

Steinheil'schen Spectralapparat, sowie an einem Krüss'schen Universal-Spectralapparat mit Fadenkreuz und beweglichem Spectrum bestimmt. Da jedoch die Umrechnung der Ablesungen an diesen Apparaten nach Bunsen- und anderen Scalen in die Wellenlängen nicht nur mühsam und zeitraubend ist, sondern auch Fehlerquellen involvirt, habe ich es vorgezogen, hier nur die Ablesungen am Zeiss'schen Apparat zu reproduciren.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, schon hier am Ende dieser ersten Mittheilung Herrn Geheimrath Professor Dr. Melde in Marburg meinen ergebensten Dank auszusprechen für die freundliche Ueberlassung eines geeigneten Arbeitsraumes mit allen Vorrichtungen und wissenschaftlichen Hilfsmitteln, welche zu meinen langwierigen Untersuchungen nöthig waren. Auch Herrn Prof. Dr. Müller danke ich aufrichtig für die Unserstützung mit dem Krüss'schen Universal-Spectralapparat.

Vermögen isolirte Chlorophyllkörner im Lichte Sauerstoff auszuschneiden?

Von

L. Kny
in Berlin.

In No. 9 des LXXII. Bandes dieser Zeitschrift (1897) ist ein Aufsatz von Alfred J. Ewart „The Relations of Chloroplastid and Cytoplasma“ enthalten, welcher den ausgesprochenen Zweck verfolgt, die in meiner kürzlich erschienenen Abhandlung*) dargelegten Untersuchungen, soweit sie diejenigen des Verf. betreffen, als in der Methode verfehlt und ihre Resultate deshalb als werthlos hinzustellen.

Zunächst gebe ich meinem Bedauern darüber Ausdruck, dass mir zur Zeit, wo ich mein Manuscript der Deutschen Botanischen Gesellschaft vorlegte, nur der von Pfeffer der K. Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften am 1. Juni 1896 erstattete kurze Bericht über die Ewart'schen Untersuchungen bekannt war. Dieser Bericht trägt, wie sich Jedermann überzeugen kann, ganz den Charakter einer vorläufigen Mittheilung und lässt nicht entfernt vermuthen, dass die ausführliche Abhandlung von Ewart mehr als 6 Monate vorher der Linnean Society zum Drucke überreicht worden war**). Da meine Erwartung, der ausführlichen Abhandlung in den Jahrbüchern für wissenschaftliche Botanik zu begegnen, sich nicht erfüllte, durchmusterte ich vor Drucklegung meiner

*) Die Abhängigkeit der Chlorophyllfunction von den Chromatophoren und vom Cytoplasma. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft. XV. (1897.), p. 388 ff.)

***) Unter dem Titel findet sich der Vermerk: Read 21st November 1895; am Schlusse der Abhandlung steht: Leipzig, April 1896. Die Arbeit scheint also erst im Jahre 1896 abgeschlossen und veröffentlicht worden zu sein.

Arbeit, um sicher zu gehen, noch die Referate des Botanischen Centralblattes — leider ohne Erfolg. Der Umstand, dass dort noch im Jahre 1897 (Band LXIX. p. 72) über die kurze Pfeffer'sche Mittheilung referirt war, musste mich in der Ueberzeugung bestärken, dass die Ewart'sche Arbeit in ausführlicher Form noch nicht erschienen sei.

Zur Sache selbst übergehend, will ich zunächst die Ausstellungen Ewart's an meiner Untersuchungsmethode beleuchten und weiterhin die Resultate mittheilen, welche ich mit dem von ihm angewandten Verfahren gewonnen habe.

Ewart macht mir einen Vorwurf daraus, dass ich bei dem grösseren Theile meiner Versuche das Deckglas am Rande nicht mit Vaseline abgeschlossen habe. Auf Grund reicher Erfahrung war ich zu dem Ergebnisse gelangt, dass „ein Abschluss des Versuchstropfens durch am Rande des Deckglases anzubringendes Vaseline sich als unnötig erwies, wenn nur die zu untersuchenden isolirten Chlorophyllkörner sich im mittleren*) Theile des Präparates befanden, und wenn weder Luftblasen noch grüne Zellen sich in ihrer Nähe befanden“.

Ewart sagt, dass es ihm unmöglich gewesen sei, auf diesem Wege zu irgend zuverlässigen Resultaten zu gelangen und fährt dann wörtlich fort:

„The reason for this is twofold. Firstly the most actively reacting Bacteria collect at the edges of the coverslip where there is an abundance of oxygen and leave the centre of the field where there is but very little oxygen; and secondly, owing to the evolution of oxygen from the isolated chloroplastid being always weaker, and generally much weaker, than from an algal cell of the same size or from the same normal grain, the amount of oxygen which it evolves is insufficient owing to the relative abundance and hence comparatively high partial pressure of the surrounding dissolved oxygen which has diffused in at the open edge of the coverslip, to markedly attract the surrounding bacteria in the centre of the preparation, which, it is worthy of notice, are, as has been seen above, the less actively reacting ones.“

Ich habe die Ausführung Ewart's deshalb wörtlich wiedergegeben, weil sie ein interessantes Beispiel dafür ist, wie leicht der Wunsch, eine vorgefasste Meinung festzuhalten, dazu verleitet, die Erfordernisse strenger Beweisführung aus dem Auge zu verlieren.

In Wirklichkeit muss die Sache sich wesentlich anders verhalten, als Ewart es sich zurecht gelegt hat.

Bringt man einen Tropfen Bakterienflüssigkeit auf einen Objectträger und bedeckt denselben, unter Ausschluss von Luftblasen, mit einem Deckglase, das am Rande nicht gegen die atmosphärische Luft abgeschlossen ist, so wird in dem Augenblicke, wo das Deckglas aufgelegt wird, in allen Theilen des Präparates gleiche Sauerstoffspannung herrschen. In dem Maasse, in welchem

*) Dieses Wort war auch im ursprünglichen Texte gesperrt gedruckt.

der Sauerstoff durch die Bakterien verbraucht wird, muss dann atmosphärischer Sauerstoff vom Rande her durch Diffusion nach der Mitte vorrücken. In Folge dessen werden die im peripherischen Theile des Präparates — aber zunächst auch nur diese! — dem Rande zueilen. Die im mittleren Theile des Präparates befindlichen Bakterien bleiben selbstverständlich für's Erste von dem vom Rande vorrückenden Sauerstoff vollkommen unberührt. Dieses Vorrücken kann, wenn nicht stärkere Strömungen vorhanden sind, nur ganz allmählich erfolgen. Ist die Zahl der Bakterien im Präparate keine sehr grosse, so wird der Sauerstoff, obwohl er von den am Rande ihm zueilenden Bakterien theilweise verbraucht und sein Vorrücken dadurch verlangsamt wird, schliesslich doch bis zur Mitte des Präparates gelangen. Enthält der Versuchstropfen sehr zahlreiche Bakterien, so werden die in der Nähe des Randes sich ansammelnden Individuen eine Grenze bezeichnen, über welche hinaus der Sauerstoff nicht weiter dringt. Es ist hierdurch für den mangelnden künstlichen Abschluss Ersatz gegeben. Dementsprechend sieht man im mittleren Theile eines solchen Versuchstropfens, welcher nur Sauerstoffempfindliche Formen enthält, vollständige Ruhe*) eintreten, und zwar ist es bei der in meinen Versuchen durchweg angewendeten Deckglasgrösse von 18 mm □ der grössere Theil des Tropfens, in welchem die Bakterien sich in Ruhe befinden**).

Sind in einem Präparate, dessen mittlerer Theil ein oder mehrere isolirte Chlorophyllkörner enthält, die Bakterien nicht so zahlreich, dass sie das allmähliche Vordringen des Sauerstoffes bis zur Mitte unmöglich machen, so haben die Chlorophyllkörner vorher längst Zeit gehabt, unter dem Einflusse des Lichtes Sauerstoff auszuscheiden und bewegliche Bakterien um sich zu sammeln. Da, wie oben ausgeführt, am Beginne des Versuches die im mittleren Theile des Präparates befindlichen Chlorophyllkörner nach allen Richtungen gleiche Sauerstoffspannung vorfanden, muss schon eine sehr geringe Sauerstoff-Ausscheidung genügen, die beweglichen Bakterien zu ihnen hinzulocken.

Ist der atmosphärische Sauerstoff vom Rande des Deckglases bis zur Mitte des Tropfens vorgedrungen, so sind nunmehr die Verhältnisse zu Ungunsten des Versuches verändert.

Will man das von mir zur Genüge als zuverlässig erprobte einfachere Verfahren anwenden und das Präparat ohne Vaseline ring der Belichtung aussetzen, so thut man am besten, für die Anwesenheit zahlreicher Bakterien im Versuchstropfen Sorge zu tragen. Bei meinen Versuchen war dies durchweg der Fall gewesen. Natur-

*) Es ist hierbei von der sogenannten Molekularbewegung (Mouvement brownien) abgesehen, welche Bakterien, wenn sie ihre Ortsbewegung eingebüsst haben, aber noch nicht zu Boden gesunken sind, sehr deutlich zeigen. Man kann diese Bewegung ebensowohl an durch Jodlösung getödteten, wie an noch lebensfähigen Bakterien beobachten. Ein aufmerksamer Beobachter kann durch dieselbe nicht getäuscht werden.

**) Vergleiche auch W. Engelmann. (Botanische Zeitung. 1881. p. 443.)

lich dürfen solche Präparate nicht mehrere Stunden schutzlos auf dem Tische des Mikroskopes liegen bleiben, sondern müssen, will man sie nach längerer Zeit wieder prüfen, zum Schutze gegen Austrocknen in die wasserdampfgesättigte Luft einer durch Wasser gesperrten Glasglocke gebracht werden. Will man dasselbe Chlorophyllkorn während mehrerer Stunden oder gar Tage continuirlich beobachten, so ist ein Abschluss des Deckglasrandes natürlich unbedingt erforderlich.

Wie stimmt übrigens zu Ewert's Ausspruch, dass „the most careful ringing to exclude all external oxygen is an absolute necessity for an accurate experimentation“ seine eigene Angabe, dass in einem mit dünnem Vaseline ringe versehenen Präparate, welches ausser einigen Bakterien noch eine Endzelle von Chara enthielt, diese auch unter vollkommenem Lichtabschlusse noch mehr als eine Woche lang Protoplasmabewegung zeigte? Wenn ein dünner Ring den Sauerstoff nicht vollständig ausschliesst, so wird es auch ein dicker Ring nicht thun; der Durchtritt des Sauerstoffes wird hier nur langsamer erfolgen.

Ueber die Durchlässigkeit der bei pflanzenphysiologischen Versuchen gewöhnlich angewendeten Verschlussmittel (Vaselin, Paraffin, Wachs, fette Oele, Harze, Paraffinöle etc.) für Gase scheinen, soweit ich in Erfahrung bringen konnte, wirklich genaue Versuche bisher noch nicht angestellt zu sein. Um über die Zuverlässigkeit des Vaseline-Verschlusses ein Urtheil zu gewinnen, führte ich folgende Versuche aus.

Es wurden 130 mm hohe, 37 mm weite Cylindergläser bis zu etwa $\frac{3}{4}$ der Höhe mit einer durch hydroschwefeligsaurer Natron eben entfärbten Indigocarminlösung gefüllt und sofort eine circa 5,5 mm dicke Schicht von durch schwaches Erwärmen verflüssigtem Vaseline aufgegossen. Das Vaseline, welches beim Aufgiessen erstarrte, musste durch Umherführen einer Gasflamme an der Aussen-seite des Gefässes noch einmal schwach erwärmt werden, um einen Glasstab mit einem Tröpfchen hydroschwefeligsaurer Natrons hindurchzuführen und die beim Einfüllen des Vaseline entstandene schwache Bläuung wieder beseitigen zu können und um nach Entfernen des Glasstabes wieder eine continuirliche Schicht zu erhalten. Unmittelbar nachher trat am oberen Rande der gelblichen Flüssigkeit wieder Blaufärbung ein, und es dehnte sich dieselbe allmählig nach unten aus — ein Beweis, dass der Sauerstoff vom Vaseline her in die Flüssigkeit diffundirte. Wurde jetzt bei schwacher Erwärmung, welche genügte, um das Vaseline wieder zu verflüssigen, mittels eines durch das Vaseline geführten erwärmten Glasstäbchens ein Tropfen der Lösung von hydroschwefeligsaurer Natron in der unteren Flüssigkeit vorsichtig verrührt, bis wieder Entfärbung eingetreten war, so begann nach kurzer Zeit die Bläuung von Neuem. Nach dreimaliger Erwärmung des Vaseline und Entbläuung der Flüssigkeit trat der gleiche Erfolg nicht mit derselben Sicherheit, bejahenden Falles aber erst langsamer ein. Offenbar hatte das Vaseline durch wiederholte Erwärmung einen grossen Theil seines Sauerstoffes verloren.

Ich schliesse aus diesen Versuchen, dass das Vaseline Sauerstoff aus der Luft aufzunehmen und denselben leicht an die benachbarte, entfärbte Indigocarminlösung abzugeben vermag.

Für pflanzenphysiologische Zwecke würde es von hohem Werthe sei, die Geschwindigkeit, mit welcher die Aufnahme von Sauerstoff und dessen Abgabe an verschiedene benachbarte Medien erfolgt, genau festzustellen.

Für den vorliegenden Zweck genügt es, vorläufig zu wissen, dass ein dicker Vaselinefilm unmittelbar nach Anwendung des Präparates an den Versuchstropfen Sauerstoff abgibt, also kein zuverlässiges Verschlussmittel ist.

Ein zweiter Vorwurf wird mir von Ewart daraus gemacht, dass ich nur den kleineren Theil meiner Versuche mit Reinculturen von Bakterien angestellt, zu den meisten vielmehr die Flüssigkeit benutzt habe, welche durch Einlegen von rohem Rindfleisch in Leitungswasser gewonnen war.

Ewart vergisst, dass es mir zunächst darauf ankommen musste, die mir bekannten früheren Angaben zu prüfen. Engelmann hatte, als er mit isolirten Chlorophyllkörnern operirte, wie ich aus dem Zusammenhange entnehmen zu dürfen glaube,*) ebenfalls mit unreinem Materiale gearbeitet; auch bei Haberlandt ist nicht von Reinculturen die Rede. Von Ewart musste ich das Gleiche voraussetzen, wie von seinen Vorgängern, da Pfeffer in seinem Berichte das Gegentheil nicht hervorgehoben hatte. Als ich Reinculturen benutzte, glaubte ich der Erste zu sein, welcher sich ihrer zu diesem speciellen Zwecke bediente.

Ist die Verwendung von Reinculturen in der von Ewart und mir bisher gewählten Form für die Entscheidung der vorliegenden Frage aber wirklich ein so grosser Fortschritt, wie der genannte Forscher meint? Vermögen nicht Rohculturen, wenn dieselben, wie in meinen Versuchen, sauerstoffempfindliche Arten in weit überwiegender Mehrzahl enthalten, nicht dasselbe zu leisten?

Dass die durch Faulen von Fleisch in Wasser gewonnene Bakterienjauche alkalisch reagirt, braucht nicht, wie Ewart annimmt, nach kurzer Zeit schon unbedingt nachtheilig zu wirken. Zwar schädigte in den Versuchen Ewart's eine sehr verdünnte wässrige Lösung von Ammoniumcarbonat und in den meinigen sehr verdünnte Ammoniaklösung die Assimilationsthätigkeit der Chloroplasten; doch wäre es voreilig, hieraus zu schliessen, dass jede andere alkalische Reaction des umgebenden Mediums ihr ebenso nachtheilig sein müsse. Gelang es mir doch, in den von mir angewendeten Versuchsflüssigkeiten, wie ich früher ausdrücklich hervorgehoben hatte**), bei *Spirogyra*-Fäden noch nach achtstündigem dauerndem Aufenthalte in der Bakterienjauche deutliche Sauerstoff-Reaction im Lichte zu erhalten.

*) Bot. Zeit. 1881. p. 441 ff.

**) l. c., p. 394.

Besonders werthvoll für die Beurtheilung der Frage, ob jede alkalische Reaction des umgebenden Mediums die Function der Chlorophyllkörner schädigen müsse, sind die in der Litteratur vorliegenden Angaben, wonach das Protoplasma sowohl in lebenden als in getödteten Zellen sehr häufig deutlich alkalisch reagirt. Es ist dies nicht nur für Plasmodien von Schleimpilzen, für Wurzeln, Stengel, Blumenblätter und Samen, sondern, was uns hier besonders interessirt, auch für grüne Laubblätter (*Brassica oleracea*, *Maranta princeps*, *Calathea illustris*, *Rumex hamatus* etc.)*) festgestellt worden. Die Chlorophyllkörner liegen dem alkalisch reagirenden Plasma hier eingebettet und befinden sich in demselben offenbar sehr wohl.

Leider ist es ja eine schwache Seite der sonst so ausgezeichneten und empfindlichen Bakterienmethode, dass es kaum möglich sein dürfte, eine Culturflüssigkeit herzustellen, welche den beweglichen Bakterien und den chlorophyllhaltigen Pflanzentheilen bezw. den isolirten Chlorophyllkörnern in gleichem Maasse zugesagt. Dass die Bakterienjauche, mag sie durch Faulen von Fleisch oder Erbsen oder Kartoffeln in Wasser gewonnen sein, nicht ein besonders geeignetes Culturmedium für die meisten pflanzlichen Objecte ist, wer möchte dies bezweifeln? Doch hat sie den Vorzug, wenigstens für einen der beiden Theile, die beweglichen, sauerstoffempfindlichen Bakterien, unbedingt zuträglich zu sein; denn sonst würden sich diese nicht spontan so überaus stark in ihr vermehrt und die Mitbewerber fast ganz verdrängt haben. Setzen wir aber Reinculturen der beweglichen Bakterien auf Bouillon-Agar, also auf einem festen Nährsubstrate an, so nöthigen wir unsere Bakterien, sich plötzlich einem neuen Medium anzubequemen und versetzten sie in die Unmöglichkeit, ihrem Bewegungstrieb zu genügen. Verrührt man sie dann in 10- oder 15-procent. Saccharose-Lösung, so sind begreiflicher Weise ihre Bewegungen zunächst träge, bis sie nach kürzerer oder längerer Zeit den Höhepunkt der unter den neuen Verhältnissen möglichen Beweglichkeit erreichen. Die gleiche Empfindlichkeit wie in dem Nährboden, in welchem sie sich ursprünglich entwickelt hatten, werden sie unter den neuen Verhältnissen kaum je erreichen.

Die untersuchten Pflanzentheile werden sich in der schwachen Zuckerlösung, zu welcher das den Bakterien unvermeidlich anhaftende Quantum von Bouillon-Agar hinzukommt, wahrscheinlich ein wenig wohler fühlen als in der Bakterienjauche; die natürlichen Lebensbedingungen finden sie aber auch dort nicht vor.

Ewart giebt an,**) dass er stets mit Cohn's *Bacterium Termo* (= *Proteus vulgaris* Hauser = *Bacillus liquefaciens* Beyerinck) operirt habe. Es scheint ihm nicht bekannt zu sein, das Cohn's *Bacterium Termo* keine einheitliche Species, sondern ein Sammel-

*) Frank Schwarz, Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. (Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen. V. 1892, p. 17 ff. bes. p. 23.) — Vgl. auch Pfeffer, Pflanzenphysiologie. II. Auflage. 1897. p. 490.)

**) Journal of the Linnean Society. Botany. Vol. XXXI. p. 365.

name für mehrere, z. Th. noch ungenügende bekannte Formen ist, welche in Grösse und Beweglichkeit von einander abweichen.*) Und ist denn die Beweglichkeit und Sauerstoffempfindlichkeit bei allen Individuen derselben Art die gleiche? Wechselt nicht der Grad der Beweglichkeit mit der Qualität des Nährbodens? Wird die Brauchbarkeit des Bakterienmaterials nicht, wie Ewart selbst angiebt,**) in derselben Cultur im Laufe der Zeit vermindert, so dass er empfiehlt, Culturen, welche mehr als 1—2 Wochen alt sind, nicht mehr zu verwenden?

Wenn es auf dem von Ewart und mir bisher eingeschlagenen Wege nicht möglich war, ein vollkommen gleichartiges Bakterien-Material zu erhalten, welchen erheblichen Nachtheil soll es dann haben, wenn in den Roh-Culturen der Bakterienjauche neben den sehr beweglichen und sehr sauerstoffempfindlichen Formen, von deren fast ausschliesslicher Anwesenheit man sich in der bekannten Weise leicht überzeugen kann, auch eine oder die andere weniger empfindliche Form oder gar eine oder die andere unempfindliche Bakterie sich findet? Zu Täuschungen können letztere, wenn sie in minimaler Zahl vorhanden sind, in der uns hier speciell interessirenden Frage nicht Veranlassung geben; denn sie werden die sauerstoffempfindlichen Formen nicht hindern, sich um ein isolirtes Chlorophyllkorn zu sammeln, falls letzteres Sauerstoff ausscheidet.

Einen bemerkenswerthen Fortschritt wird die Bakterienmethode über ihren Begründer Engelmann hinaus erst dann gemacht haben, wenn die wichtigsten beweglichen Bakterien noch genauer als bisher auf den Grad ihrer Sauerstoffempfindlichkeit vergleichend geprüft sind und der Grad der Sauerstoffspannung, auf welchen sie unter bestimmten Bedingungen gestimmt sind, genau festgestellt ist. Für isolirte Chlorophyllkörner, welche, wenn sie funktionirten, jedenfalls nur geringe Mengen Sauerstoffs ausscheiden könnten, werden die auf geringe Sauerstoffspannung gestimmten Bakterien die brauchbarsten sein. Von besonderer Wichtigkeit wird es sein, die Bakterien in den Rem-culturen dauernd in gleicher Empfindlichkeit zu erhalten. Um dies zu erreichen, werden nicht feste, sondern nur flüssige Nährmedien geeignet sein, welche den Boden des Gefässes in so dünner Schicht bedecken, dass der Sauerstoff überall leichten Zutritt hat. Öftmalige, mindestens tägliche Uebertragung in neue Nährlösung wird sich als wünschenswerth erweisen, um der Gefahr zu begegnen, dass sich schädliche Zersetzungsstoffe in der Nährlösung anhäufen.

Was Ewart über die schädliche Wirkung der von mir angewandten Licht-Intensität sagt, ist mir nur unter der Voraussetzung verständlich, dass er bisher noch niemals mit einer Auerflamme gearbeitet hat.

*) Vergl. Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Auflage. 1896. p. 272 u. 291 und Alfred Fischer, Vorlesungen über Bakterien. 1897. p. 98.

**) l. c. p. 365.

Ich hatte in meiner Abhandlung gesagt: „Als Lichtquelle zog ich der Continuität und grösseren Gleichmässigkeit wegen dem Sonnenlichte eine Auer-Flamme vor, deren Strahlen durch einen mit destillirtem Wasser gefüllten Glaskolben auf den Spiegel des Mikroskopes concentrirt waren. Bringt man unter dem Mikroskopische den Abbe'schen Condensor an, so erhält man ein für die Kohlenstoff-Assimilation sehr günstiges Licht, das man zur Schonung des Auges für jede einzelne Untersuchung abblenden muss. Zwischen den aufeinanderfolgenden Beobachtungen war die Irisblende natürlich geöffnet.“

Um die von Ewart*) ausgesprochene Besorgniss, meine chlorophyllhaltigen Objecte könnten ebenso, wie bei den bekannten Pringsheim'schen Versuchen mit concentrirtem Sonnenlicht, geschädigt sein, ein für allemal zu beseitigen, brauche ich nur zu erwähnen, dass dieselbe Vorrichtung, wie sie mir zu meinen Versuchen diene, von den Praktikanten meines Institutes seit mehreren Jahren für die gewöhnlichen mikroskopischen Arbeiten bei trüber Witterung und am Abend benutzt wird und sich vortrefflich bewährt hat. Vielleicht ist Ewart durch die Worte: „Zur Schonung des Auges“ irregeführt worden. Dieselben sind in der That überflüssig, da die Irisblende ja bei jeder Beobachtung so wie so verengt werden muss.

Einen für unsere Zwecke hinreichend genauen Werth für die bei anderen früheren Versuchen angewendete Licht-Intensität erlangte ich durch folgende einfache Versuche.

An den beiden Enden eines im Lichten 43 cm breiten, 19 cm hohen und 20 cm tiefen, innen geschwärzten Holzkastens, an dessen gegen den Beobachter gekehrten offenen Breitseite sich nach allen Richtungen ein dickes schwarzes Tuch eng anschloss, befanden sich in genau gleicher Höhe über dem Boden zwei kleine Oeffnungen, in welche je eine kreisrunde Mikroskop-Blende von 4,16 mm Durchmesser so genau eingepasst war, dass seitlich von ihr kein Licht eindringen konnte. Beide Blenden waren auf Gleichheit des Durchmessers sorgfältig geprüft, und jede war mit einem Stückchen gleichen, dünnen Oelpapiers überklebt.***) Vor die eine der beiden Blenden war in geeigneter Höhe und 5 cm Entfernung eine brennende deutsche Normal-Kerze***) aufgestellt; unmittelbar vor der anderen befand sich der Abbe'sche Apparat desselben Zeiss'schen Mikroskopes, mit welchem ich den grösseren Theil meiner Untersuchungen angestellt hatte.

Der Spiegel empfing das Licht:

1. entweder von einem Auer-Brenner, vor welchem sich in derselben Entfernung, wie bei meinen früheren Versuchen,

*) Botanisches Centralblatt. Band LXXII. p. 291.

**) Da ohne Anwendung des Oelpapieres, die vom Abbe'schen Condensor gesammelten Strahlen stark divergirend, die Strahlen der anderen Lichtquellen aber annähernd parallel in den Kasten eingetreten wären, war es, um die Licht-Intensitäten an der Eintrittsstelle vergleichbar zu machen, unbedingt nothwendig, das Licht aller Quellen in diffuses Licht umzusetzen.

***) Von J. Elster in Berlin bezogen.

ein mit Wasser gefüllter Glaskolben befand. Die Irisblende war, nachdem sie zum Zwecke genauer Centrirung vorher nahezu geschlossen war, während der Intensitäts-Bestimmung weit geöffnet,

2. oder von einem mit Wolken halbbedeckten Himmel,
3. oder von einer hellbeleuchteten weissen Wolke.
4. Zum Vergleiche wurde auch die Intensität des directen Sonnenlichtes geprüft, ohne dass dasselbe durch den Abbe'schen Condensor gesammelt war.

Im Innern des Kastens befand sich auf verschiebbarer Unterlage ein kleines, auf einen verticalen Rahmen gespanntes Papierblatt, welches auf der Höhe der beiden beleuchteten Blenden mit einem ringförmigen Paraffinfleck versehen war. Bedeckte man den Kopf mit dem schwarzen Tuche derart, dass alles Seitenlicht ausgeschlossen war, so konnte man mit ziemlicher Genauigkeit bestimmen, bei welcher Entfernung von beiden Lichtquellen der Paraffinfleck verschwand.

Nachstehend gebe ich die von mir erhaltenen Resultate:

1. Auer-Flamme (seit 8 Wochen im Gebrauch) vor einem reflectirenden weissen Papierschirm, mit wassergefülltem Glaskolben. Irisblende offen.

Mittel aus 3 Beobachtungen 125 : 320 mm,
also Licht-Intensität = 6,6 Normalkerzen.

2. Mit Wolken halbbedeckter Himmel. Der Apparat befand sich hinter einer geputzten Glasscheibe an einem Nordfenster meines Institutes. Irisblende offen.

Mittel aus 3 Beobachtungen 145 : 300 mm,
also Licht-Intensität = 4,3 Normalkerzen.

3. Weisse, von der Sonne hell beleuchtete Wolke. Der Apparat befand sich hinter einer geputzten Glasscheibe an einem Südfenster. Irisblende offen.

Mittel aus 3 Beobachtungen 139,7 : 305,3,
also Licht-Intensität = 4,8 Normalkerzen.

4. Directes Sonnenlicht, von einem leicht umflorten Himmel, hinter geputzter Glasscheibe, ohne Abbe'schen Condensor.

Mittel aus 3 Beobachtungen 34 : 411,
also Licht-Intensität = 146,1 Normalkerzen.

Ergeben die vorstehenden Zahlen, dass ich nicht, wie Ewart ohne genügenden Grund voraussetzte, mit zu grossen Licht-Intensitäten gearbeitet habe, so könnte man vielleicht einwenden, dass das Auer-Licht, wenn es auch dem Tageslicht ähnlich ist, dennoch qualitative Verschiedenheiten aufweist. Kommt denn aber das Tageslicht bei den anderen bisher gewählten Formen der Versuchsanstellung in seiner ursprünglichen Zusammensetzung zur Wirkung? Verliert dasselbe beim Durchgang durch die Condensorlinse und durch den Objectträger nicht einen Theil seiner Strahlen, besonders die ultravioletten? Wird es nicht durch den Spiegel des Mikroskopes polarisirt? Aendert es nicht, je nach dem Stande der Sonne und der Beschaffenheit der Atmosphäre, seine Zusammensetzung?

Wie Ewart dazu kommt, gerade die Licht-Intensität, welche das gewöhnliche Tageslicht mit dem Abbe'schen Apparate seines Mikrokopes für das Beleuchtungs-Optimum zu erklären, hat er uns nicht verrathen. Ich kann ihm zur Beruhigung mittheilen, dass die Sauerstoff-Ausscheidung aller chlorophyllhaltigen Pflanzenzellen, welche in den verschiedensten Jahreszeiten dem Auer-Lichte bei der oben beschriebenen Anordnung aussetzte, eine so kräftige und normale war, wie ich nur wünschen konnte, obwohl die Lichtstärke im Gesichtsfelde ein wenig grösser war, als wenn der Spiegel das Licht von einer weissen Wolke empfing. Ständen helle Wolken immer zur Vertüfung, strahlten sie immer gleich intensives Licht aus und hätten sie nicht die unangenehme Eigenschaft, ihren Ort zu verändern, so würde ich sie meiner künstlichen Lichtquelle unbedingt vorziehen. Wie die Sache aber liegt, werden gewiss die meisten Pflanzenphysiologen bei exacten Untersuchungen, deren Resultate miteinander vergleichbar sein sollen, zu einer künstlichen Lichtquelle greifen, welche jederzeit zur Verfügung steht und in kurzen Zeiträumen ihre Qualität und Intensität nicht wesentlich ändert.*)

Noch weniger verständlich als die Bemerkungen, welche sich auf die Licht-Intensität beziehen, sind die Ausstellungen, welche Ewart an dem von mir angewandten Verfahren zur Gewinnung isolirter Chlorophyllkörner macht. Um den beim Schneiden selbst mit dem schärfsten Messer unvermeidlichen Quetschungen zu entgehen, zerriss ich die betreffenden Pflanzentheile vorsichtig und tupfte die Rissstellen in die Versuchsflüssigkeit aus. Ewart sagt hierzu wörtlich: „Their method does not seem, to judge by their negative results, as capable of yielding uninjured chlorophyll-grains, as the simpler method in which ewerything depends upon the manipulating skill of the operator.“**)

Also, weil Ewart an isolirten Chlorophyllkörnern Bakterienreaction gesehen zu haben glaubt, ich dieselbe aber nicht feststellen konnte, ist sein Präparationsverfahren das bessere!! Diese Logik wird nicht nach Jedermanns Geschmack sein.

Da auch die anderen, mehr Nebendinge betreffenden Angriffe, welche Ewart gegen meine Untersuchungen richtet, sich nicht über das Niveau der vorstehend besprochenen erheben, hätte ich einfach auf meine früheren Resultate verweisen und mir die Mühe sparen können, die Versuche mit isolirten Chlorophyllkörnern nach dem von Ewart angewendeten Verfahren zu wiederholen. Doch pflegen Behauptungen, wenn sie mit solcher Sicherheit und so grossem Selbstgefühl, wie im vorliegenden Falle, vorgetragen

*) Auch W. Engelmann hatte das constante Lampenlicht dem Sonnenlichte gegenüber bevorzugt (Botan. Zeitg. 1881, p. 445 Anm.). Betreffs der Wirkung der Intensität sagt er „Mit wachsender Intensität des Lichtes steigt innerhalb gewisser, ziemlich weiter Grenzen die Sauerstoff-Ausscheidung.“ (l. c., p. 447.)

***) Botan. Centralblatt, Bd. LXXII, p. 290.

werden, erfahrungsgemäss unter Solchen, welche die Thatsachen nicht aus eigener Anschauung kennen, leicht das eine oder andere gläubige Gemüth zu finden. Ich habe mich deshalb, trotz des nicht unerheblichen Opfers an Zeit, zur nochmaligen Prüfung entschlossen.

Von guten Roh-Culturen von Bakterien, welche auf ihre Beweglichkeit und Sauerstoffempfindlichkeit geprüft waren, wurde mittels Platinöse ein Tröpfchen in bei c. 25° C verflüssigte, sterilisirte Nährgelatine gebracht, und von letzterer, nachdem die Bakterien durch Schütteln vertheilt waren, ein Tröpfchen in neue sterilisirte Nährgelatine eingeführt und diese nach erneutem Schütteln, in einem Petri-Schälchen ausgegossen. Es gelang auf diesem Wege, zwei gut bewegliche Formen zu isoliren, welche in ihren Eigenschaften mit *Bacillus Proteus vulgaris* (Hauser)*) und *Bacillus fluorescens non liquefaciens***) übereinstimmten. Die letztere Form erwies sich bei meinen Versuchen im Ganzen als reactionsfähiger. Freilich zeigte die Reactionsfähigkeit bei den verschiedenen Culturen mancherlei Abstufungen, und auch innerhalb derselben Cultur waren nicht alle Individuen gleich empfindlich.

Von den Colonien dieser beiden Formen wurde auf sterilisirten Bouillon-Agar übergeimpft, und die Culturen bei 25° C im Thermostaten gehalten. Ich verwendete ausschliesslich Strich-Culturen, da die von Ewart ausserdem verwendeten Stich-Culturen (stab-cultures) wegen des erschwerten Sauerstoff-Zutrittes mir weniger geeignet erschienen.

Als Versuchsobjecte dienten mir die Chlorophyllkörner von vieren unter den fünf Arten, bei welchen Ewart angiebt, positive Ergebnisse erhalten zu haben, nämlich *Catharina undulata*, *Funaria hygrometrica*, *Vallisneria spiralis* und *Selaginella helvetica*. Für die Beschaffung der beiden ersten Arten kam mir die aussergewöhnlich milde Witterung dieses Winters sehr zu statten, welche die Pflänzchen im Freien in bestem Zustande reichlich zu sammeln gestattete. *Vallisneria spiralis* befand sich in gutem Culturzustand im Warmhause meines Institutes. Die Exemplare von *Selaginella helvetica* stammten aus den Cultur-Kästen des Berliner botanischen Gartens. Sie entwickelten sich im Gewächshause kräftig fort und produzirten reichlich junge Blätter. Frische Blattstücke aller genannten 4 Arten zeigten nach Einlegen in 10- oder 15procentige Saccharose-Lösung, in welcher vorher ein kleines Tröpfchen der Bakterienkultur vertheilt war, bei Beleuchtung lebhaft Sauerstoff-reaction.

Die Saccharose, welche ich zur Herstellung der 10- oder 15procentigen Lösung verwendete, war theils in dem von Herrn Professor Herzfeld geleiteten Laboratorium des Vereines der deutschen Zucker-Industrie, theils in meinem Laboratorium besonders für meine Zwecke gereinigt worden.

*) Flüggé, l. c., II., p. 272.

**) Flüggé, l. c., II., p. 293.

In einem auf dem Objectträger befindlichen Tropfen sterilisirter, entweder 15 procentiger oder 10 procentiger Saccharose-Lösung wurde das Blatt, welches die isolirten Chlorophyllkörner liefern sollte, nach vorhergegangener vorsichtiger Reinigung mittels eines Pinsels in sterilisirtem, aus Glasretorten im Institute destillirtem Wasser entweder nach der von Ewart gegebenen Vorschrift mit einem scharfen Rasirmesser zerschnitten oder, wie ich dies aus den vorstehend angegebenen Gründen für besser halte, mittels Nadeln vorsichtig zerrissen. Das behutsam aufgelegte Deckglas wurde nun mit einem dicken Rahmen von Vaseline umgeben.

Als Lichtquelle diente in einer Reihe von Versuchen eine hell beleuchtete Wolke, in einer anderen der blaue Himmel, in einer anderen der trübe Winterhimmel, in einer anderen eine Auer-Flamme mit davor befindlichem wassergefülltem Glaskolben, in einer anderen eine Auer-Flamme ohne Glaskolben. Die Iris-Blende des Abbe'schen Condensors war während der Exposition bei einem Theile der Versuche ganz, bei einem andern nur zum Theile geöffnet.

Das Resultat war auch diesmal, wie früher, in allen Fällen ein negatives.

Niemals ist es mir gelungen, in einem Versuchstropfen, in welchem an anderen Stellen alle Bakterien ihre Ortsbewegung eingebüsst hatten, an einem zweifellos von Cytoplasma befreiten Chlorophyllkorn eine deutliche Bewegung, geschweige eine Ansammlung beweglicher Bakterien zu beobachten.

Jedem, der die Angaben Ewart's über die Sauerstoff-Ausscheidung isolirter Chlorophyllkörner in seiner grösseren Abhandlung*) liest, muss es auffallen, dass er unter den von ihm hierauf untersuchten Pflanzen nur bei 5 Arten positiven Erfolg hatte. Von diesen 5 Arten lebt *Vallisneria spiralis* im Wasser, *Catharinaea undulata*, *Funaria hygrometrica* und *Dicranum scoparium* erheben sich nur wenig über den Boden und *Selaginella helvetica* ist demselben sogar flach angedrückt. Die Gefahr, durch kleine grüne Algenzellen getäuscht zu werden, welche an den Standorten dieser 5 Arten reichlich vorkommen, ist also eine sehr grosse. Ewart ist sich dieser Quelle der Täuschung voll bewusst gewesen und hat, um die kleinen Algenzellen zu entfernen, die Blätter vorher sorgfältig gereinigt; doch lässt sich der von ihm angestrebte Zweck auf diesem Wege nicht vollständig erreichen, da einzelne Algenzellen sehr fest an den Blättern haften und dann später beim Durchschneiden oder Durchreissen des Blattes mit den Chlorophyllkörnern in das Präparat gelangen können. Durch den Augenschein lässt sich im Einzelfalle nicht immer mit Sicherheit entscheiden, ob man ein einzelnes Chlorophyllkorn oder eine Algenzelle vor sich hat. Ein sicheres Mittel hierfür ist die Anwendung der Plasmolyse oder die Zufügung eines Reagens, welches die Structur des Chlorophyllkornes rasch zerstört, die Membran aber nicht erheblich angreift. Für Ewart, welcher seine sämmtlichen Präparate mit Vaseline umgab, wäre freilich

*) l. c. p. 423.

die Zufügung von Reagenzien mit grossen Schwierigkeiten verknüpft gewesen. Er hätte in jedem Falle, wo er an anscheinenden isolirten Chlorophyllkörnern Sauerstoff-Entbindung beobachtete, den Vaselineering an zwei gegenüberliegenden Stellen entfernen müssen und hätte hierbei Gefahr gelaufen, das betreffende Object, falls es nicht durch Cytoplasma an Objectträger oder Deckglas festgekittet war, aus dem Gesichtsfelde zu verlieren. Doch hätte ihm ein anderes Mittel zu Gebote gestanden, sich von An- oder Abwesenheit einer Zellstoffmembran an den fraglichen Objecten zu überzeugen. Er hätte das grüne Gebilde, welches Sauerstoff aushauchte, einen oder nöthigenfalls mehrere Tage unverrückt im Gesichtsfelde des Mikroskopes behalten können. War es ein Chlorophyllkorn, so musste beim Absterben der Aussencontour entsprechende Veränderungen erfahren; war es eine Algenzelle, so musste beim Absterben der Plasmakörper sich ganz oder zum Theil von der Membran abheben. Statt dieses naheliegende Mittel anzuwenden, hat Ewart ohne Weiteres angenommen, dass an seinen mit dem Pinsel sorgfältig gesäuberten Blättern Algenzellen nicht mehr vorhanden sein können.

Noch höher, als die mögliche Verwechslung eines Chlorophyllkornes mit einer Algenzelle veranschlage ich aber die Fehlerquelle, welche durch Anhaften von Cytoplasma an den aus den verletzten Zellen hervorgetretenen Chlorophyllkörnern gegeben ist.

Zerschneidet oder zerreisst man vorsichtig Blätter von *Selaginella helvetica* und *Vallisneria spiralis* in 10- oder 15 Procent Zuckertlösung auf dem Objectträger und fügt dem Präparate rasch Lösung von Gentiana-Violett zu, so ist man überrascht, wie zahlreiche Chlorophyllkörner, auch wenn sie vorher ganz isolirt erschienen, entweder von einer Cytoplasmahülle allseitig umgeben sind, oder abgetrennten Cytoplasma-Theilen einseitig angrenzen. Dass hierdurch eine Zeit lang die schädliche Wirkung des umgebenden abnormen Mediums an den betreffenden Stellen abgehalten wird, dürfte nicht zu bezweifeln sein. In solchen Fällen, wo mehrere Chlorophyllkörner einem Klümpchen Cytoplasma eingebettet liegen, kann man denn auch nicht selten eine deutliche Sauerstoff-Reaction im Licht beobachten, welche bei Verdunkelung verschwindet und bei Belichtung wiederkehrt.

In etwa 5 oder 6 Fällen wurde an Chlorophyllkörnern, die anscheinend von allem Cytoplasma entblösst waren, schwache, aber deutliche Sauerstoff-Reaction festgestellt, und es trat diese ebenso bei der zu meinen früheren Versuchen angewendeten Beleuchtung mit Auer-Licht, wie bei Beleuchtung mit diffusum Tageslichte ein. Eine genauere Untersuchung zeigte aber, dass die Bakterien sich an der einen Seite nicht ebensoweit als an den anderen dem Chlorophyllkorn nähern konnten, und ein nahezu vollständiges Schliessen der Irisblende liess, selbst ohne Anwendung künstlicher Färbung, keinen Zweifel darüber bestehen, dass die Chlorophyllkörner nicht vollständig von Cytoplasma entblösst waren. In zwei anderen Fällen, in welchen das mikroskopische Bild zunächst Zweifel bestehen liess, erwies sich die Anwesenheit eines dünnen Plasma-

Ueberzuges um das Chlorophyllkorn dadurch, dass Bakterien, welche in ihre unmittelbare Nähe kamen, mit ihren Gesseln an diesem Ueberzuge festklebten und energische Anstrengungen machten, um sich von ihm loszureissen.

Ewart sagt*), dass bei Untersuchungen dieser Art eine einzige positive Beobachtung mehr Werth beansprucht, als eine beliebige Anzahl negativer. So richtig dies ist, wenn über die Identität des untersuchten Objectes kein Zweifel besteht, so wenig trifft es im gegenwärtigen Falle zu. Wenn bei einer grösseren Versuchsreihe unter mehreren hundert von Chlorophyllkörnern, welche so normal aussehen, wie dies unter den im Versuchstropfen dargebotenen, von den lebenden Zellen so verschiedenen Vegetationsbedingungen überhaupt möglich ist, und die trotzdem keine Sauerstoff-Ausscheidung erkennen lassen, einige wenige, ihnen ähnliche Gebilde sich finden, bei denen dies der Fall ist, so wird jeder exacte Forscher zu dem Ergebnisse gelangen, dass hier besondere Umstände im Spiele sein müssen. Er wird sich aufgefördert fühlen, allen Fehlerquellen auf das Sorgfältigste nachzuspüren. Ewart bleibt der Vorwurf nicht erspart, dass er dies nicht in hinreichendem Masse gethan hat.

Auch bei dieser Nachprüfung bin ich, ebenso wie bei der früheren Untersuchung, von meinem Assistenten, Herrn Dr. R. Kolkwitz, in dankenswerther Weise unterstützt werden.

Berlin, d. 1. März 1898.

Oberflächenspannung und Cohäsion.

Eine mikrophysikalische Studie.

Von

Z. Kamerling.

Mit 2 Figuren.

(Fortsetzung.)

III. Aufsteigen von Wasser in vollkommen benetzten Capillarröhren.

Denken wir uns eine Capillarröhre in Wasser gestellt. In einem bestimmten Augenblick soll der Unterschied zwischen dem Niveau in und ausserhalb der Röhre = h sein.

Der Radius der Röhre sei r .

Denken wir uns jetzt, dass das Wasser in der Röhre um einen sehr kleinen Betrag = e steigt, so können wir uns am leichtesten vorstellen, dass ein Wasservolum = $\pi r^2 e$ von dem Niveau im Behälter entnommen wurde und oben an dem Niveau in der Röhre zugefügt, oder, wenn das Wasser in der Röhre um

*) Botan. Centralblatt. Bd. LXXII. p. 292.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Botanisches Centralblatt](#)

Jahr/Year: 1898

Band/Volume: [73](#)

Autor(en)/Author(s): Kny Leopold

Artikel/Article: [Vermögen isolirte Chlorophyllkörner im Lichte Sauerstoff auszuscheiden? 426-439](#)