite als sonst deutliches Unterscheiden möglich ist.

Aus letzterem Grunde kann es wünschenswert sein, das Spektrum, mit Ausnahme des schmalen Bezirks, in dem grade beobachtet wird, abzublenden. Zu dem Zweck habe ich im Okular, unmittelbar unter dem die Mikrometerteilung tragenden Diaphragma, eine passende Schiebervorrichtung anbringen lassen.

Noch ein anderer Punkt kommt hier in betracht. Der Eintritt der Reaktion ist im allgemeinen um so schwieriger scharf zu beobach-

ten, je geringer im entscheidenden Augenblicke die physiologische Helligkeit der entsprechenden Spektralpartie. Bei sehr geringer Helligkeit kann deshalb die Bewegung früher aufzuhören scheinen, als in der That der Fall ist. Sehr auffällig zeigt sich dieser Einfluss, wenn man durch ein zwischen Auge des Beobachters und Okular eingeschaltetes farbiges oder Rauchglas das Bild plötzlich verdunkelt. Es entsteht dann der Eindruck, als ob die Bakterienbewegung plötzlich abnehme. Umgekehrt wird beim Wegziehen eine Beschleunigung der Bewegung vorgetäuscht. Hierzu kommt noch, dass bei geringer, aber übrigens gleicher Helligkeit die Schärfe der Unterscheidung merklich von der Farbe abhängig, im Rot beispielsweise geringer als im Grün ist. Es erwächst hieraus einige Gefahr, für die dunklern, namentlich die roten Partien des Spektrums zu große Spaltweiten einzustellen.

Um zu prüfen, inwieweit etwa hierdurch die Ergebnisse beeinflusst werden könnten, habe ich die Helligkeiten möglichst gleich zu machen gesucht, indem ich für die Messungen im Gelb und Grün blau bzw. rot gefärbte Gläser zwischen Auge und Okular einschaltete und speziell abwechselnd mit und ohne Glas an den nämlichen Stellen des Spektrums beim gleichen Objekte Messungen anstellte. Bei einigermaßen scharfem Beobachten der Bakterien zeigte sich jedoch kein deutlicher Einfluss, wie ich durch viele Zahlenbeispiele belegen könnte.

Wenn nun alles für den Versuch gehörig vorbereitet ist, schreitet man zu den Messungen. Hierbei verfähre ich folgendermaßen.

Das Objekt wird zunächst bei maximal erweitertem Spalt im Orange oder Gelb, gewöhnlich bei D , eingestellt und hier so lange stehen gelassen, bis sich eine sehr starke Ansammlung schwärmender Bakterien um dasselbe ausgebildet hat. Hierzu genügen meist wenige Minuten. Man wartet nun weitere 5—10 Minuten, um sich zu überzeugen, ob der Schwarm sich in unveränderter Mächtigkeit und ungeschwächter Bewegung erhält. Ist dies, wie bei gesunden Zellen gewöhnlich, der Fall, so wird der Spalt im Lauf von 1—1½ Minute erst schnell, dann immer langsamer zuge dreht, bis die Bewegung an den Rändern des Objekts völlig aufgehört hat. Jetzt wird rasch der Stand der Mikrometerschraube (Spaltweite) abgelesen, der Spalt sofort wieder maximal erweitert und gewartet, bis sich der frühere Zustand maximaler Anhäufung und Bewegung wieder hergestellt hat, wozu es meist nur 1—2 Minuten bedarf. Dann wird das Objekt nach einer andern Stelle des Spektrums verschoben, der Spalt in derselben Weise allmählich verengert, bis Stillstand eingetreten, schnell abgelesen, der Spalt sofort wieder maximal erweitert, das Objekt in die Anfangsstellung (bei D) zurückgebracht, aufs neue gewartet, bis der stationäre Zustand maximaler Anhäufung sich ausgebildet hat u. s. f. Jedesmal wird also vor Beginn der Versuche ein stationärer Zustand abgewartet und zwischen je zwei Messungen derselbe wieder hergestellt. Hierauf ist das allergrößte Gewicht zu legen.

Verfährt man in der hier beschriebenen Weise, so wird man nach einiger Uebung sich leicht von der Brauchbarkeit der Methode zu quantitativen Bestimmungen überzeugen. Man findet dann häufig selbst bei stundenlang am nämlichen Objekt fortgesetzten Messungen die Spaltweite, bei welcher die Bewegung aufhört — die kritische Spaltweite — für jede geprüfte Stelle des Spektrums konstant, die Abweichungen vom Mittel wenigstens so gering, dass sie gegen die von der Wellenlänge abhängigen Unterschiede im allgemeinen nicht in betracht kommen.

Diese Konstanz beweist, dass in solehem Falle die Reaktion an allen untersuchten Stellen des Spektrums dann eintritt, wenn die Sauerstoffspannung auf den nämlichen absoluten Wert herabgesunken ist. Da die Sauerstoffspannung am Orte der Reaktion, bei Erfüllung der oben mit Rücksicht auf den Einfluss des Abstandes der assimilierenden Teilchen von den Bakterien gestellten Bedingung, in jedem Falle der gesamten vom Objekt gelieferten Sauerstoffmenge direkt proportional ist, darf der relative assimilatorische Effekt der Lichtarten verschiedener Wellenlänge, die von mir mit A bezeichnete Größe, dann im allgemeinen den Spaltweiten umgekehrt proportional gesetzt werden, bei welchen für die betreffenden Wellenlängen die gleiche, also in unserem Falle diejenige Sauerstoffspannung erzeugt wird, bei welcher die Bakterienbewegung eben aufhört. Es ist dies jedoch nur erlaubt, weil die Erweiterung des Spaltes symmetrisch geschieht, und weil die absoluten Werte der kritischen Spaltweiten im allgemeinen so niedrige sind, dass die von der Uebereinanderlagerung verschiedener und deshalb verschieden wirksamer Wellenlängen herrührende Störung vernachlässigt werden darf. Letzteres gilt streng nur für die Gegenden des Spektrums, an denen die auf die Wellenlängen als Abszisse bezogene Kurve der Assimilationsgröße einen gradlinigen Verlauf zeigt. Bei hinreichend geringer Breite des Objekts dürfte der Fehler aber auch an den Stellen stärkster Krümmung der Kurve unmerklich werden.

Im besondern gilt dies bei Anwendung von Sonnenlicht. Hier liegen die Werte der kritischen Spaltweiten für meine Versuche durchschnittlich zwischen 0,01 und 0,15 mm. Für Gaslicht rücken die Grenzen natürlich weiter auseinander, schon wegen der größern Differenzen der aktuellen Energie in den verschiedenen Teilen des sichtbaren Spektrums, speziell wegen des viel steilern Sinkens der lebendigen Kraft des Lichtes nach dem stärker brechbaren Ende hin. Die untere Grenze lag hier durchschnittlich bei 0,015, während die obere (für grüne Zellen) im Blau bei F , im Mittel bei 0,38, im Violett bei noch erheblich größern Werten erreicht ward. Im Blau und Violett sind jedoch wegen der größern Dispersion Störungen weniger zu fürchten.

Wenn es nicht darauf ankommt, Zahlenwerte zu gewinnen, sondern nur auf Entscheidung der Frage, ob die assimilatorische Wirkung an

einer bestimmten Stelle des Spektrums stärker als an einer andern sei, so ist eine Modifikation der Methode der successiven Beobachtung ausreichend und zugleich sehr anschaulich, welche ich das Verfahren der alternierenden Beobachtung nenne.

Man wolle beispielsweise entscheiden, ob die Wirkung des Blau bei F stärker als die des Grün bei E sei. Zu dem Ende wird — immer nach vorhergehender Entwicklung eines stationären Zustandes maximaler Bakterienanhäufung — das Objekt auf E eingestellt und nun der Spalt langsam zuge dreht, bis die Bewegung eben erlöscht. Als bald wird das Objekt nach F hin verschoben, wobei man dann, falls mit Sonnenlicht und an einer chlorophyllgrünen Zelle gearbeitet wird, sofort einen Wiederbeginn der Bewegungen beobachtet. Beim Zurückschrauben nach E tritt Stillstand ein, wieder nach F gebracht, erwachen die Bakterien aufs neue. Die Erscheinung ist in der Regel so auffällig, dass ein Gedanke an Täuschung gar nicht aufkommen kann.

In derselben Weise überzeugt man sich leicht, dass bei grünen Zellen das Maximum der Wirkung im Rot stets an der Stelle des Absorptionsbandes I, niemals nach dem Orange hin liegt u. s. w.

Es ist jedoch nicht meine Absicht, hier auf spezielle Fragen und Versuchsergebnisse näher einzugehen. Ich würde auch wesentlich nur früher Mitgeteiltes zu wiederholen, bezüglich viele neue Zahlenbeispiele beizubringen haben. Dazu aber dürfte diese Zeitschrift nicht der geeignete Ort und überdies um so weniger Grund vorhanden sein, als die bereits in frühern Aufsätzen von mir publizierten Zahlen, wie ich glaube, völlig genügen, um das fundamentale Gesetz der, wenigstens höchst annähernden, Proportionalität zwischen Absorption und assimilatorischer Wirkung des Lichtes streng zu beweisen, und zwar nicht nur für chlorophyllgrüne, sondern für alle wie immer gefärbte chromophyllhaltige Zellen und, wie ich auch andern neuern Autoren gegenüber hervorheben muss, für alle Strahlengattungen des sichtbaren Spektrums. Am allerwenigsten kann dies auf zahlreiche genaue Messungen der Assimilationsgröße und der Lichtabsorption in lebenden Zellen gegründete Ergebnis durch auf bloßer Schätzung nach dem Augenschein beruhende Angaben, wie sie Pringsheim gibt, widerlegt werden.

Es wird auch die Giltigkeit dieses Grundgesetzes nicht dadurch aufgehoben, dass — wie ich leider Pringsheim zugeben muss — die Formel nicht richtig ist, welche ich in meinem letzten Aufsatz [Onderzoekingen etc. (3) IX S. 17] als Ausdruck der Beziehungen zwischen aktueller Energie (E), assimilatorischer Wirkung (A) und Absorptionsgröße (n) des Lichtes in der Voraussetzung aufgestellt habe, dass unter den bei Anwendung der Bakterienmethode zur Messung von A realisierten Bedingungen die gesamte absorbierte Energie des Lichtes zu Assimilationsarbeit benutzt werde. Ich muss für die bei der Ableitung dieser Formel begangenen, mir heute schwer be-

greiflichen Versehen, unter Hinweisung auf den im Eingang ange-deuteten persönlichen Umstand um Entschuldigung bitten. Den richtigen Ausdruck für jene Beziehungen und seine Begründung gab ich am Schlusse meines Aufsatzes „Farbe und Assimilation“ [Onderzoek. (3) VII S. 231]. Hiernach ist für jede Wellenlänge

$$E = \frac{A}{n} \text{ und nicht } E = \sqrt{\frac{A}{n}}.$$

Wie aus der Vergleichung der beiden Formeln unmittelbar ersichtlich, müssen jetzt die Differenzen größer werden, welche einerseits zwischen den aus meinen Versuchen an verschiedenfarbigen Zellen berechneten zusammengehörigen Werten von E unter sich, wie anderseits zwischen diesen und den auf rein physikalischem Weg mittels Thermosäule und Bolometer gefundenen bestehen. Die wesentlichste Uebereinstimmung bleibt jedoch erhalten: denn in allen Fällen erreicht die Energie ihren Maximalwert sehr nahe bei Fraunhofer's Streif D und sinkt von hier nach beiden Enden des Spektrums hin allmählich ab.

Ich stelle hier die nach der verbesserten Formel aus der Gesamtzahl meiner Versuche für E berechneten Werte mit denen zusammen, welche sich aus den Versuchen von Lamansky und Langley ergeben haben:

$\lambda =$	680	622	600	589	573	558	522	486	431
Lamansky	88	99	100	99,5	98	96,5	90	77	66
Langley I	89,5	96,5	98	99,5	100	96	89	78	48
„ II	86	98,5	100	99	98,5	97,5	92	73	47,5
Engelmann	69	95	99	100	95	90	71	56	29

Für die mittlern, hellern Partien des Spektrums, vom Orange bis ins Gelbgrün ist, wie man sieht, die Uebereinstimmung noch immer eine nahezu vollkommene. Die größern Abweichungen, welche sich gegen die Enden hin zeigen, möchten schon in anbetracht der größern Schwierigkeiten, welche sich hier der scharfen Bestimmung von A und n in den Weg stellen, kaum genügen, um die Voraussetzung direkter Proportionalität zwischen absorbierter Energie und Assimilationsarbeit auch nur für diese Spektralregionen unhaltbar erscheinen zu lassen.

Nachschrift.

Vorstehende Zeilen waren gedruckt, als mir Pringsheim's ausführliche Mitteilung „über die Sauerstoffabgabe der Pflanzen im Mikro-

spektrum“ (Sitzungsberichte der k. preuß. Akademie der Wissensch. zu Berlin, 4. Februar 1886; Biologisches Centralbl., VI, Nr. 3—5) zuzuging. Dieselbe bestätigt meine Befürchtung, dass der verehrte Verfasser die wichtigsten Fehlerquellen nicht erkannte und deshalb nicht vermied, welche einer Verwertung der Bakterienmethode zur Ermittlung des Zusammenhangs zwischen Lichtabsorption und Sauerstoffausscheidung im Wege stehen. Dem, wie oben gezeigt, nur unter ganz bestimmten Bedingungen, mit starken Einschränkungen brauchbaren Verfahren der simultanen Beobachtung wird ein fast blindes Vertrauen geschenkt, die Methode der successiven Beobachtung in einer, der meinigen wesentlich entgegengesetzten, zu quantitativen Bestimmungen, wie ich bestätigen kann, durchaus unbrauchbaren Weise angewendet und dementsprechend verurteilt. Neue thatsächliche Bemerkungen, die weitere Entgegnung an dieser Stelle erforderten, finden sich nicht. Alle Differenzen erledigen sich, soweit ich sehe, durch den Inhalt meiner vorstehenden Mitteilung. Hervorhebung möchte verdienen, dass Pringsheim das von mir gefundene zweite Maximum der Sauerstoffausscheidung im Blau doch auch „hin und wieder“ bei simultaner Beobachtung grüner Zellen im Sonnenspektrum gesehen hat.

Jose Madrid-Moreno, Ueber die morphologische Bedeutung der Endknospen in der Riechschleimhaut der Knochenfische.

Bericht von **C. Emery** (Bologna).

In folgenden Zeilen gebe ich im Auszug eine in meinem Laboratorium ausgeführte Arbeit wieder, welche bald in spanischer Sprache ausführlich veröffentlicht werden soll.

Eine vor kurzem erschienene Abhandlung von J. Blaue (Archiv f. Anat. u. Phys., Anat. Abt. 1884. S. 231—309, Taf. 12—14) behandelt die Struktur der Nasenschleimhaut der Knochenfische sehr ausführlich. Schon früher hatte Sofie Pereyaslawzeff in der Nase einiger Fische Gebilde beschrieben, welche mit Nervenknospen die größte Aehnlichkeit haben. Derartige Riechknospen fand Blaue mehrfach in verschiedenen Gattungen. Besonders interessant ist der Befund bei *Belone*, wo das Riechorgan des erwachsenen Tieres noch die embryonale Gestalt als offene Grube bewahrt: die Nasenschleimhaut dieses Fisches wird von einem wimperlosen Pflasterepithel überzogen, in welchem die Riechknospen eingebettet erscheinen, so dass sie auf Flächenansichten nur durch kleine kreisrunde Löcher sichtbar bleiben. Bei *Trigla* ist das Riechorgan nach gewöhnlichem Perceiden-Typus gebaut; seine Schleimhaut hat aber ungefähr die gleiche Struktur wie bei *Belone*. Bei vielen andern Fischen sind die Riech-

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologisches Zentralblatt](#)

Jahr/Year: 1886-1887

Band/Volume: [6](#)

Autor(en)/Author(s): Engelmann Theodor Wilhelm

Artikel/Article: [Zur Technik und Kritik der Bakterienmethode. 577-589](#)