

(Aus der Botanischen Abteilung der Zentralanstalt für landw. Versuchswesen
in Stockholm-Experimentalfältet.)

VON DEN SCHWANKUNGEN IM VERLAUF DER PHOTOSYNTHESE.

Von

EUGEN BELJAKOFF
(Saratow, USSR.).

(Eingegangen am 19. März 1929.)

Die neue Richtung der heutigen Pflanzenphysiologie, die auf die Erforschung der physiologischen Vorgänge unter natürlichen Bedingungen gerichtet ist, muß als sehr wichtig und interessant begrüßt werden. Von dem Verlauf der Photosynthese unter natürlichen Bedingungen wußten wir noch vor kurzem recht wenig. Jedoch haben in der letzten Zeit eine Reihe Forscher, unter denen in erster Linie LUNDEGÅRDH und seine Mitarbeiter zu nennen sind, in dieses außerordentlich wichtige Problem Licht gebracht. Die Untersuchungsmethode der Kohlensäure-assimilation, die von LUNDEGÅRDH ausgearbeitet ist und in seinem Laboratorium angewandt wird, lenkt in immer höherem Grade die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich.

Unter den in letzter Zeit veröffentlichten, diesem Thema gewidmeten Arbeiten ist die Abhandlung von MAXIMOW und KRASNOSSELSKY-MAXIMOW (5) von Interesse, die den Versuch unternommen haben, sich dieser Methode zur Erforschung des Verlaufs der Photosynthese unter natürlichen Bedingungen und an Blättern, die an der Pflanze festsitzen, zu bedienen. Die erwähnten Verfasser haben hierbei bedeutsame Ergebnisse erhalten, die — falls sie sich bestätigten — eine ganz eigenartige Vorstellung von dem „normalen“ Verlauf der Photosynthese geben würden. Nach der Ansicht von MAXIMOW verläuft die Photosynthese unter natürlichen Bedingungen nicht gleichmäßig, sondern in ausgesprochenen Sprüngen: in kurzer Zeitspanne von 4—7 Minuten fällt sie bald bis auf Null, bald steigt sie plötzlich. Diese Schwankungen erreichen im Durchschnitt 20—50% und übersteigen in einzelnen Fällen sogar 100%! Dies alles ist von Bedeutung nicht nur für die Erkenntnis des Wesens der Photosynthese selbst, sondern auch für die Ausarbeitung der Methodik zur Erforschung dieses Vorganges.

Zu Beginn meiner Beschäftigung mit der Photosynthese im Laboratorium des Prof. LUNDEGÅRDH, richtete ich auf seine Veranlassung be-

sondere Aufmerksamkeit auf die Nachprüfung der von den obengenannten Forschern veröffentlichten Angaben.

Der Zweck vorliegender Abhandlung ist es, die von mir erzielten Ergebnisse vorzulegen und die Frage zu beantworten zu versuchen, ob der Verlauf der Photosynthese tatsächlich einen derartigen Charakter besitzt, wie MAXIMOW und KRASNOSELSKY-MAXIMOW angeben.

Bei meinen Arbeiten benutzte ich diejenige Apparatur zur Erforschung der Assimilation im Laboratorium des Prof. LUNDEGÄRDH, die er in einer Reihe seiner Arbeiten (1—4) beschrieben hat. Wir müssen hier erwähnen, daß die LUNDEGÄRDHSche Apparatur die Möglichkeit bietet, mit großer Bequemlichkeit und vollkommener Genauigkeit die Beobachtungen vorzunehmen und die Konstanz der Außenfaktoren zu erhalten.

Die Apparatur setzt sich aus folgenden Teilen zusammen: 1. Glockenapparat, 2. die geschlossene, mit dem ersten durch eine Ableitungsröhre verbundene Spiegelglasküvette für die Aufnahme der assimilierenden Blätter, 3. Wasserwanne zur Aufnahme der Küvette, die die Erhaltung einer beliebigen konstanten Temperatur ermöglicht, 4. elektrische Lampe als Lichtquelle (die von mir benutzte Lichtstärke belief sich auf 32000 M.K.), 5. Glockenapparat größeren Umfanges zum Aufbewahren der bei der Assimilation verwendeten Luft; vor jedem Experiment wurde dieser Behälter nicht mit Zimmerluft, sondern mit freier Luft, die einen „normalen“ CO_2 -Gehalt aufwies, gefüllt.

MAXIMOW und KRASNOSELSKY-MAXIMOW äußern in ihrer Beschreibung der Arbeitsmethoden, daß der Apparat LUNDEGÄRDHS große Erfahrung und Aufmerksamkeit beansprucht und oft „Launen“ zeigt. Diese Äußerung wird verständlich, wenn man die unbedeutende Menge CO_2 berücksichtigt, die in Betracht kommt, namentlich bei der geringen Ausdehnung der assimilierenden Fläche; andererseits haben diese „Launen“ häufig ihre Ursache in den Umgebungsbedingungen. So genügt es schon, wenn der Experimentator, der selbst eine unerschöpfliche CO_2 -Quelle darstellt, nicht genügend vorsichtig ist, um die Ergebnisse des Versuchs zu verändern. Bei den Arbeiten im Laboratorium kann auch häufig die Luft, die manchmal einen bedeutenden Kohlensäuregehalt hat, die Ursache von Fehlern sein. Es ist hier angebracht, einige Zahlen anzuführen, die den Gehalt einerseits der freien Luft, andererseits der Laboratoriumsluft an CO_2 anzeigen, und welche die oben ausgesprochene Ansicht bestärken, daß es im Assimilationsversuch einen großen Unterschied macht, ob freie Luft, d. h. solche mit normalem CO_2 -Gehalt, oder nur Laboratoriumsluft zur Verfügung stehen (Tabelle 1).

Wir waren, alles oben erwähnte in Betracht ziehend, uns von vornherein der Schwierigkeiten bewußt und hielten es für angebracht, bevor wir an die Erforschung des uns interessierenden Problems herantreten, eine hinreichende Anzahl von Versuchen anzustellen.

Tabelle 1.

CO ₂ -Gehalt der Laboratoriumsluft			CO ₂ -Gehalt der freien Luft		
Nr. des Versuchs	Datum	CO ₂ auf 1 l in mg	Nr. des Versuchs	Datum	CO ₂ auf 1 l in mg
15	15. X. 1928	0,650	64	8. XI. 1928	0,631
18	16. X.	0,708	69	9. XI.	0,649
22	20. X.	0,742	72	10. XI.	0,625
26	22. X.	0,804	77	12. XI.	0,567
29	23. X.	0,767	99	20. XI.	0,564
37	27. X.	0,889	107	22. XI.	0,598
38	29. X.	1,062	111	23. XI.	0,571
40	30. X.	0,949	115	24. XI.	0,551
50	2. XI.	1,172	121	26. XI.	0,561
52	3. XI.	1,273	187	17. XII.	0,559

Diese Versuche wurden mit zwei schwedischen Gerstensorten — „Vegakorn“ und „Gullkorn“ — und Bohnen unternommen. Die Blätter wurden vor dem Versuch abgeschnitten. Ich glaubte nämlich, daß, wenn bei Konstanz der Bedingungen so bedeutende Schwankungen der Photosynthese innerhalb kurzer Zeitfristen bei nicht abgeschnittenen Blättern vorhanden wären, solche Schwankungen unfehlbar auch bei abgeschnittenen lebenden Blättern festzustellen sein müßten. Und erst die abgeschnittenen Blätter ermöglichen es, die Beobachtungen mit möglicher Genauigkeit und bei hinreichender Konstanz der Außenfaktoren vorzunehmen, was für die Feststellung der Kohlensäureassimilation in kurzen Zeitfristen als besonders notwendig und wichtig erscheint.

Die Untersuchungen wurden in den Herbst- und Wintermonaten 1928/29 vorgenommen. Die Pflanzen wurden in gewöhnlichen Blumentöpfen aufgezogen; in den Herbstmonaten auf der glasgeschützten Veranda des Laboratoriums für Pflanzenphysiologie, in den Wintermonaten in großen Thermostaten bei der konstanten Temperatur von 12° C und 25° C und bei elektrischer Beleuchtung mit 10000 M.K. Die Beleuchtung erfolgte in Zeiträumen von 9—12 Stunden, die übrige Zeit erhielten die Pflanzen ganz unbedeutende Mengen Licht. In den Herbstmonaten bei vorherrschend trübem Wetter bleiben die Spaltöffnungen der Pflanzen in der Regel geschlossen, oder sie öffnen sich nur in ganz geringem Maße. Den im Thermostat befindlichen Pflanzen wurde die Lichtzufuhr 6—7 Stunden vor dem Beginn der Versuche entzogen, so daß ihre Spaltöffnungen vor dem Versuch ebenfalls geschlossen waren. Dieser Umstand brachte den Vorzug mit sich, daß wir es in unseren Versuchen mit hinreichend „hungrigen“ Pflanzen zu tun hatten. Um vor dem Versuch die Spaltöffnungen zu öffnen, wurden die abgeschnittenen Blätter in einer feuchten Kammer elektrischer Beleuchtung ausgesetzt, wobei volle Öff-

nung innerhalb von 40—50 Minuten erreicht wurde. Der Öffnungsgrad¹ der Spaltöffnungen wurde nach jedem Versuch mit Hilfe der Infiltrationsmethode (Azeton) festgestellt; ein Teil des Versuchsmaterials wurde schon vor dem Versuch mit Azeton behandelt, um den Anfangszustand der Stomata zu kontrollieren.

Bei den Versuchen mit Gerste nahm ich, um die Assimilationsfläche zu vergrößern, an Stelle eines Blattes deren drei oder vier, aber unbedingt Blätter gleichen Alters und gleicher Ordnung. Die Bohnenblätter wurden infolge ihres größeren Umfangs einzeln verwendet.

Es seien hier nur einige Protokolle von den Versuchen angeführt, um diese Abhandlung nicht mit Tatsachenmaterial zu überlasten. Zur besseren Vergleichsmöglichkeit mit den von MAXIMOW und KRASNOSSELSKY-MAXIMOW erzielten Ergebnissen, geben wir die Befunde unserer Versuche in der gleichen Berechnungsart wie die genannten Forscher, d. h. wir unterlassen es gleichfalls, die Quantität der von den Blättern assimilierten CO₂ auf die doppelte Blattfläche zu beziehen. Die Bestimmungen jedes Versuches wurden in einer Folge ausgeführt.

Versuch Nr. 99 (20. XI. 1928): Für den Versuch wurden vier Blätter „Gullkorn“ genommen. Der Öffnungsgrad¹ der Spaltöffnungen vor und nach dem Versuch $\frac{1}{5}$. Temperatur 12° C, Schwankungen $\pm 0,3^{\circ}$, CO₂-Gehalt der Luft = 0,567 mg in 1 Liter.

Glockenapparat Nr.	IV	XII	IX	XIII	Durchschnitt	Abweichungen vom Durchschn.	Dasselbe in %
Zerlegt CO ₂ in mg	1,744	1,027	1,760	1,698	1,557	+ 0,203 - 0,530	+ 13 - 34
Die Dauer der einzelnen Feststellungen in Sekunden	454	387	450	443	433	+ 21 - 46	+ 4 - 10

Versuch Nr. 106: Für den Versuch wurden drei Blätter „Vegakorn“ genommen. Der Öffnungsgrad der Spaltöffnungen vor und nach dem Versuch $\frac{1}{2}$, Temperatur 20° C. Temperaturschwankungen $\pm 0,2$, CO₂-Gehalt der Luft = 0,561 mg im Liter.

Glockenapparat Nr.	IV	XII	IX	XIII	Durchschnitt	Abweichungen vom Durchschn.	Dasselbe in %
Zerlegt CO ₂ in mg	1,634	1,189	1,135	1,172	1,282	+ 0,352 - 0,147	+ 27 - 11
Dauer in Sekunden	436	432	438	439	436	+ 3 - 4	— —

¹ Der Öffnungsgrad wird als Bruchteile der Blattfläche, die infiltriert werden, angegeben. $\frac{1}{1}$ bedeutet also vollständige Infiltration; $\frac{1}{5}$ bedeutet, daß nur ein Fünftel der Fläche infiltriert wird.

Versuch Nr. 107 (22. XI. 1928): „Gulkorn“, drei Blätter, Temperatur 31° C, $\pm 0,2^\circ$, Stomata $\frac{2}{3}$. CO₂ = 0,598 mg.

Glockenapparat Nr.	IV	XII	IX	XIII	Durchschnitt	Abweichungen vom Durchschn.	Dasselbe in %
Zerlegt CO ₂ in mg	1,835	1,408	1,429	1,575	1,561	+ 0,274 - 0,153	+ 17 - 9
Dauer in Sekunden	453	450	457	465	456	+ 9 - 6	+ 2 - 1

Versuch Nr. 139 (2. XII. 1928): „Vegakorn“, drei Blätter, Temperatur 7° C, $\pm 0,2^\circ$, Stomata $\frac{2}{3}$. CO₂ = 0,694 mg.

Glockenapparat Nr.	IV	XII	IX	XIII	Durchschnitt	Abweichungen vom Durchschn.	Dasselbe in %
Zerlegt CO ₂ in mg	1,670	2,003	2,101	2,133	1,976	+ 0,157 - 0,307	+ 7 - 15
Dauer in Sekunden	237	247	245	232	237	+ 10 - 5	+ 4 - 2

Die angeführten Versuche bestätigen anscheinend die von MAXIMOW und KRASNOSSELSKY-MAXIMOW erzielten Ergebnisse und weisen ebenfalls Sprünge in der Assimilation auf; zwar zeigen unsere Versuche keine so bedeutenden Abweichungen vom Durchschnitt, wie die Versuche der genannten Forscher, aber dennoch lassen sich auch bei uns — wie aus obigen Tabellen ersichtlich — Schwankungen von 7—34% feststellen. Doch muß schon hier darauf hingewiesen werden, daß wir von vier Versuchen mit vier Apparaten für gewöhnlich nur in *einem* Apparat eine größere Schwankung nach oben oder unten feststellen konnten, während die drei anderen Apparate bemerkenswert konstante Werte aufwiesen. Würde diese sprunghafte Schwankung nicht auf einem Versuchsfehler beruhen können?

In der Tat erzielten wir verhältnismäßig wenige Ergebnisse gleich den obenerwähnten; die meisten unserer Versuche trugen folgenden Charakter:

Versuch Nr. 111 (23. XI. 1928): Zum Versuch wurden drei Blätter „Vegakorn“ genommen. Der Öffnungsgrad der Spaltöffnungen vor und nach dem Versuch $\frac{2}{3}$, Temperatur 31° C, $\pm 0,2^\circ$, CO₂-Gehalt der Luft = 0,571 mg im Liter.

Glockenapparat Nr.	XII	IV	XIII	IX	Durchschnitt	Abweichungen vom Durchschn.	Dasselbe in %
Zerlegt CO ₂ in mg	1,519	1,721	1,401	1,529	1,520	+ 0,192 - 0,128	+ 12 - 8
Dauer in Sekunden	430	437	438	453	439	+ 14 - 9	+ 3 - 2

Versuch Nr. 115 (24. XI. 1928): „Vegakorn“, drei Blätter, Stomata $\frac{1}{2}$, Temperatur 30°C , $\pm 0,2^{\circ}$. $\text{CO}_2 = 0,551$ mg im Liter.

Glockenapparat Nr.	VI	VIII	IX	XIII	Durchschnitt	Abweichungen vom Durchschn.	Dasselbe in %
Zerlegt CO_2 in mg	1,377	1,287	1,485	1,185	1,333	+0,158 -0,148	+12 -11
Dauer in Sekunden	496	600	533	503	533	+67 -37	+10 -6

Versuch Nr. 127 (29. XI. 1928): „Gullkorn“, drei Blätter, Stomata $\frac{3}{5}$, Temperatur 31°C , $\pm 0,2^{\circ}$. $\text{CO}_2 = 0,563$ mg im Liter.

Glockenapparat Nr.	IV	XII	IX	XIII	Durchschnitt	Abweichungen vom Durchschn.	Dasselbe in %
Zerlegt CO_2 in mg	2,039	2,142	2,134	2,253	2,142	+0,111 -0,103	+5 -4
Dauer in Sekunden	311	268	260	290	282	+29 -22	+10 -9

Versuch Nr. 131 (30. XI. 1928): vier Blätter „Vegakorn“, Stomata $\frac{3}{5}$, Temperatur 12°C , $\pm 0,3^{\circ}$. $\text{CO}_2 = 0,606$ mg im Liter.

Glockenapparat Nr.	IV	XII	IX	XIII	Durchschnitt	Abweichungen vom Durchschn.	Dasselbe in %
Zerlegt CO_2 in mg	2,370	2,416	2,513	2,372	2,417	+0,096 -0,047	+4 -2
Dauer in Sekunden	284	262	260	265	267	+17 -7	+6 -2

Versuch Nr. 135 (1. XII. 1928): vier Blätter „Gullkorn“. Vor dem Versuch Stomata = $\frac{4}{5}$, nach dem Versuch = $\frac{2}{5}$; Temperatur 12°C , $\pm 0,2^{\circ}$ $\text{CO}_2 = 0,603$ mg im Liter.

Glockenapparat Nr.	IV	XII	IX	XIII	Durchschnitt	Abweichungen vom Durchschn.	Dasselbe in %
Zerlegt CO_2 in mg	2,041	2,143	2,146	2,121	2,112	+0,034 -0,071	+1 -3
Dauer in Sekunden	310	277	278	270	283	+27 -13	+9 -4

Hier steigt, wie aus dem angeführten Zahlenmaterial ersichtlich ist, die Abweichung vom Durchschnitt auf höchstens 12%, und sie kann sogar bis auf 1—2% sinken.

Im Anschluß an diese Ergebnisse sei erwähnt, daß in diesen Versuchen die Größe der Abweichungen von der Durchschnittsdauer des Versuchs mit der Größe der Abweichungen der Assimilation übereinstimmt oder sie übertrifft, was von bemerkenswerter Proportionalität zwischen der Quantität der aufgesogenen CO₂ und der Versuchsdauer zeugt. Man könnte hier einwenden, daß unsere Versuche ein Ausgleichungsverfahren darstellen, da wir 3—4 Blätter nehmen, bei denen — wie man meinen könnte — die zeitlichen Phasen des Assimilationsvorganges nicht zusammenzufallen brauchen. Doch läßt sich schwerlich einem solchen Einwand eine ernste Bedeutung zulegen. Es ist überhaupt schwer, sich die Möglichkeit einer solchen Ausgleichung bei der Verwendung von nur 3—4 Blättern zu denken. Wir halten es dennoch für angebracht, einige Versuche mit einem einzigen Blatt (Bohnenblätter) anzuführen.

Versuch Nr. 3 (18. II. 1929): Zum Versuch wurde ein Bohnenblättchen genommen. Die Stomata vor und nach dem Versuch ⁷/₁₀. Versuchstemperatur 21° C, ± 0,7°. CO₂-Gehalt der Luft = 0,842 mg.

Glockenapparat Nr.	XII	XIII	VIII	VI	Durchschnitt	Abweichungen vom Durchschn.	Dasselbe in %
CO ₂ Zerlegt in mg	1,496	2,256	1,581	1,865	1,792	+ 0,464 - 0,323	+ 25 - 18
Die Dauer der einzelnen Feststellungen in Sek.	283	290	313	350	311	+ 39 - 28	+ 12 - 3

Versuch Nr. 5 (20. II. 1929): 1 Bohnenblatt, Stomata vor und nach dem Versuch ⁶/₁₀. Temperatur 21° C, ± 0,4°. CO₂-Gehalt der Luft = 0,586 mg.

Glockenapparat Nr.	VI	VIII	XII	XIII	Durchschnitt	Abweichungen vom Durchschn.	Dasselbe in %
CO ₂ Zerlegt in mg	1,395	1,448	1,370	1,709	1,480	+ 0,228 - 0,110	+ 14 - 7
Dauer in Sekunden	253	246	260	278	259	+ 19 - 13	+ 7 - 5

Wie die Zahlen zeigen, sind die Ergebnisse die gleichen wie oben. Die Frage, ob der Verlauf der Photosynthese sprunghafte Schwankungen aufweise, muß also, wie es scheint, verneint werden. Wir gehen noch weiter und behaupten, daß MAXIMOW und KRASNOSELSKY-MAXIMOW aus unzureichenden Gründen ihre Schlußfolgerung gezogen haben.

Wir wollen diese Behauptung etwas ausführlicher begründen.

Die genannten Forscher sagen in ihrer Abhandlung, daß sie bei sämtlichen Versuchen niemals einen Verlauf der Photosynthese ohne sprunghafte

artige Schwankungen beobachtet hätten, und daß diese Schwankungen, wie wir bereits erwähnten, durchschnittlich sich auf etwa 25—50% belaufen, welcher Prozentsatz angeblich die Grenze eines Versuchsfehlers überschreiten soll. Nach den von den erwähnten Forschern vorgenommenen Bestimmungen des CO_2 -Gehaltes der Luft (die Proben wurden während 4 Minuten durch einen leeren Behälter gezogen) wurde eine Abweichung vom Durchschnitt bis zu 4,4% erhalten. Diese Schlußfolgerung und der ihr zugrunde liegende Vergleich zwischen den Variationen der Assimilationswerte und der CO_2 -Gehaltswerte ist aber falsch.

Zunächst wollen wir die Grenzen eines möglichen Versuchsfehlers erörtern.

Da man bei dem Studium der Photosynthese in kurzen Zeitintervallen mit Hilfe des Glockenapparates gezwungen ist, mehrere Apparate parallel zu benutzen, so versteht es sich wohl von selbst, daß man vor Beginn der Versuche feststellen muß, inwieweit die Befunde in den einzelnen Apparaten übereinstimmen, d. h. man soll die Fehlergrenzen für jeden einzelnen Apparat feststellen. Ein Glockenapparat, der große Abweichungen aufweist, muß entweder ausgemerzt werden, oder man muß die Ursache der Abweichung feststellen und den Fehler abstellen.

Wie es sich nun bei den genannten Forschern mit der Übereinstimmung der einzelnen Apparate verhielt, ersieht man aus den folgenden Zahlen, die ihrer Arbeit entnommen sind. Sie verfügten über acht Glockenapparate, welche mit Luft gefüllt wurden, die vorher durch ein leeres Assimilationsgefäß hindurch geleitet war.

Versuch I: 0,535, 0,539, 0,553, 0,522, 0,550, 0,546, 0,535, 0,561 mg
Durchschnitt: 0,542 mg, maximale Abweichung 0,019 (3,5%), 0,020 (3,7%).

Versuch II: 0,530, 0,530, 0,500, 0,530, 0,539, 0,513, 0,530, 0,515 mg
Durchschnitt: 0,523 mg, maximale Abweichung 0,016 (3,1%), 0,023 (4,4%).

Da die Aufnahme der Luftprobe in sämtliche Apparate nicht länger als 4 Minuten dauerte, so kann man selbstverständlich diese Schwankungen keineswegs aus der Veränderung im CO_2 -Gehalt der umgebenden Luft erklären, sondern muß sie in vollem Umfange der fehlerhaften Arbeit einzelner Apparate zuschreiben.

Eine Abweichung vom Durchschnitt, die 3,1—4,4% beträgt, muß schon als recht ansehnlich betrachtet werden.

Wie die Übereinstimmung zwischen den einzelnen Apparaten sein muß, hierüber können uns vor allem die Belege des Erfinders dieser Methode (LUNDEGÅRDH 1) aufklären. Bei der Schilderung seiner Methode führt er eine Reihe von Werten an, die eine Vorstellung von den Grenzen der Übereinstimmung zweier Apparate geben. In einem Versuch führt er sieben paarweise Feststellungen des CO_2 -Gehaltes der Luft an, wobei der Unterschied zwischen zwei Apparaten 1,9% nicht übersteigt. Dabei ist dies keine Abweichung vom Durchschnitt zwischen zwei Größen,

sondern eine Abweichung von der ersten Feststellung, d. h. also eine Maximalabweichung. In einem anderen Versuch, wobei 13 paarweise Feststellungen angeführt wurden, wiederholten sich die gleichen Ergebnisse. Von 13 Doppelbestimmungen ergab nur ein Paar eine bedeutende Maximalabweichung von 5,3%. Von den übrigen wiesen sieben einen Unterschied von weniger als 1%, fünf mehr als 1%, aber nicht mehr als 2,4% auf.

Um die Beurteilung der Grenzen der Genauigkeit der von uns und von MAXIMOW und KRASNOSSELSKY-MAXIMOW vorgenommenen Versuche zu ermöglichen, seien hier einige von mir ausgeführte Bestimmungen des CO₂-Gehaltes der Luft mitgeteilt, wobei die Probe in 4—5 Minuten in die verschiedenen Glockenapparate eingesogen wurde.

Versuch Nr. 1 (30. XI. 1928): Die Luft wurde durch die leere Assimilationskuvette hindurchgelassen. Blindtiter Ba(OH)₂ = 17,60 ccm HCl 1/40 n.

Tabelle 2.

Nr. des Glockenapparats	Titer Ba(OH) ₂ cc	CO ₂ in mg auf 1 Liter	Abweichung von der ersten Feststellung	Idem in %	Durchschnittsgehalt an CO ₂ in mg	Abweichung vom Durchschnitt	Idem in %
IV	14,88	0,561				+0,002	+0,3
VI	14,85	0,567	-0,006	1	0,563	-0,004	-0,6
IX	14,88	0,561					

Versuch Nr. 2 (27. XI. 1928): Die Bedingungen dieselben. Blindtiter Ba(OH)₂ = 16,50 ccm.

Tabelle 3.

Nr. des Glockenapparats	Titer Ba(OH) ₂ cc	CO ₂ in mg auf 1 Liter	Abweichung von der ersten Feststellung	Idem in %	Durchschnittsgehalt an CO ₂ in mg	Abweichung vom Durchschnitt	Idem in %
VI	14,27	0,451				+0,005	+1
VIII	14,27	0,451	0,009	2	0,455	-0,004	-0,8
IV	14,31	0,460					
XII	14,31	0,460					

Versuch Nr. 3 (27. XII. 1928): Die Bedingungen sind dieselben. Blindtiter Ba(OH)₂ = 17,42 ccm.

Tabelle 4.

Nr. des Glockenapparats	Titer Ba(OH) ₂ cc	CO ₂ in mg auf 1 Liter	Abweichung von der ersten Feststellung	Idem in %	Durchschnittsgehalt an CO ₂ in mg	Abweichung vom Durchschnitt	Idem in %
VI	14,78	0,544				+0,007	+1,3
VIII	14,79	0,542					
IV	14,80	0,540	0,020	3,6	0,537		
XII	14,80	0,540				-0,013	-2,5
IX	14,88	0,524					
XIII	14,84	0,532					

Aus dem angeführten Zahlenmaterial ersieht man, daß in unseren Versuchen die Abweichung vom Durchschnitt bei der Feststellung des CO_2 -Gehalts der Luft (ohne assimilierende Blätter) bedeutend geringer ist, als bei MAXIMOW und KRASNOSSELSKY-MAXIMOW, was mit anderen Worten bedeutet, daß die Übereinstimmung der einzelnen Glockenapparate bei uns eine weit bessere ist. Ich bin der Ansicht, daß die Abweichung vom Durchschnitt 2% nicht übersteigen darf; andernfalls laufen wir die Gefahr, daß bei der Feststellung der von den Blättern aufgesogenen CO_2 -Menge, die Unterschiede zu nahe an dieser Fehlergrenze zu liegen kommen, wie es tatsächlich bei den erwähnten Forschern der Fall war.

Ihre Schlußfolgerung, „beim Durchsaugen der Luft durch einen leeren Behälter übertrafen die Abweichungen nicht 3—5%, dagegen beim Durchströmen durch einen Behälter mit Blatt betrug diese Abweichungen 25—50% und auch mehr“, beruht auf ein Mißverständnis. So unvermittelt darf man diese beiden Größenreihen nicht vergleichen, da der verhältnismäßig unbedeutende Prozentsatz der erstgenannten Größe in der Tat den recht beträchtlichen der zweiten entspricht. Zur Erklärung mag folgendes Beispiel dienen.

Wir nehmen an, daß wir acht Glockenapparate haben. In vier von diesen leiten wir durch eine leere Küvette freie Luft, während wir in die übrigen vier Luft einführen, die durch eine Küvette mit assimilierenden Blättern hindurch gesaugt wurde. In jedem Apparat dauert die Einführung der Luft 5 Minuten. Nehmen wir ferner an, daß wir einem Titer der Barytlösung von 18,00 ccm HCl 1/40 n haben, so erhalten wir für die ersten vier Apparate (Luftproben) folgende Titerzahlen.

	I. Glocke 15,25	II. Glocke 15,40	III. Glocke 15,30	IV. Glocke 15,35
Der Unterschied von dem Blindtiter ist gleich }	2,75 cc	2,60	2,70	2,65
Was dem CO_2 -Gehalt der Luft in Milligramm auf 1 Liter entspricht }	0,567	0,536	0,557	0,546

Hier beläuft sich die größte Abweichung auf 0,031 mg oder im Verhältnis zum größten Wert 5,5%. Der Durchschnittsgehalt an CO_2 ist 0,551 mg pro Liter. Die größten Abweichungen vom Durchschnitt betragen demnach:

$$+ 0,016 \text{ oder } + 2,9\%,$$

$$- 0,015 \text{ oder } - 2,7\%.$$

Nun titrieren wir das Baryt aus den vier Apparaten mit Assimilationsproben.

Wir nehmen an, daß auch in diesen Apparaten die Schwankungen des Titors sich innerhalb der gleichen Grenzen halten, wie in den ersten vier Glocken. Da in diesem zweiten Falle ein Teil der Kohlensäure der Luft von den Blättern aufgesogen wurde, so wird etwas mehr HCl verbraucht und zwar z. B.:

Glocke Nr. V — 15,40; Nr. VI — 15,45; Nr. VII — 15,55;
Nr. VIII — 15,50.

Um die Menge der aufgesogenen CO_2 zu berechnen, müssen wir offenbar den Durchschnittstiter der ersten vier Apparate nehmen. In unserem Beispiel beläuft er sich auf 15,32 ccm. Die Menge der von den Blättern aufgesogenen CO_2 beträgt demnach:

Glocke Nr. V — 0,528; Nr. VI — 0,858; Nr. VII — 1,518;
Nr. VIII — 1,188 mg.

Der Durchschnitt = 1,023 mg.

Die Abweichung vom Durchschnitt beläuft sich demnach auf: $\pm 0,495$ mg oder 48%. Ungefähr den gleichen Verhältnissen begegnen wir aber bei MAXIMOW und KRASNOSSELSKY-MAXIMOW. Aus dem angeführten Beispiel ersieht man deutlich, worauf der Irrtum der genannten Forscher beruht. Und es ist nicht erstaunlich, daß sie so hohe Schwankungen im Verlauf der Photosynthese innerhalb kurzer Zeitfristen erhielten.

Was nun jene Versuche von MAXIMOW und KRASNOSSELSKY-MAXIMOW anbetrifft, bei denen sie Schwankungen von 100% und darüber erzielten, so ist ihre Richtigkeit zu bezweifeln. Und in der Tat, womit könnte man so jähe Schwankungen im Verlauf der Photosynthese im Laufe von 4—7 Minuten erklären? Zwar betonen auch die genannten Forscher, daß diese Schwankungen ihnen nicht ganz klar sind, doch schlagen sie dennoch einige Erklärungen vor: 1. Die Photosynthese vollzieht sich in jeder Zelle sprungweise; infolge von Anhäufung der Assimilationsprodukte treten zeitweise Hemmungen ein, die nach dem Ableiten der Assimilate von einer Beschleunigung der Photosynthese gefolgt werden. 2. Die Photosynthese ist ein verwickelter Vorgang mit vielen Phasen, die nicht koordiniert sind, welcher Umstand die zeitweilige Verlangsamung und Beschleunigung des Vorganges bedingen könnte. 3. Endlich könnten rhythmische Bewegungen der Spaltöffnungen die Schwankungen der Photosynthese verursachen.

Was die „inneren“ Ursachen anbetrifft, so ist es anscheinend das Los der biologischen Disziplinen, daß in den Fällen, in denen wir auf für uns unerklärliche Erscheinungen stoßen, der Versuch unternommen wird, solche Erscheinungen mit Hilfe von dunklen „inneren“ Ursachen zu erklären. Es wird häufig außer acht gelassen, daß wir noch viel zu wenig über die von Außenfaktoren unabhängigen Innenfaktoren wissen.

Was den Einfluß der Anhäufung von Assimilationsprodukten anbelangt, so müßte eine energische Anhäufung vor allen Dingen mit der Intensität der Außenfaktoren (CO_2 , Licht usw.) korrelativ verknüpft sein, derart, daß man nach hohen Assimilationszahlen stets ein Sinken finden würde. Diese ist aber aus den Versuchen der beiden Forscher nicht zu ersehen. Es kann nicht bezweifelt werden, daß die Photosynthese ein komplizierter Vorgang ist, doch haben MAXIMOW und KRASNOSELSKY-MAXIMOW einen Normalvorgang unter normalen Bedingungen beobachtet; würde die zweite Möglichkeit zu recht bestehen, so müßte man annehmen, daß das Fehlen einer Koordination der einzelnen Phasen der Photosynthese eine normale Erscheinung wäre. Sehr wahrscheinlich erscheint mir eine solche Annahme nicht.

Weit wesentlicher ist dagegen der Hinweis der Autoren auf die Bewegung der Spaltöffnungen als eine mögliche Ursache der Schwankungen der Photosynthese. Es sind in der Tat in der letzten Zeit eine Reihe von Beobachtungen von rhythmischen Bewegungen der Spaltöffnung bekannt geworden. Vor allem sei hier auf die dieses Thema behandelnden wichtigen Arbeiten von STÄLFELT (6—8) hingewiesen, der den Beweis erbracht hat, daß die Spaltöffnungen im Laufe des Tages regelmäßig und rhythmisch ihre Öffnungen abwechselnd zusammenziehen und erweitern. Inwieweit jedoch die von STÄLFELT beobachtete verhältnismäßig unbedeutende Kontraktion der Stomata auf die Diffusion der Kohlensäure Einfluß haben kann, wissen wir vorläufig noch nicht. Bei den Versuchen der beiden oben erwähnten Forscher, bei denen sie Schwankungen bis zu 100% erhielten, würde es sich wohl nicht nur um eine Öffnungsminderung der Spaltöffnungen, sondern um ihr völliges Schließen handeln, und zwar nicht nur von einzelnen, sondern von sämtlichen Öffnungen. Es ist kaum anzunehmen, daß die vollständige Schließbewegung innerhalb so kurzer Zeit wie 4 Minuten vollzogen wird. Es scheint uns nicht überflüssig, an dieser Stelle unsere Beobachtungen über die Schnelligkeit des Schließens der Spaltöffnungen an unseren Pflanzen unter dem Einfluß von verschiedenen Außenfaktoren anzuführen.

Der Einfluß der Beschattung.

Vor dem Versuch wurde die volle Öffnung der Stomata der abgeschnittenen Blätter dadurch erzielt, daß man die Blätter in einer feuchten Kammer genügend lange, jedoch nicht länger als 50 Minuten bis 1 Stunde belichtete. Die Intensität des Lichts überstieg dabei in der Regel nicht 300—400 M.K. Die Temperatur des Wasserbades wurde langsam von 10—12° C bis auf 25—30° gesteigert.

Der Öffnungsgrad der Spaltöffnungen wurde auf dem Wege der Infiltrationsmethode mit Azeton festgestellt.

Es folgen hier einige Belege:

Versuch Nr. 1 (14. I. 1929): Blätter von „Vegakorn“ bei 12° aufgezogen.

Die Spaltöffnungen vor der Beschattung		Nach der Beschattung im Lauf von 15 Minuten	
Nr. der Blätter	Öffnungsgrad	Nr. der Blätter	Öffnungsgrad
1	8/10	1a	8/10
2	9/10	2a	8/10
3	1/1	3a	9/10
4	1/1	4a	8/10
5	9/10	5a	9/10

Versuch Nr. 3 (15. I. 1929): „Vegakorn“.

Vor der Beschattung		Nach der Beschattung im Lauf von 80 Minuten	
Nr. der Blätter	Öffnungsgrad	Nr. der Blätter	Öffnungsgrad
1	9/10	1a	9/10
2	9/10	2a	8/10
3	1/1	3a	7/10
4	1/1	4a	7/10
5	9/10	5a	8/10

Versuch Nr. 5 (18. I. 1929): Blätter von „Gullkorn“.

Die Spaltöffnungen vor der Beschattung		Nach der Beschattung im Lauf von 1 Stunde	
Nr. der Blätter	Öffnungsgrad	Nr. der Blätter	Öffnungsgrad
1	8/10	1a	6/10
2	8/10	2a	4/10
3	7/10	3a	4/10
4	7/10	4a	3/10
5	7/10	5a	4/10

Versuch Nr. 6 (21. I. 1929): „Gullkorn“.

Vor der Beschattung		Nach der Beschattung im Lauf von 1 Stunde	
Nr. der Blätter	Öffnungsgrad	Nr. der Blätter	Öffnungsgrad
1	9/10	1a	8/10
2	9/10	2a	7/10
3	1/1	3a	8/10
4	1/1	4a	7/10
5	9/10	5a	8/10

Die Ergebnisse der Versuche beweisen, daß die Spaltöffnungen, nachdem sie sich einmal unter den Bedingungen maximaler Feuchtigkeit, günstiger Temperatur und genügender Beleuchtung geöffnet haben, bei der Ausschaltung eines wichtigsten Faktoren, und zwar des Lichts, im

Laufe von 1 Stunde fast in dem gleichen Zustand verbleiben, wie vor der Beschattung (vgl. STÄLFELT).

Von der *Schnelligkeit des Öffnens* der Stomata bei einer Beleuchtung von 32000 M.K., handeln folgende Protokollauszüge.

Versuch Nr. 2 (23. I. 1929): Blätter von „Gullkorn“ und „Vegakorn“ bei 25° im Thermostat aufgezogen. Öffnen sich bei einer Lichtintensität von 32 000 M.K. und 15° C.

Öffnungsgrad vor dem Versuch			Öffnungsgrad nach Beleuchtung im Lauf von 5 Minuten		
Nr. der Blätter	Vegakorn	Gullkorn	Nr. der Blätter	Vegakorn	Gullkorn
1	1/10	1/20	1a	1/10	1/10
2	1/20	1/20	2a	1/5	1/10
3	1/20	1/30	3a	1/5	1/10
4	1/10	1/20	4a	1/5	1/5
5	1/20	1/20	5a	1/10	1/5

Versuch Nr 3 (25. I. 1929): Blätter von „Gullkorn“ im Thermostat bei 10° C aufgezogen. Öffnen sich bei einer Lichtintensität von 32 000 M.K. und 18,5° C.

Öffnungsgrad vor dem Versuch		Öffnungsgrad nach Beleuchtung im Lauf von 7 Minuten	
Nr. der Blätter	Gullkorn		
1	1/20	1a	1/20
2	1/20	2a	1/20
3	1/20	3a	1/50
4	1/20	4a	1/20
5	1/20	5a	1/20
6	1/20	6a	1/50

Wie das Zahlenmaterial beweist, genügen 5—7 Minuten bei einer Beleuchtung, die fast die Hälfte der vollen Sonnenbeleuchtung beträgt, nicht, um ein bemerkbares Öffnen zu veranlassen, und nur in jenen Fällen, wenn wir schon vor dem Versuch bereits etwas geöffnete Spaltöffnungen vor uns haben, öffnen sie sich nach dem Verlauf von 5 bis 10 Minuten noch etwas mehr. Wahrscheinlich haben wir im letzteren Falle einen Anfang der „motorischen Phase“ oder ein Ende der „Spannungsphase“ in der Terminologie STÄLFELTS (6, 7).

Der Einfluß von Temperaturveränderungen.

Das Öffnen der Spaltöffnungen vollzog sich auf dem gleichen Wege, wie in den vorhergehenden Versuchen.

Versuch Nr. 2 (23. I. 1929): Blätter des Gullkorns, aufgezogen bei 25—26° C (im Thermostaten).

Öffnungsgrad von dem Versuch 28° C		Nach dem Aufenthalt in heller Kammer bei 10° C im Verlauf von 20 Minuten	
Nr. der Blätter	Öffnungsgrad	Nr. der Blätter	Öffnungsgrad
1	1/1	1 a	1/1
2	1/1	2 a	9/10
3	1/1	3 a	1/1
4	9/10	4 a	9/10
5	9/10	5 a	1/1

Versuch Nr. 5 (28. I. 1929): Blätter des Vegakorns, aufgezogen bei 10° C.

Vor dem Versuch 32° C		Nach dem Aufenthalt bei 8° C in 15 Minuten	
Nr. der Blätter	Öffnungsgrad	Nr. der Blätter	Öffnungsgrad
1	9/10	1 a	9/10
2	9/10	2 a	8/10
3	9/10	3 a	8/10
4	1/1	4 a	7/10
5	1/1	5 a	7/10

Wie man sieht, übt auch ein jähes Sinken der Temperatur nach kurzer Zeitspanne keine nennenswerte Wirkung aus (vgl. auch STÄLFELT).

Einfluß von Wasserverlust.

Man könnte voraussetzen, daß die Blätter, die aus der feuchten Kammer in die verhältnismäßig trockene Luft des Laboratoriums kommen, bei dem raschen Wasserverlust ihre Spaltöffnungen viel schneller als sonst schließen würden. Unsere Versuche ergaben folgendes. Das Öffnen wurde auf der oben erwähnten Weise erzielt.

Ein Teil der Blätter wurden vor dem Versuch mit Azeton behandelt, die übrigen wurden der Reihe nach aus der feuchten Kammer genommen, das Schnittende des Blattes wurde rasch mit Vaseline bedeckt, worauf auf einer Torsionswaage gewogen wurde. In bestimmten Zeiträumen wurden die Blätter dann von neuem gewogen.

Versuch Nr. 1 (22. I. 1929): Blätter des „Gullkorns“, aufgezogen bei 25° C. Vor dem Versuch war der Öffnungszustand der Spaltöffnungen bei:

Blättern Nr. 1	1/1	Blättern Nr. 4	9/10
„ Nr. 2	1/1	„ Nr. 5	1/1
„ Nr. 3	9/10		
Blatt Nr. 1a: Anfangsgewicht in Milligramm	102		
Nach 5 Minuten	90		

Verlust 12 mg oder 11,7% des Anfangsgewichts. Die Spaltöffnungen sind nach 5 Minuten Verdunstung noch *vollständig geöffnet*.

Blatt Nr. 2 a Anfangsgewicht	80 mg
Nach 10 Minuten Verdunstung	68 „
	Verlust 12 mg oder 15%.

Öffnungsgrad = $\frac{8}{10}$.

Blatt Nr. 4 a Anfangsgewicht	96 mg
Nach 15 Minuten	70 „
	Verlust 26 mg oder 27%.

Öffnungsgrad = $\frac{7}{10}$.

Versuch Nr. 7 (23. I. 1929): „Gullkorn“, aufgezogen bei 25° C. Vor dem Versuch waren die Spaltöffnungen geöffnet bei:

Blätter Nr. 1	$\frac{1}{1}$	Blätter Nr. 3	$\frac{1}{1}$
„ Nr. 2	$\frac{9}{10}$	„ Nr. 4	$\frac{1}{1}$
Blatt Nr. 1 a: Anfangsgewicht	110 mg		
Nach 5 Minuten	88 „		
	Verlust 22 mg oder 20%.		

Öffnungsgrad = $\frac{9}{10}$.

Blatt Nr. 2 a: Anfangsgewicht	110 mg
Nach 10 Minuten	88 „
	Verlust 22 mg oder 20%.

Öffnungsgrad = $\frac{9}{10}$.

Blatt Nr. 3 a: Anfangsgewicht	98 mg
Nach 15 Minuten	68 „
	Verlust 30 mg oder 30,6%.

Öffnungsgrad = $\frac{7}{10}$.

Blatt Nr. 4 a: Anfangsgewicht	90 mg
Nach 20 Minuten.	54 „
	Verlust 36 mg oder 40%.

Öffnungsgrad = $\frac{7}{10}$.

Versuch Nr. 15 (25. I. 1929): Blätter des „Gullkorns“, aufgezogen bei 12° C. Die Spaltöffnungen vor dem Versuch:

Blätter Nr. 1	$\frac{5}{10}$	Blätter Nr. 3	$\frac{7}{10}$
„ Nr. 2	$\frac{6}{10}$	„ Nr. 4	$\frac{8}{10}$
Blatt Nr. 1 a: Anfangsgewicht	60 mg		
Nach 5 Minuten	53 „		
	Verlust 7 mg oder 11%.		

Öffnungsgrad = $\frac{3}{10}$.

Blatt Nr. 2 a: Anfangsgewicht	80 mg
Nach 5 Minuten	72 „
	Verlust 8 mg oder 10%.

Öffnungsgrad = $\frac{4}{10}$.

Blatt Nr. 3 a: Anfangsgewicht	75 mg
Nach 5 Minuten	69 „
	Verlust 6 mg oder 8%.

Öffnungsgrad = $\frac{2}{10}$.

Blatt Nr. 4 a: Anfangsgewicht	64 mg
Nach 5 Minuten	58 „
	Verlust 6 mg oder 3%.

Öffnungsgrad = $\frac{4}{10}$.

Unsere Versuche beweisen, daß der Spaltöffnungsapparat nicht so beweglich ist, daß er in Zeiträumen von 4—5 Minuten so schnelle Bewegungen ausführen kann, wie es MAXIMOW und KRASNOSSELSKY-MAXIMOW voraussetzen wollen.

Zusammenfassung.

1. Die Photosynthese erleidet, wenn sie sich bei konstanten äußeren Bedingungen und bei normalem CO₂-Gehalt vollzieht, im Verlauf von 20—30 Minuten keine nennenswerten Schwankungen, sondern hat einen gleichförmigen Verlauf.

2. Die bedeutenden Schwankungen im Verlauf der Photosynthese in Intervallen von 4—7 Minuten, die von MAXIMOW und KRASNOSSELSKY-MAXIMOW beobachtet wurden, müssen auf methodischen Fehlern beruhen.

3. Die Methode der Glockenapparate nach LUNDEGÄRDH ermöglicht eine äußerst genaue Berechnung kleiner Quantitäten der von den assimilierenden Blättern aufgenommenen Kohlensäure; doch muß man bei der Bestimmung der Assimilation in kurzen Zeitintervallen die praktischen Fehlergrenzen der einzelnen Apparate zuerst bestimmen und diesen unvermeidlichen Fehler mit in Rechnung ziehen.

4. Der Maximalfehler bei der Bestimmung des CO₂-Gehalts der Luft darf bei den einzelnen Apparaten 1—2% des Durchschnittsgehaltes eines Liters Luft nicht übersteigen, was bei kleinen Blattflächen und kurzen Zeitintervallen (4—7 Minuten) einer Fehlergrenze von 10—20% assimilierter Kohlensäure entsprechen kann.

5. Die Spaltöffnungen sind anscheinend nicht so schnell beweglich, daß infolge hiervon die Photosynthese in kurzen Zeitfristen (4—7 Minuten) nennenswerte Schwankungen erleiden dürfte, auch wenn die Außenfaktoren (Licht, Temperatur, Luftfeuchtigkeit) stark schwanken.

Zum Schluß halte ich es für eine angenehme Pflicht, meine innigste Dankbarkeit dem Herrn Prof. Dr. H. LUNDEGÄRDH auszudrücken, der mir die Möglichkeit gegeben hat, in seinem Laboratorium und unter seiner Leitung zu arbeiten.

Auch den Herren Assistenten H. EKSTRAND und H. BURSTRÖM, die mir bei meinen Arbeiten geholfen haben, sage ich meinen besten Dank.

Literatur.

1. Lundegårdh, Henrik: Neue Apparate zur Analyse des Kohlensäuregehaltes der Luft. *Biochem. Z.* 131, H. 1/2 (1922). — 2. Der Temperaturfaktor bei Kohlensäureassimilation und Atmung. *Biochem. Z.* 154, H. 3/6 (1924). — 3. Der Kreislauf der Kohlensäure in der Natur. Jena 1924. — 4. Kulturväxternas kolhydratbildning dess förhållande till avkastningen och beroende av klimatet och mark-

beskaffenheten. Medd. Nr. 331 från Centralanstalten för försöksväsendet på jordbruksområdet. Avd. för lantbruksbotanik Nr 43. Stockholm 1928. — 5. Maximow, N. A. und Krasnosselsky-Maximow, T. A.: Schwankungen im Verlauf der Photosynthese. Berichte der bot. Ges. **46**, H. 6 (1928). — 6. Stälfelt, M. G.: Die photischen Reaktionen im Spaltöffnungsmechanismus. Flora **21**, 236 (1927). — 7. Die Abhängigkeit der photischen Spaltöffnungsreaktion von der Temperatur. Planta **6**, H. 2 (1928) — 8. Die physiologisch-ökologischen Bedingungen der stomatären Diffusionskapazität. Sonderabdruck aus „Skogshögskolans festskrift“. Stockholm 1928.
