

Mikrocomputergesteuerte mobile Anlage zum fluorometrischen Nachweis von Photosynthesestörungen

Von w. M. WALTER LARCHER und ALEXANDER CERNUSCA

Mit 8 Abbildungen und 2 Tabellen

(Vorgelegt in der Sitzung der mathem.-naturw. Klasse am 14. März 1985)

1. Einleitung

Photosynthesestörungen als frühes Anzeichen einer Stresssituation bei Pflanzen lassen sich durch eine Vielzahl von Methoden nachweisen, unter denen die Untersuchung des CO_2 - bzw. O_2 -Gaswechsels und optische Verfahren (Chlorophyll-a-Fluoreszenz: KAUTSKY und HIRSCH, 1934; lichtinduzierte Absorptionsänderungen infolge Lichtstreuung: HEBER, 1969) weiteste Anwendung gefunden haben. In den letzten Jahren wurde insbesondere die fluorometrische Analyse der photosynthetischen Induktionskinetik als schnelles und materialschonendes Verfahren im Dienste der Streffecktdiagnostik vielfach eingesetzt, so z. B. zum Nachweis von Schädigungen durch Starklicht, UV, Extremtemperaturen, Wassermangel, Salzbelastung, Schwermetalle und Giftstoffe (Übersicht mit Literaturhinweisen bei RENGER und SCHREIBER, 1985).

Das Prinzip der fluorometrischen Analyse der Photosyntheseaktivität beruht darauf, daß Strahlungsenergie, die von den Chloroplasten absorbiert, aber nicht photosynthetisch verwertet wird, in Form von längerwelliger Fluoreszenzstrahlung und von Wärme emittiert wird (einführende Darstellungen bei FRANCK et al., 1969; LICHTENTHALER und PFISTER, 1978; EDWARDS und WALKER, 1983). Aus den Intensitätsschwankungen der Chloroplastenfluoreszenz („Fluoreszenztransient“) zu Beginn der Belichtung vorverdunkelter Blätter kann auf den Ablauf der Primärprozesse der Photosynthese und deren Funktionsfähigkeit geschlossen werden. Obzwar die Interpretation von Fluoreszenztransienten im einzelnen noch erhebliche Schwierigkeiten bereitet (KRAUSE und WEIS, 1984), ist es nach ausreichendem Erfahrungsgewinn doch möglich, im angestrebten Anwendungsbereich verlässliche Aussagen über Beginn, Ausmaß und Verlauf einer Beeinträchtigung der Photosyntheseaktivität zu treffen.

Für die fluorometrische Analyse der photosynthetischen Induktionskinetik stehen Meßeinrichtungen von unterschiedlicher Einsatzmöglichkeit und Perfektion zur Verfügung (SCHREIBER, 1983; KREEB, 1987). Die meisten davon sind wegen ihres Umfangs, ihrer Empfindlichkeit und des Bedarfs an konstanter Versorgungsspannung an das Laboratorium gebunden. Für den Freilandeinsatz haben SCHREIBER et al. (1975) ein tragbares Fluorometer entwickelt, das von der Firma Richard Brancker Research Ltd. (Ottawa) hergestellt wird. Das Brancker-Fluorometer ist allerdings nur in dem Maße mobil, als die zur

Registrierung notwendigen Geräte klein genug und von Netzstrom unabhängig sind, wie z. B. batteriebetriebene Linienschreiber, die jedoch Änderungen der Fluoreszenzintensität im ms-Bereich nicht erfassen. Dadurch gehen wichtige Merkmale der Anfangsphase des Transienten verloren. Von Ausnahmefällen abgesehen, muß daher auch bei Verwendung des Brancker-Fluorometers die Registrierung über ein Speicheroszillogoskop oder einen Transientenrecorder erfolgen, wodurch das gesamte System wieder stromnetzgebunden und schwerfällig, d. h. von der Verfügbarkeit eines Transportfahrzeuges abhängig wird. NORRISH et al. (1983) haben zur Datenerfassung einen Mikrocomputer an das Brancker-Gerät angeschlossen und dessen Einsatz dadurch vom Stromnetz unabhängig gemacht. Wir sind einen Schritt weitergegangen und verwenden nur noch den Meßkopf des Brancker-Fluorometers, dessen Steuerungsfunktion von einem Taschencomputer übernommen wird. Das nachfolgend beschriebene „Pocket Computer Fluorometer“ ist dadurch noch kleiner, beweglicher und durch die Programmsteuerung vielseitiger geworden als alle vergleichbaren Geräte. Darüber hinaus stehen die Meßergebnisse dank der sofortigen digitalen Auswertung und graphischen Darstellung bereits am Einsatzort zur Verfügung.



Abb. 1: Mobiles Computerfluorometer im Freiland Einsatz. 1 Beleuchtungs- und Fluoreszenzmeßkopf, 2 Interface, 3 Potentiometerteil zur Einstellung der Intensität des Anregungslichtes, der Verstärkung und des optischen Referenzniveaus, 4 Taschencomputer mit Drucker. Bei Bedarf können noch ein Tonbandgerät zur externen Datenspeicherung und ein Akkumulator als zusätzliche Stromquelle angeschlossen werden. Das untersuchte Blatt einer Bohnenpflanze ist von oben durch den Meßkopf, von unten durch eine lichtundurchlässige Kammer abgedunkelt. Geeignete Vorrichtungen für die Blattverdunkelung und Blatthalterung müssen jeweils im Hinblick auf das Objekt und das Meßproblem konstruiert werden.

2. Meßanlage

Die mobile Einrichtung zur Auslösung, Messung, Registrierung und Auswertung der Chlorophyllfluoreszenz intakter Blätter besteht aus folgenden Teilen (Abb. 1):

1. Beleuchtungs- und Fluoreszenzmeßkopf: Der Meßkopf, dessen Aufbau in der Abb. 2 dargestellt ist, wurde von der

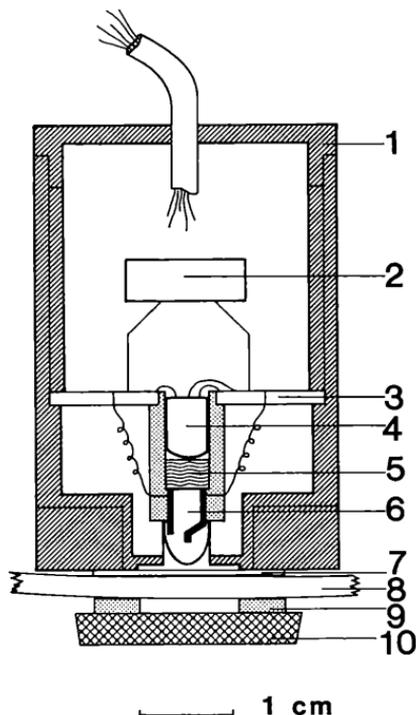


Abb. 2: Meßkopf des Brancker-Fluorometers. 1 Gehäuse, 2 Vorverstärker, 3 Printplatte, 4 Phototransistor, 5 Kantenfilter, 6 lichtemittierende Diode, 7 Deckglas, 8 Blattprobe, 9 Distanzring, 10 Halterungsmagnet. Nach SCHREIBER et al. (1975), vereinfacht.

Firma Brancker bezogen (Probe for Plant Productivity Fluorometer, Model SF-10, Serial Nr. 107). Dieser Meßkopf enthält in kompakter Bauweise eine Photodiode (LED, Monsanto, MV 5020), hinter der ein Phototransistor (Monsanto, MT 2) mit Vorverstärker als Sensor für die Fluoreszenzstrahlung montiert ist. Die LED emittiert Rotlicht im Bereich von 630 bis 720 nm mit einem Ausläufer bis 900 nm und einem Gipfel bei ca. 660 nm (bei 50 mA Diodenstrom) oder langwelliger (675 nm bei 100 mA). Der Vorteil in der Verwendung einer Photodiode als Lichtquelle liegt im extrem schnellen Erreichen der vollen Leuchtstärke (innerhalb von Nanosekunden). Ein Nachteil besteht in der spektralen Überlappung von Anregungslicht und Fluoreszenzlicht (650 bis 800 nm;

siehe Abb. 3). Daher ist dem Phototransistor ein Langpaßkantenfilter (Corning CS 7-69) vorgesetzt, der Strahlung unter 710 nm absorbiert. Trotzdem läßt sich eine geringfügige Überschneidung von Anregungs- und Fluoreszenzlicht nicht vermeiden, weshalb ebenso wie im Originalgerät der Firma Brancker auch in unserer Anlage jeweils nach Einstellung der Intensität des Anregungslichts durch Reflexmessung auf weißem Papier ein „optischer Nullpunkt“ als Referenzniveau festgehalten werden muß.

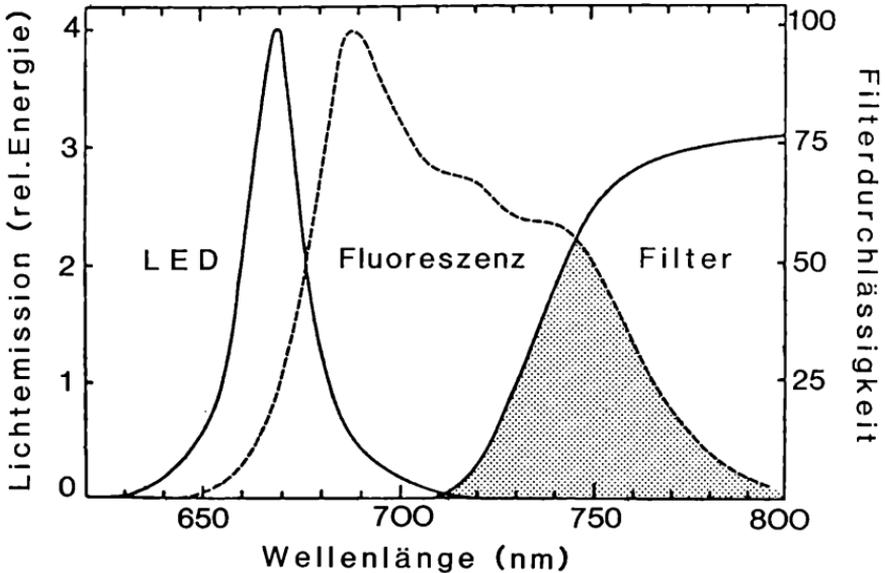


Abb. 3: Emissionsspektren der Lichtquelle des Brancker-Meßkopfes und der Chlorophyllfluoreszenz *in vivo*, spektrale Durchlässigkeit des Kantenfilters Corning CS 7-69. Punktirt: zum Phototransistor gelangende Strahlung. Nach SCHREIBER et al. (1975).

2. **Interface**: Der Brancker-Meßkopf ist über ein flexibles Kabel direkt an ein im Selbstbau angefertigtes Input/Output-Interface angeschlossen. Dieses enthält elektronische Schalter zur Steuerung der LED, einen Analog-Digital-Converter und Spannungsstabilisatoren. Das Interface tastet das Fluoreszenzsignal mit einer Frequenz von 10.000 Messungen pro Sekunde ab, digitalisiert die Einzelwerte und leitet sie an den Computer weiter.

3. **Potentiometerteil**: Zur stufenlosen Einstellung des Anregungslichtes im Bereich von 3 bis $30 \mu\text{mol Photonen} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($1,8-18 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ bei 700 nm), der 50- bis 100fachen Nachverstärkung des Meßkopfsignals und zur Einstellung des optischen Referenzniveaus ist dem Interface ein Bedienelement beige-schaltet. Die Einstellungen der Potentiometer sind fixierbar und auf einer dreistelligen Skala ablesbar.

4. **Taschencomputer mit Drucker**: Als Mikroprozessor wird der in BASIC programmierbare Taschencomputer PC-1500 der Firma Sharp (Osaka) mit einer 16-kBytes-RAM-Speichererweiterung in Verbindung mit dem Drucker-/Plotter CE-150 verwendet. Während der Beleuchtungsphase werden sämtliche Fluoreszenzmeßwerte im Memory des Rechners abgespeichert. Die Fluoreszenzwerte werden als 8-bit-Zahlen (zwischen 0 und 255) erfaßt und passen genau in eine Speicherzelle (1 byte) des Memory. Die zugehörigen Zeiten werden als 2-byte-Zahlen gespeichert. Die vor jeder Messung händisch eingegebenen Texte und Anweisungen werden in BASIC-Speichern abgelegt.

5. **Kassettenrecorder**: Über eine serienmäßig vorhandene Schnittstelle im CE-150 kann für die Datenspeicherung auf Magnetband ein Kassettengerät angeschlossen werden. Aus Gründen der Systemkonformität verwenden wir das Modell CE-152 der Firma Sharp. Es eignen sich aber auch Fabrikate anderer Firmen, sofern der Frequenzgang des Gerätes den Anforderungen des rasch abspeichernden Maschinenprogrammes genügt. Der Frequenzbereich sollte zumindest von 200 bis 6000 Hz reichen, der Signal-Rauschspannungsabstand besser als 40 dB und die Gleichlaufschwankungen kleiner als 0,25 % sein. Die im BASIC-Speicher und im Maschinenprogramm Speicher des Rechners abgelegten Daten können mittels des Maschinenprogramms QUICKTAPE als 1- und 2-bit-Zahlen sehr kompakt, platzsparend und schnell auf Kassette übertragen werden.

6. **Akkumulator zur externen Stromversorgung**: Die im Computer eingebauten Batterien liefern maximal 50 Stunden Betriebsstrom für den Rechner. Der Betrieb des Meßkopfes, des Druckers und des Tonbandgeräts bedarf einer zusätzlichen Stromversorgung, die im Laboratorium über einen Netzadapter erfolgen kann, im Freiland durch eine zusätzliche, ausreichend leistungsfähige Stromversorgung sichergestellt sein muß. Wir verwenden aufladbare Akkumulatoren (6 V, 10 Ah, dryfit), die einen Dauerbetrieb von mindestens 100 Stunden gewährleisten. Der Akkumulator wird über einen Stecker am Interface angeschlossen.

Die Leistungsfähigkeit des Geräts ist im wesentlichen durch die Geschwindigkeit der Datenerfassung und die bekannten Schwächen des Meßkopfes (Rotlichtüberlappung, Temperaturbeeinflussbarkeit des Vorverstärkers) begrenzt.

3. Meßprogramme

Das Gerät erlaubt eine Vielzahl von Meßvarianten wie z. B. Einzelbestimmungen an verschiedenen Blättern, automatische Serienmessung am gleichen Blatt in rascher Aufeinanderfolge mit vorgegebenem Dunkelintervall, Messungen im Dauerlicht oder bei intermittierender Belichtung usw. Welche von diesen Möglichkeiten gewählt werden, richtet sich nach der Fragestellung und bestimmt die Gestaltung des Steuerungs- und Meßprogramms. Ein wichtiger Vorteil der Programm-

steuerung gegenüber händischer Bedienung herkömmlicher Fluorometer besteht in der Standardisierbarkeit des Meßvorgangs und der Datenaufnahme sowie der schnellen Datenauswertung.

Als Meßprogramm, das sich für viele Einsatzbereiche eignet, wird im folgenden unser Programm FLUO 85/1 vorgestellt:

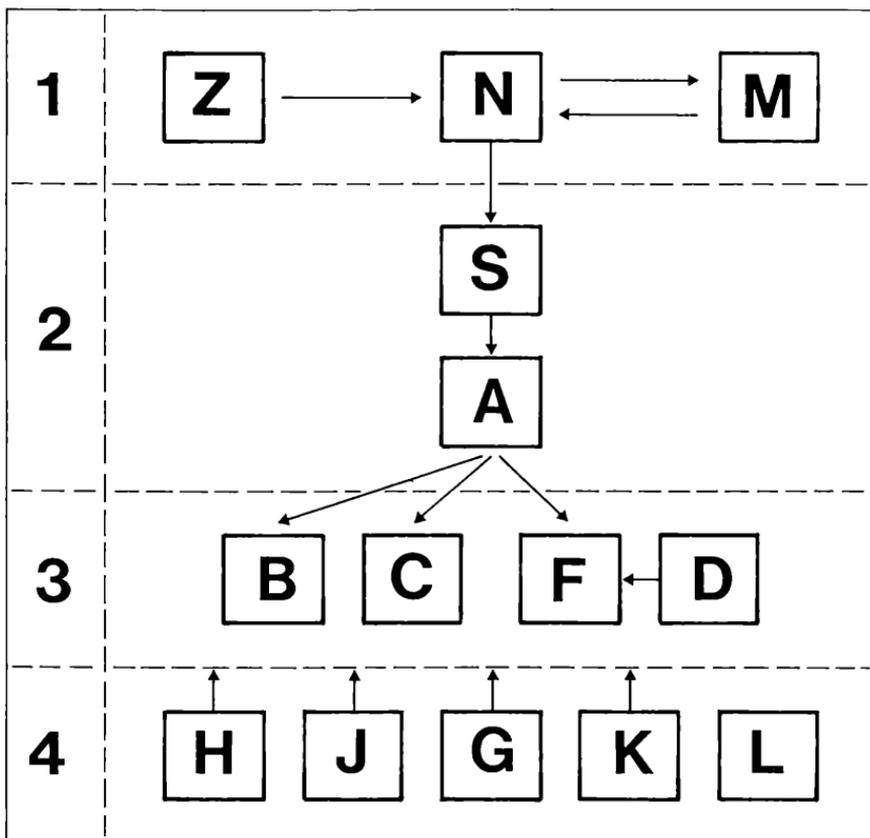


Abb. 4: Übersicht über den Aufbau des Steuerungs- und Auswerteprogramms FLUO 85/1. 1 Programme zur Vorbereitung der Messung, 2 Initialisierung und Identifikation der Messungen, 3 Meßprogramme, 4 separate Aufrufe zur Darstellung von Meßergebnissen. Z Einstellung des Geräterullpunkts, N Einstellung des optischen Bezugsniveaus, M Einstellung der Transientamplitude am Blatt, S Initialisierung einer Meßserie, A Identifikation von Versuchsobjekt und Versuchsparametern, B normale Einzelmessung, C schnelle Einzelmessung, F automatischer Abruf aufeinanderfolgender Messungen, D Rückschaltung auf F nach Unterbrechung der Meßfolge, H Wiedergabe des zuletzt gemessenen Transienten, J separate Darstellung der Tabelle der letzten Messung, G desgleichen für Graphik, K separater Befehl zur Speicherung der letzten Messung auf Magnetband, L Lesen von Meßdaten vom Magnetband. Die Programmaufrufe J, G und K sind Unterprogramme, die in die Programmgruppen 2 und 3 integriert sind.

Programmaufbau: Die Steuerung des Meßvorgangs sowie die Versuchsdatenspeicherung und -auswertung erfolgt über ein BASIC-Programm und über Maschinenprogramme, die als Unterprogramme vom BASIC-Programm abgerufen werden. Die Maschinenprogramme dienen zur raschen Steuerung des Fluoreszenzmeßkopfes (Aktivierung der LED), zur raschen Messung und Abspeicherung der Fluoreszenzwerte und zur Vorauswertung der registrierten Fluoreszenztransienten.

Das Meßprogramm setzt sich aus mehreren Sektoren zusammen, die nach Bedarf abzurufen sind (Abb. 4). Diese enthalten Aufrufe für die Meßvorbereitung (DEF Z, DEF N, DEF M), für den Start und die Identifikation von Versuchen (DEF S, DEF A), für die Durchführung der Messung am Blatt (DEF B, C, D und F) und für die Darstellung der Meßergebnisse (DEF H, J, G, K und L).

DEF Z: Programm zur Einstellung des elektrischen Nullpunkts des Fluorometers bei **a u s g e s c h a l t e t e r** LED. Dieser Nullpunkt scheint im Anzeigefenster des Rechners als vertikaler unterbrochener Strich auf und wird durch Verstellen einer Schraube am Interface auf einen Wert zwischen zehn und zwanzig Skalenteilen abgestimmt. Das Programm DEF Z muß mit BREAK beendet werden.

DEF N: Programm zur Einstellung des optischen Referenzniveaus bei **e i n g e s c h a l t e t e r** LED. Hiezu wird der Meßkopf auf weißes Filterpapier gestellt und das Referenzniveaupotentiometer solange verstellt, bis ein im Anzeigefenster des Rechners aufscheinender verschiebbarer Vertikalstrich mit dem Wert des elektrischen Nullpunkts zur Deckung gebracht wird. Es ist zu beachten, daß sich das optische Bezugsniveau mit jeder Veränderung der Intensität des Anregungslichts und der Endverstärkung verschiebt. Auch dieses Programm muß mit BREAK beendet werden.

DEF M: Testprogramm zur Überprüfung der richtigen Einstellung der Meßgerätkonstanten (Amplitudentest). Vor Aufruf von DEF M wird der Meßkopf auf ein vorverdunkeltes, repräsentatives Blatt der zu untersuchenden Pflanze(n) aufgesetzt und die Schwankungsamplitude der Chlorophyllfluoreszenz während der Photosyntheseinduktion beobachtet. Der Amplitudentest dient zur Einstellung der für das Objekt günstigsten Beleuchtungsstärke (durch Drehen des Lichtstärkenreglers) und der für die Registrierung bestgeeigneten Verstärkung (durch Drehen des Verstärkungsreglers). Die volle Schwankungsbreite der Fluoreszenz darf die Obergrenze der Meßamplitude von 255 Skalenteilen nicht überschreiten. Anschließend wird über DEF N das optische Bezugsniveau für die gewählte Licht- und Verstärkungsstufe neuerlich adaptiert.

DEF S: Im Initialisierungsprogramm S werden für die nachfolgenden Meßprogramme folgende Versuchskenngrößen festgelegt: Registrierdauer (Eingabe zwischen 60–5160 s), Datenspeicherung auf Kassette (ja/

nein), Ausgabe der ausgewerteten Fluoreszenzmerkmale (als eine Zeile, als Tabelle), Art der graphischen Darstellung durch den Plotter (Graphik ja/nein, Darstellung eines ultraschnellen Abschnitts der Fluoreszenzinduktion von 0–100 ms und des schnellen Verlaufs der Fluoreszenzinduktion von 100 ms bis zu $\frac{1}{2}$ der Gesamtmeßzeit, nur des langsamen Induktionsverlaufs von 0 s bis zum Ende der vorgewählten Registrierdauer, aller drei Transienten), Abbildungsmaßstab.

DEF A: Im Identifikationsprogramm A werden eingegeben: Bezeichnung der Versuchsserie und des Versuchsobjekts (Code, Probenbezeichnung), konstante Meßbedingungen (Einstellung des Anregungslichts und der Endverstärkung), Art der Versuchsvariablen (z. B. Temperatur, Wasserzustand der Probe usw.). In den Folgemessungen verlangt der Computer dann die Eingabe konkreter Daten zur jeweiligen Variablen. Alle diese Angaben werden, zusammen mit Datum und Uhrzeit, als Überschrift jedem Ausdruck vorangestellt.

DEF B: Aufruf einer Einzelmessung im Rahmen der mit DEF A festgelegten Versuchsserie: Nach Eingabe aller Zusatzkennzeichnungen erfolgt die Auslösung und Registrierung eines Transienten. Während der Aufnahme scheinen im Anzeigefenster des Rechners der elektrische Nullpunkt Z, der rasche Fluoreszenzanstieg während der ersten 64 ms (durch sieben übereinanderliegende Punkte für die Zeitpunkte 1; 2; 4; 8; 16; 32; 64 ms), die aktuelle Fluoreszenzhöhe und der maximale Fluoreszenzwert auf.

DEF C: Kurzaufruf einer Einzelmessung, wobei die zuletzt durch DEF S, DEF A und DEF B eingegebenen Parameter erhalten bleiben. Die Eingabe einer Notiz ist möglich. Anstelle von DEF C kann nach Beendigung einer Einzelmessung auch einfach mit ENTER das C-Programm aufgerufen werden. Dieses Programm ist für rasche, unkomplizierte Auslösung von Transienten, allenfalls auch im Dunkeln, vorgesehen.

DEF F: Aufruf einer Meßfolge. Es gelten die mit DEF S und A definierten Meßkonstanten bzw. Bezeichnungen. Nach Aufruf von DEF F wird das Meßintervall in Minuten (3, 4, 5, 10, 12, 15, 20, 30 oder 60 Minuten) eingegeben. Anschließend erfolgen automatische Messungen von Transienten im vorgewählten Meßintervall. Dieses Programm wird mit BREAK für die Änderung einzelner Meßparameter unterbrochen. Die Fortsetzung der Meßserie erfolgt mit DEF D.

DEF D: Fortsetzung des Programms DEF F nach einer Unterbrechung des automatischen Programmablaufs.

DEF H: Wiederholung des im Memory des Computers gespeicherten letzten Transienten. Dieses Programm sichert die Wiedergabe des vollständigen Datenausdrucks, wenn durch eine Störung z. B. des Druckers die Darstellung ausgefallen ist. Es eignet sich auch für den Abruf eines Ausdrucks im Anschluß an das Testprogramm DEF M.

Die übrigen Auswertungs- und Darstellungsprogramme erlauben bei Bedarf den separaten Ausdruck der Tabelle (DEF J) oder der Graphik (DEF G) sowie die nachträgliche Datenübertragung auf Kassette (DEF K) und das Lesen der Daten von einem Magnetband (DEF L). DEF J, G und K sind Unterprogramme, die bei der automatischen Fluoreszenzmessung vom Hauptprogramm aufgerufen werden.

M e ß a b l a u f : Nach Aufruf des Maschinenprogrammes durch das BASIC-Programm wird zunächst ohne Aktivierung der LED nur der elektrische Nullpunkt des Meßkopfes gemessen und als Z abgespeichert. Der Wert Z berücksichtigt nicht nur allfällige Nullpunktverschiebungen der diversen elektronischen Bauteile, sondern auch wechselndes Streulicht aus der Umgebung. Diese Nullpunktbestimmung dauert 0,1 ms. Anschließend wird die LED aktiviert, und es beginnt die Messung des schnellen Anfangsanstiegs des Fluoreszenzsignals. Der Anfangsanstieg wird über einen Zeitraum von 100 ms mit einer Meßrate von 10.000 Messungen pro Sekunde erfaßt. Nach Abschluß der schnellen Registrierung wird der übrige Verlauf des Transienten mit stark reduzierter Meßrate registriert. Dabei wird die Meßfrequenz an die vorgewählte Abtastdauer so angepaßt, daß über den langsamen Abtastbereich insgesamt 1280 Meßwerte registriert werden. Bei einem Abtastintervall von 60 Sekunden ergibt sich somit eine Meßrate von angenähert 21 Meßpunkten pro Sekunde, bei 120 Sekunden Meßdauer beträgt die Meßrate angenähert 10 Messungen pro Sekunde. Nach Abschluß des Meßintervalls werden zunächst die LED und das Interface abgeschaltet, und anschließend erfolgt der Rücksprung ins BASIC-Programm.

Während der Transientmessung werden sämtliche Meßwerte im Memory des Rechners abgespeichert, wobei sich folgende Speicherbereichsverteilung ergibt:

Maschinenprogramm FLUO 85/1	&C5—&D9
Maschinenprogramm QUICKTAPE	&B00—&D30
Transient 0—100 ms	&301—&3FF
übriger Transient	&400—&8FF
Dauer	&2E1

Der Parameter „Dauer“ gibt an um wieviel 20-Sekunden-Intervalle das Standardmeßintervall (eine Minute) verlängert wird. Entsprechend diesem Parameter wird die Abtastfrequenz des langsamen Transienten an die Meßdauer automatisch durch das Maschinenprogramm angepaßt.

4. Meßdatenauswertung und Ausdruck

Sobald der Transient im Computer gespeichert ist, erfolgt die Auswertung des Transientenverlaufs. Diese erfolgt wie üblich durch Ermittlung der relativen Lage charakteristischer Merkmale auf der Induktionskurve. Aus operationellen Gründen bezeichnen wir die durch die Sofortauswertung berechneten Transientmerkmale mit fortlaufenden Zahlen, deren Beziehung zu den konventionellen Merkmalen (PAPAGEORGIU, 1975) aus der Abb. 5 hervorgeht. Folgende Kurvenmerkmale werden ausgedruckt (Abb. 6):

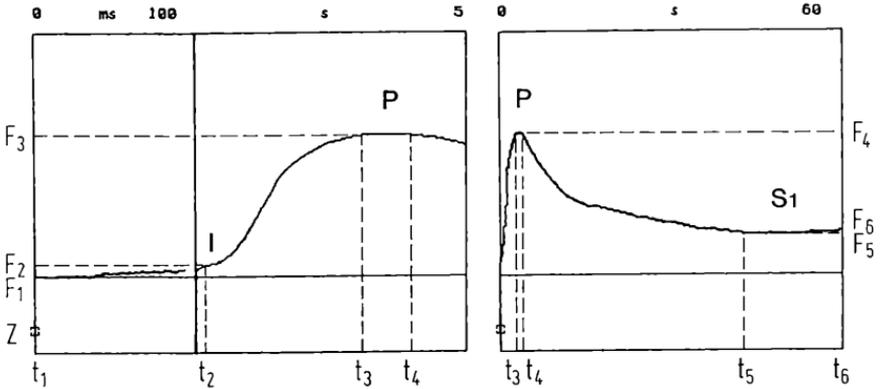


Abb. 5: Sofortausdruck eines dreiteiligen Fluoreszenztransienten durch das mobile Computerfluorometer. Links: Ultraschnelle Anfangsphase der Fluoreszenzinduktion von 0–100 ms. Mitte: Anstiegsphase der variablen Fluoreszenz von 100 ms bis 5 s. Rechts: Vollständiger langsamer Transient. Z Lage des elektrischen Gerätenullpunkts. Fluoreszenzwerte: F_1 1 ms nach Belichtungsbeginn, F_2 erste Abflachung des Fluoreszenzanstiegs, F_3 Beginn des Hauptgipfels, F_4 Ende des Hauptgipfels, F_5 Hauptminimum des Transienten, F_6 letzter Wert; t_1 bis t_6 zugehörige Zeitpunkte. Konventionelle Transientmerkmale: I intermediäres Niveau der Anstiegsphase, P Hauptmaximum, S1 erstes quasistationäres Niveau der Absinkphase. Die durchgehende horizontale Linie markiert das Fluoreszenzniveau F_1 als Bezugsbasis.

Z: Elektrischer Nullpunkt. Die Lage des Z-Niveaus muß von allen Meßwerten subtrahiert werden, sofern es sich nicht um Differenzangaben zwischen zwei Kurvenniveaus handelt.

F_1 : Fluoreszenzsignal 1 ms nach Aktivierung der LED. Solange mit Rotlicht angeregt und das optische Bezugsniveau gegen eine Referenzfläche (Papier) abgestimmt wird, ist die Grundfluoreszenz (konstante Komponente der Chlorophyll-a-Fluoreszenz) nicht exakt bestimmbar. Als erstes Merkmal wird daher die Lage des zehnten Meßpunkts ausgedruckt. Dieser Wert steht am Beginn des konventionellen Merkmals I („Intermediate level“). Die Steilheit des Fluoreszenzanstiegs bis zu 1 ms ist am Display ersichtlich.

Z=	17	F1=	63	F3=	176	F5=	94	F6=	96
F _{r1} =	50.0	F _{rp} =	0.71	F _d =	0.28				
F1	63		0.001 s						
F2	74		0.52 s						
F3	176		3.66 s						
F4	176		3.75 s						
F5	94		42.00 s						
F6	96		60.00 s						

Abb. 6: Sofortausdruck der Merkmalstabelle zu dem in Abb. 5 gezeigten Transienten. F_{r1} Steigung von 1 bis 100 ms, F_{rp} Steigung zwischen Halbwertszeit des Anstiegs zum Hauptmaximum und Beginn des Gipfels (t_3), F_d Fluoreszenzabfall zwischen t_4 und dem Punkt ($t_4 +$ Halbwertszeit). Alle übrigen Bezeichnungen wie in Abb. 5.

F_2 : Abflachung des Anfangsanstiegs des Fluoreszenzsignals vor dem Übergang zum Anstieg zum Hauptgipfel. F_2 wird vom Maschinenprogramm als letzter Punkt, für den $F(n) \geq F(n+1)$ gilt, berechnet. Da im Bereich der schnellen Transientregistrierung die Meßsignale häufig wegen Brummeinstreuung um einen Skalenteil springen, ist die Bestimmung von F_2 derzeit noch problematisch.

F_3 : Beginn des Hauptmaximums (konventionelles Merkmal P).

F_4 : Ende des Hauptmaximums.

F_5 : Hauptminimum des Fluoreszenztransienten. Als solches wird der niedrigste Meßwert ausgedrückt, der nach F_4 am Transienten auftritt.

F_6 : Letzter Fluoreszenzwert des aufgenommenen Transienten
 t_1 bis t_6 : Zeitpunkte von F_1 bis F_6 (angegeben in s).

Ferner werden berechnet:

F_{ri} : Steigung des Transienten von 1 bis 100 ms.

F_{rp} : Anstieg des Fluoreszenzsignals zum Hauptmaximum. Zur Berechnung wird zunächst die Halbwertszeit des Anstiegs festgestellt und anschließend der Anstieg zwischen diesem Halbwert und dem Beginn des Hauptmaximums F_3 ermittelt. Wir wollen versuchen, auch den linearen Teil des beginnenden Anstiegs zum Gipfel („maximal rate of rise in fluorescence after dip“; SMILLIE und HETHERINGTON, 1983) in die Sofortauswertung einzubeziehen.

F_d : Abfall des Fluoreszenzsignals nach dem Hauptmaximum, berechnet aus der Steigung des Transienten zwischen t_4 und dem Punkt ($t_4 +$ Halbwertszeit).

Alle Steigungsmaße sind als Skalenteile pro Sekunde angegeben.

Es mag auffallen, daß die Sofortauswertung nicht alle konventionellen Merkmale von Fluoreszenztransienten identifiziert (z. B. fehlen D, M und die Unterscheidung von quasistationären Niveaus). Eine vollständige Auswertung würde den Meßablauf zu sehr verzögern und ist auch nicht unbedingt notwendig, weil nach Speicherung sämtlicher Meßpunkte auf Tonband die Transienten nachträglich in beliebiger Weise ausgewertet und dargestellt werden können. Andererseits haben Vorversuche ergeben, daß Angaben über den Eintrittszeitpunkt und den zeitlichen Abstand bestimmter Kurvenmerkmale sowie die Geschwindigkeit des Fluoreszenzanstiegs und -abfalls wichtige Informationen liefern. Die Analyse der Fluoreszenztransienten beschränkt sich also nicht auf die Berechnung der variablen Fluoreszenzamplitude, sondern wird durch die Einbeziehung von Zeitgrößen wesentlich erweitert.

5. Meßbeispiel

Zur Demonstration des Anwendungsspielraums des mobilen Computerfluorometers soll hier ein Meßeinsatz unter Expeditionsbedingungen vorgestellt werden, der an der Forschungsstation Kasbegi der Georgischen Akademie der Wissenschaften an Pflanzen einer subalpinen

Wiese (*Brometum chamaesciadiosum*) in ca. 1800 m Meereshöhe Ende Juni und anfangs Juli 1984 durchgeführt wurde. Um diese Zeit herrschte wolkenloses Wetter, das zu starker Erwärmung strahlungsexponierter Blätter führte: In Bodennähe erreichten die Blattertemperaturen um die Mittagszeit stellenweise 35–40° C. Transpirationsbestimmungen in diesem Bestand ließen erkennen, daß unter solchen Witterungsbedingungen dicotyle Kräuter ihre Spaltapparate stark verengten (NACHUCRIŠVILI, 1971, 1974). Als Auslöser des Spaltenschließens kommen zunehmendes Dampfdruckdefizit der Luft, Verschlechterung des Wasserstands der Pflanze und Auswirkungen einer hitzebedingten Photosynthesehemmung auf den Spaltöffnungsgrad (über den CO₂-Regelkreis) infrage. Daraus ergibt sich als Fragestellung für eine fluorometrische Untersuchung:

1. Wie ändert sich der Fluoreszenztransient zwischen dem Zustand größter Transpirationsaktivität (8 bis 10 h WOZ) und während der Mittagsdepression der Transpiration (13 bis 15 h WOZ)?
2. Erlaubt die Bestimmung von Fluoreszenztransienten Aussagen über den momentanen Belastungsgrad bzw. den Spielraum bis zu definierten Grenzbelastungen?
3. Liefert die Analyse von Fluoreszenztransienten Hinweise auf die Art des dominierenden Streßfaktors?

Die Untersuchung war als Probelauf des Geräts gedacht; eine Lösung der angesprochenen Fragestellungen oder gar eine Erklärung aller auftretenden Effekte wurde schon wegen der Stichprobenhaftigkeit der Experimente nicht erwartet.

Als Versuchspflanze wurde der Klee *Trifolium ambiguum* verwendet, der im Zentralkaukasus zwischen 1800–3000 m Meereshöhe vorkommt und in seinen Standortsansprüchen als mikrothermer Mesophyt eingestuft wird (NACHUCRIŠVILI, 1974).

Aufnahme von Fluoreszenztransienten an Blättern von Freilandpflanzen am Vormittag und am Nachmittag

Die typische Induktionskinetik der Photosynthese tritt nur auf, wenn vorher im Dunkeln alle Energieflüsse und lichtabhängigen Stoffwechselprozesse in den Chloroplasten zum Stillstand gekommen sind. Es wurde daher an zunehmend lang verdunkelten Blättern die Mindestvorbereitungszeit ermittelt. Nach 15 Minuten blieben die Merkmale t_3 (Zeit bis zum Erreichen des Fluoreszenzgipfels) und $F_4 - F_5$ (Amplitude des Fluoreszenzabfalls vom Gipfelwert zur ersten Senke) weitgehend konstant, nach 30 Minuten erreichten auch $F_3 - F_1$ (Amplitude des Fluoreszenzanstiegs vor dem Hauptmaximum) und $F_4 - F_5 / t_5 - t_4$ (Geschwindigkeit des Fluoreszenzabfalls nach dem Hauptmaximum) einen nahezu konstanten Wert. Daher wurde bei allen Messungen an Blättern aus dem Freiland jeweils eine Dunkelzeit von 30 Minuten eingehalten.

Tabelle 1: Charakteristische Merkmale der Fluoreszenztransienten von *Trifolium ambiguum* am Vormittag (VM) und am Nachmittag (NM) eines strahlungsintensiven warmen Sommertages. Mittel aus vier Parallelmessungen nach 30 Minuten Dunkelzeit. Anregungslicht $12 \mu\text{mol Photonen. m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Transientmerkmal	VM	NM	NM:VM
Anstiegsphase			
$F_3 - F_1$	124 Skt	70 Skt	0,56
$t_3 - t_1$	3,3 s	4,5 s	1,4
$F_3 - F_1 / t_3 - t_1$	37,6 Skt	15,6 Skt	0,41
Hauptmaximum			
$t_4 - t_3$	0,7 s	1,1 s	1,6
Absinkphase			
$F_4 - F_5$	46 Skt	21 Skt	0,46
$t_5 - t_4$	9,2 s	33,7 s	3,7
F_d	5,4 Skt	2,3 Skt	0,42

Die Transientbestimmungen am Vormittag und Nachmittag wurden mit Programmaufruf DEF B ausgeführt. In der Tabelle 1 sind relative Kenngrößen für diskriminierende Transientmerkmale angegeben: Am Nachmittag ist gegenüber dem Vormittag die Schwankungsamplitude der Fluoreszenz auf rund die Hälfte vermindert, die Geschwindigkeit des Fluoreszenzanstiegs vor dem Gipfelwert und der Abfall F_d erheblich verzögert. Insgesamt sind die Nachmittagstransienten wegen des niedrigeren Maximums flacher.

Man könnte nun versuchen, diese Veränderungen photophysiologisch und biochemisch kausal zu deuten. Derartige Interpretationen sind jedoch am vorhandenen Material nicht möglich und auch nicht beabsichtigt. Vielmehr ging es darum, rein phänomenologisch eine Vorstellung über die Art der Umweltfaktoren zu entwickeln, die solche Veränderungen auszulösen imstande sind.

Hiezu wurden Austrocknungs- und Hitzeexperimente ausgeführt. Versuche in Kombination mit Starklichtbelastung, die in diesem Fall zur Erkennung von Photosynthesestörungen durch Photoinhibition wichtig gewesen wären, konnten nicht unternommen werden.

Veränderung der Fluoreszenztransienten mit fortschreitender Austrocknung der Blätter

Abgeschnittene Blätter von *Trifolium ambiguum* wurden nach vorheriger Aufsättigung im Dunkeln der Austrocknung überlassen. Von jedem Blatt wurde stündlich ein Fluoreszenztransient aufgenommen und anschließend das Wasserdefizit bestimmt. Da neben dem Klee noch weitere Pflanzenarten in gleicher Weise untersucht wurden, war alle sechs Minuten eine Messung durchzuführen. Es wurde daher das Programm DEF F aufgerufen, das die exakte Einhaltung von Zeitintervallen erleichtert. Auf Grund der fortlaufenden Anzeige der Uhrzeit im Anzeigefenster des Rechners konnte das zu untersuchende Blatt immer rechtzeitig unter den Meßkopf gebracht werden. Auf Wunsch wäre es auch leicht möglich gewesen, den Zeitpunkt für die Probenvorbereitung über das Programm durch ein akustisches Signal zu melden.

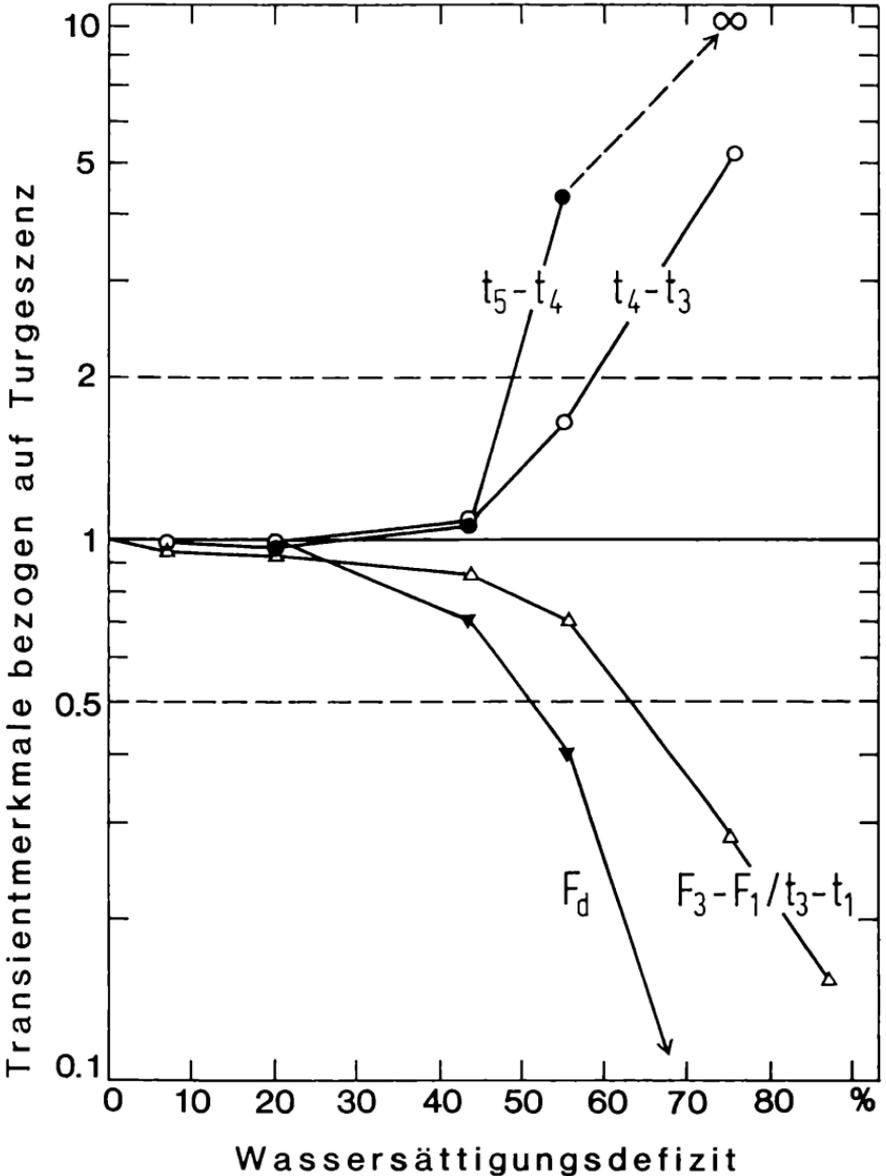


Abb. 7: Relative Veränderung von Transientmerkmalen bei zunehmender Austrocknung abgeschnittener Blätter von *Trifolium ambiguum*: $t_4 - t_3$ Breite des Hauptgipfels, $t_5 - t_4$ Zeitintervall vom Beginn des Fluoreszenzabfalls bis zum ersten Minimum, $F_3 - F_1 / t_3 - t_1$ Geschwindigkeit der Anstiegsphase vor dem Hauptgipfel, F_d Geschwindigkeit der Absinkphase. Alle Merkmalsänderungen sind auf den turgeszenten Zustand (= 1) bezogen. Im Interesse symmetrischer Darstellung der Abweichungen vom Ausgangswert ist die Ordinate logarithmisch geteilt.

Die Abb. 7 zeigt die Veränderung einiger Transientmerkmale in Abhängigkeit vom Wassersättigungsdefizit der Blätter, bezogen auf die Merkmalsrelation der variablen Chlorophyll-a-Fluoreszenz wassersatter Blätter. Von den verschiedenen Auswertemöglichkeiten sind für die Abb. 7 nur solche Transientmerkmale ausgewählt worden, die ein besonders charakteristisches Verhalten zeigen oder, wie z. B. Zeitgrößen, die besonderen Vorteile des mikroprozessorgesteuerten Fluorometers zum Ausdruck bringen. Nicht eingetragen ist das Merkmal F_3-F_1 (im wesentlichen vergleichbar mit der konventionellen Relation „variable Fluoreszenz“, $vF = P-0$), das während der Austrocknung um weniger als 25 % vom Mittelwert abgewichen ist. Eine starke Reduktion erfahren die Merkmale F_3-F_1/t_3-t_1 (Geschwindigkeit des Fluoreszenzanstiegs vom Beginn der variablen Fluoreszenz bis zum Hauptmaximum) und F_d (Geschwindigkeit des Fluoreszenzabfalls nach dem Hauptmaximum). Die Verzögerung im Fluoreszenzanstieg ist auf den verspäteten Eintritt des Fluoreszenzmaximums zurückzuführen (t_3-t_1 nimmt zu; in der Abb. 7 nicht dargestellt). Dieser Befund stimmt gut mit den Ergebnissen von HETHERINGTON et al. (1982) überein, er weist auf eine verminderte Reduktionsleistung des Photosystems II hin. Verhältnismäßig früh im Austrocknungsverlauf wird der Fluoreszenzabfall F_d flacher und die Zeitspanne bis zum Erreichen der ersten Senke länger (t_5-t_4), was auf einen gestörten Elektronentransfer im Chloroplasten schließen läßt. Das Merkmal t_4-t_3 (Verflachung des Hauptgipfels) war bei diesem Austrocknungsversuch diagnostisch wenig empfindlich.

Veränderungen des Fluoreszenztransienten mit zunehmender Erhitzung

In einem zweiten Experiment wurden dunkeladaptierte Kleeblätter eine Minute lang im Wasserbad erhitzt und nach sofortiger Abkühlung auf etwa 20° C zur Messung gebracht. Auch hier bewährte sich das Programm DEF F, weil die Bestimmungen in rascher und zeitlich regelmäßiger Abfolge erfolgen mußten. Das Programm DEF C wäre ebensogut geeignet gewesen.

Die Ergebnisse sind der Abb. 8 zu entnehmen. Es fällt auf, daß in der Reihe zunehmender Erhitzungstemperaturen der Hauptgipfel von Anfang an exponentiell fortschreitend flacher wird (siehe t_4-t_3), das Merkmal t_5-t_4 hingegen keinen klaren Bezug zum Belastungsgrad erkennen läßt. Die übrigen Merkmale verhalten sich konform und weichen bei einer kritischen Grenze ziemlich abrupt vom Normalverhalten ab. Soweit die Parameter vergleichbar sind, decken sich die Befunde mit Angaben in der Literatur (z. B. SMILLIE und HETHERINGTON, 1983) und zeigen eine frühe Funktionsstörung im Photosystem II an. Üblicherweise wird als Kriterium für die Überschreitung der Hitzbeanspruchungsgrenze die jähe Zunahme der Grundfluoreszenz angesehen (SCHREIBER und BERRY, 1977). Die dadurch ermittelte „kritische Temperatur“ entspricht einem irreversiblen Schädigungsgrenzwert (BILGER et al., 1984). Da es in unserer Fragestellung mehr auf frühe Anzeichen

einer möglichst noch reversiblen Photosyntheseerstörung ankam, wurde die spezifische Versuchstechnik zur Feststellung des Anstiegsbereichs der Grundfluoreszenz nicht angewendet.

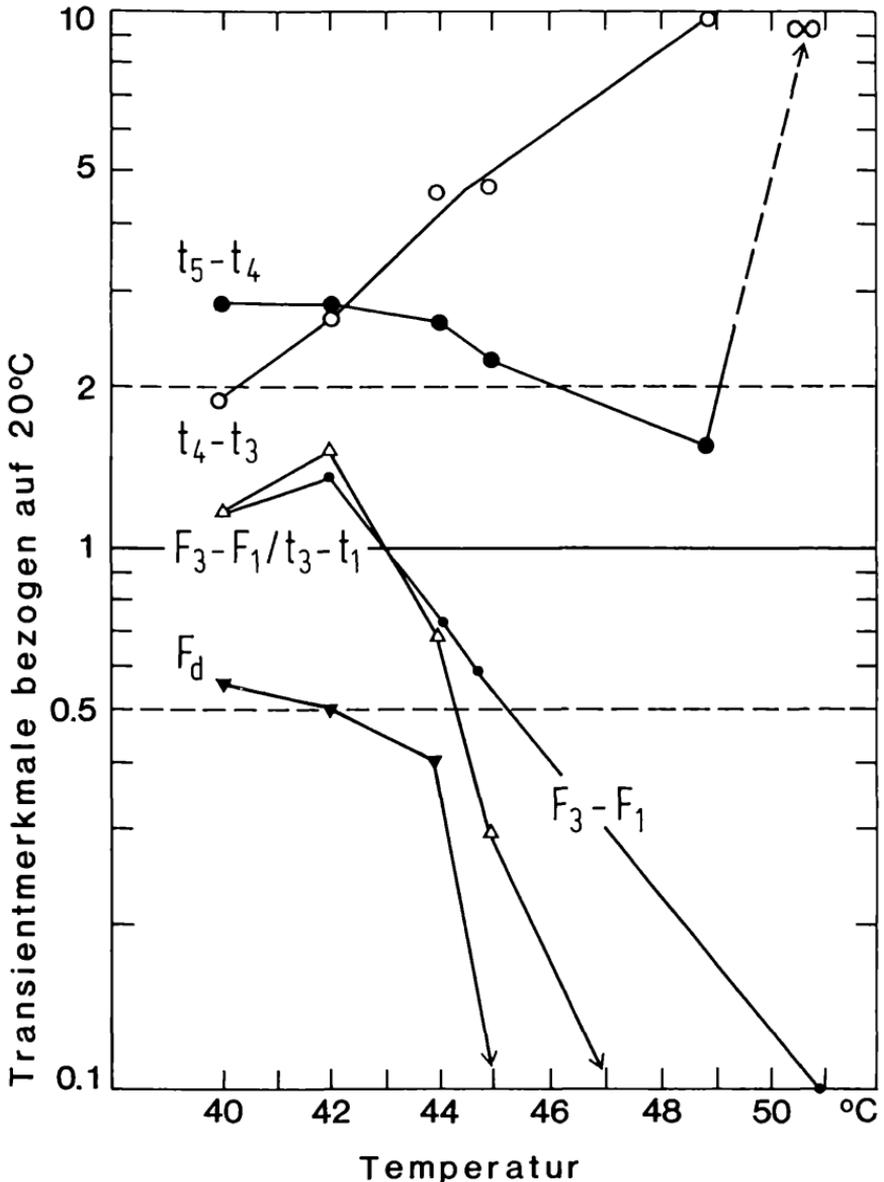


Abb. 8: Relative Veränderung von Transientmerkmalen unmittelbar nach einer Minute Erhitzen auf die angegebenen Temperaturen. $F_3 - F_1$ Anstiegsamplitude der variablen Fluoreszenz von 1 ms nach Belichtungsbeginn bis zum Hauptmaximum; übrige Bezeichnungen wie in Abb. 7.

Diskussion der Ergebnisse

Es stellt sich nun die Frage, ob die Analyse der Fluoreszenztransienten eine Unterscheidung zwischen Austrocknungs- und Hitzeeffekten zuläßt. Betrachtet man den Verlauf der in den Abb. 7 und 8 ausgewiesenen Transientmerkmale, so zeigen sich sowohl Parallelen als auch Unterschiede: Gleiche oder zumindest ähnliche Tendenz herrscht bei den Merkmalen F_3-F_1/t_3-t_1 und F_d vor, im Prinzip auch bei t_4-t_3 , desgleichen bei den in den Abbildungen nicht dargestellten Merkmalen t_3-t_1 (steigend) und F_4-F_5 (fallend). Unterschiede bestehen im Verlauf der Merkmale F_3-F_1 (nur bei Hitze stark fallend) und t_5-t_4 (nur bei Austrocknung stark zunehmend). Zur Absicherung dieser Aussage und zur Ausarbeitung weiterer differentialdiagnostischer Hinweise bedarf es jedoch noch gründlicherer vergleichender Untersuchungen.

Tabelle 2: Maximale standörtliche Belastung von *Trifolium ambiguum* durch Wassermangel und Hitze und Beanspruchungsgrenzwerte auf Grund von Transientmerkmalen. Als Beanspruchungsgrenze gilt eine Funktionsabweichung im Verhältnis 1 : 2, bezogen auf den unbelasteten Zustand.

Merkmal	Wassersättigungsdefizit (%)	Hitze (° C)
Maximal am Standort	12–15 (a)	35–40 (b)
F_3-F_1 (c)	nicht erreicht	46
T_3-t_1 (d)	um 55	45
F_3-F_1/t_3-t_1 (e)	65	44,5
T_4-t_3 (d)	55	40,5
F_4-F_5 (c)	um 65	44,5
t_5-t_4 (d)	um 50	< 40
F_d (e)	50	42

(a) Nach NACHUCRIŠVILI (1971)

(b) Eigene Messungen der Blattemperatur im Sommer 1984

(c) Halbe Höhe bezogen auf unbelasteten Zustand

(d) Doppelte Dauer bezogen auf unbelasteten Zustand

(e) Halbe Geschwindigkeit bezogen auf unbelasteten Zustand

Zur weiteren Frage, ob Fluoreszenztransienten Auskunft über Grenzbelastungen und den Spielraum bis zu deren Eintritt geben können, liefert die Tabelle 2 Unterlagen. Zunächst fällt auf, daß bei Austrocknung erst bei verhältnismäßig hohen Wasserdefiziten größere Abweichungen erkennbar werden. Dies hängt möglicherweise damit zusammen, daß sich die durch Spaltenschluß unterbundene CO_2 -Aufnahme (bei Mesophyten in der Regel spätestens bei 25–35 % Wassersättigungsdefizit) auf die photosynthetische Induktionskinetik weniger auswirkt (LUDLOW und BJÖRKMAN, 1984) als Protoplastenkontraktion und Zellsaftkonzentrierung bei stärkerer Entwässerung (kritischer Grenzwert für verschiedene Arten bei 50 % relativem Protoplastenvolumen; KAISER, 1982). Hitzewirkungen machen sich ab 40° C, also bei Temperaturen, die am Standort unter Extrembedingungen tatsächlich auftreten können, bemerkbar. Als frühe Belastungszeichen erweisen sich vor allem die Verzögerung des Fluoreszenzabfalls nach dem Hauptmaximum (t_5-t_4), bei Austrocknung

auch der Abfall von F_d , bei Hitze die Verflachung des Gipfelwerts ($t_4 - t_3$). Unter den Merkmalen der Anstiegsphase des Transienten wird die Dauer bis zum Erreichen des Hauptmaximums ($t_3 - t_1$) besonders auffällig durch Austrocknung und Hitze beeinflusst.

Schließlich verbleibt noch die dritte Frage, ob aus der Analyse von Fluoreszenztransienten Hinweise auf die Art des dominierenden Streßfaktors zu gewinnen seien. Setzt man die Veränderung der Transientenmerkmale der Freilandpflanzen zwischen Vormittag und Nachmittag (Tab. 1) zu jenen bei Austrocknung und Erhitzung (Tab. 2, Abb. 7 und 8) in Beziehung und berücksichtigt man die standörtlichen Gegebenheiten, dann ergibt sich kein klares Bild. Die Veränderung der Transientenmerkmale der Freilandpflanzen vom Vormittag zum Nachmittag wäre, mit einer Ausnahme, nur durch Überschreitung eines Wasserdefizits von 50–55% oder einer Temperatur von 44–46°C erklärlich; einzig das Merkmal $t_4 - t_3$ entspräche dem Verhalten bei Einwirkung von 36–38°C. Es ist also ein Überhitzungseffekt – zumal bei einer mikrothermen Gebirgspflanze wie *Trifolium ambiguum* – nicht ganz auszuschließen. Doch soll ein einziges Merkmal nicht überbewertet werden. Bevor nicht auch Kombinationsbelastungen, insbesondere unter Einbeziehung starker Strahlung (die bei Dürre und Hitze sehr leicht den Photosyntheseapparat schädigt: LUDLOW und BJÖRKMAN, 1984), durchgetestet wurden, ist eine gültige Aussage über den dominierenden Störfaktor nicht möglich. Die apparative Voraussetzung für eine umfassendere vergleichende Studie wäre jedenfalls durch die mobile Anlage zum fluorometrischen Nachweis von Photosynthesestörungen gegeben.

Dank

Der Österreichischen Akademie der Wissenschaften gilt besonderer Dank für die Gewährung einer Subvention, die die Entwicklung des mikrocomputergesteuerten Fluorometers ermöglicht hat. Herrn R. GAPP danken wir für die sorgfältige Ausführung der technischen Arbeiten am Gerät. Für wertvolle Hinweise und freundliche Beratung danken wir den Herren Prof. Dr. G. H. KRAUSE (Düsseldorf), Prof. Dr. KREEB (Bremen) und Dr. U. SCHREIBER (Würzburg). Herrn Prof. Dr. G. NACHUCRISVILI sind wir für die freundschaftliche Aufnahme an der Forschungsstation Kasbegi und mannigfache Unterstützung dankbar.

Zusammenfassung

Zur fluorometrischen Analyse der photosynthetischen Induktionskinetik wurde unter Verwendung eines Leucht- und Meßkopfes der Firma Brancker (Ottawa) eine mobile mikrocomputergesteuerte Anlage für den Feldeinsatz im Dienste der Streßeffektdiagnostik bei Pflanzen entwickelt. Das Meßprinzip, der Aufbau und die Bedienung des Geräts, das Steuerungs-, Datenerfassungs- und Auswerteprogramm werden beschrieben und durch ein Meßbeispiel erläutert.

Literatur

- BILGER, H.-W., SCHREIBER, U., LANGE, O. L.: Determination of leaf heat resistance: comparative investigation of chlorophyll fluorescence changes and tissue necrosis methods. *Oecologia* **63**, 256–262 (1984).
- EDWARDS, G., WALKER, D. A.: C₃, C₄: mechanisms, and cellular and environmental regulation, of photosynthesis. Blackwell, Oxford (1983).
- FRANCK, H. F., HOFFMANN, H., ARENZ, H., SCHREIBER, U.: Chlorophyllfluoreszenz als Indikator der photochemischen Primärprozesse der Photosynthese. *Bunsenges.* **73**, 871–879 (1969).
- HEBER, U.: Conformational changes of chloroplasts induced by illumination of leaves in vivo. *Biochim. Biophys. Acta* **180**, 302–319 (1969).
- HETHERINGTON, S. E., SMILLIE, R. M., HALLAM, N. D.: In vivo changes in chloroplast thylakoid membrane activity during viable and non-viable dehydration of a drought-tolerant plant, *Borya nitida*. *Aust. J. Plant Physiol.* **9**, 611–621 (1982).
- KAISER, W. M.: Correlation between changes in photosynthetic activity and changes in total protoplast volume in leaf tissue from hygro-, meso- and xerophytes under osmotic stress. *Planta* **154**, 538–545 (1982).
- KAUTSKY, H., HIRSCH, A.: Chlorophyllfluoreszenz und Kohlensäureassimilation. Das Fluoreszenzverhalten grüner Pflanzen. *Biochem. Ztsch.* **274**, 423–434 (1934).
- KRAUSE, G. H., WEIS, E.: Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. II. Interpretation of fluorescence signals. *Photosynth. Res.* **5**, 139–157 (1984).
- KREBB, K. H.: Methoden der Pflanzenökologie, 2. Aufl. VEB Fischer, Jena, in Druck, 1987.
- LICHTENTHALER, H., PFISTER, K.: Praktikum der Photosynthese. Quelle & Meyer, Stuttgart (1978).
- LUDLOW, M. M., BJÖRKMAN, O.: Paraheliotropic leaf movement in *Siratro* as a protective mechanism against drought-induced damage to primary photosynthetic reactions: damage by excessive light and heat. *Planta* **161**, 505–518 (1984).
- NACHUCRUŠVILI, G. Š.: Ekologija vysokogornych travianystych rastenii i fitocenozov zentralnogo Kavkaza. Vodnyi režim. Mecniereba Tbilisi (1971).
- NACHUCRUŠVILI, G. Š.: Ekologija vysokogornych rastenii i fitocenozov zentralnogo Kavkaza. Ritmika razvitija, fotosintez, ekobiomorfy. Mecniereba Tbilisi (1974).
- NORRISH, R., KRIEDEMANN, P. E., WISKICH, J. T.: Chlorophyll a fluorescence transients: a fast data acquisition system to facilitate in vivo measurements. *Photosynth. Res.* **4**, 213–227 (1983).
- PAPAGEORGIOU, G.: Chlorophyll fluorescence: An intrinsic probe of photosynthesis. In: GOVINDJEE (ed.): *Bioenergetics of Photosynthesis*, 319–371. Academic Press, San Francisco (1975).
- RENGER, G., SCHREIBER, U.: Practical application of fluorometric methods to algae and plant research. In: AMESZ, J., FORK, D. C., GOVINDJEE (eds.): *Light emission by plants and bacteria*. Academic Press, New York (1985).

- SMILLIE, R. M., HETHERINGTON, S. E.: Stress tolerance and stress-induced injury in crop plants measured by chlorophyll fluorescence in vivo. *Plant Physiol.* **72**, 1043–1050 (1983).
- SCHREIBER, U.: Chlorophyll fluorescence yield changes as a tool in plant physiology. I. The measuring system. *Photosynth. Res.* **4**, 361–373 (1983).
- SCHREIBER, U., BERRY, J. A.: Heat-induced changes of chlorophyll fluorescence in intact leaves correlated with damage of the photosynthetic apparatus. *Planta* **136**, 233–238 (1977).
- SCHREIBER, U., GROBERMAN, L., VIDAVER, W.: Portable, solid-state fluorometer for the measurement of chlorophyll fluorescence induction in plants. *Rev. Sci. Instrum.* **46**, 538–542 (1975).

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse](#)

Jahr/Year: 1985

Band/Volume: [194](#)

Autor(en)/Author(s): Larcher Walter, Cernusca Alexander

Artikel/Article: [Mikrocomputergesteuerte mobile Anlage zum fluorometrischen Nachweis von Photosynthesestörungen. 45-64](#)