

PERIODISCHE KOHLENSÄUREASSIMILATION VON ELODEA CANADENSIS

von

F. VAN DER PAAUW

In zwei rezenten Arbeiten (9, 10) hat M. G. STÅLFELT Untersuchungen veröffentlicht über periodische Schwingungen der Kohlensäureassimilation und der Plasmaviskosität von *Elodea densa*. Mit verschiedenen Lichtintensitäten beleuchteten Pflanzen assimilierten nach vorhergehender Verdunkelung periodisch mit grosser Amplitude und einer Periodedauer von 1—3 Stunden. Diese Schwingungen der Assimilationsintensität konnten nicht auf ebenfalls beobachtete Chloroplastenverlagerungen zurückgeführt werden, erstens weil die Periodizität nur gefunden wurde, wenn die Kohlensäurekonzentration und nicht wenn die Lichtintensität der beschränkende Faktor der Assimilation im Sinne Blackmans war, zweitens aber weil beide Erscheinungen nicht synchronisch auftraten. Übrigens ist auch von MONTFORT (6) nachgewiesen worden, dass die Grösze der Assimilation nicht notwendig durch eine Wandstellung der Chloroplasten eingeschränkt wird.

Periodische Schwingungen der Assimilation wurden auch von anderen Forschern beobachtet. Unter bestimmten Umständen fand HARDER (2) bei Änderung der Beleuchtungsstärke einen von einer „Satteldkurve“ darzustellenden Assimilationsverlauf bei *Fontinalis antipyretica*. Besonders sei auch hingewiesen auf eine Arbeit HIROMATSUS (3), der unter den ziemlich konstanten Bedingungen eines Waldes einen 3—4 gipfeligen Tagesverlauf der Assimilation gefunden hat.

Nebst diesen Schwingungen der Assimilation wurden von STÅLFELT ebenfalls stark periodisches hin und her Pendeln der Viskosität des Protoplasmas nachgewiesen, das am Anfang der Beleuchtung auftrat und auch als ziemlich lange andauernde Nachwirkung einer Beleuchtung nachgewiesen werden konnte. Obwohl die Wellenlänge dieser Schwingungen vielleicht nicht ganz übereinstimmte mit derjenigen der Assimilationsperioden, was aber bei der relativ grossen Variabilität bei verschiedenen Objekten bedeutungslos sein kann, scheint es ratsam beide Erscheinungen mit einander in Verbindung zu bringen. STÅLFELT hat bemerkt, dass diese periodischen Schwingungen der Viskosität sich vielleicht ebenso im Stroma der Chloro-

plasten geltend machen und auf diese Weise die Assimilation beeinflussen; eine andere Möglichkeit sei aber, dass auch die Permeabilität des Protoplasmas für Kohlensäure in der gleichen Weise periodisch variiert. Letzteres steht in Einklang mit der Tatsache, dass diese Periodizität der Assimilation nur beobachtet wurde, wenn diese letzte von einer niedrigen Konzentration der Kohlensäure beschränkt war. Während einiger Tagen andauernde Schwingungen der Permeabilität von 16—18 stündlicher Wellenlänge sind nach vorhergehender Dunkelstellung tatsächlich von LEPESCHKIN (5) bei *Elodea canadensis* nachgewiesen worden.

Nach STÄLFELT verkehrt die Viskosität des Protoplasmas auch unter natürlichen Bedingungen in konstanter Schwingung, die auch während der Nacht nicht abgeklängt wird.

Hierunter folgen Mitteilungen über einige bloß orientierende Beobachtungen, die bereits im Jahre 1932 in Zusammenarbeit mit Frau Ir I. OSINGA-HIEMSTRA, damals Fräulein I. HIEMSTRA, eine Studentin Prof. G. VAN ITERSONS in Delft, über periodische Schwingungen der Assimilation von *Elodea canadensis* gemacht worden sind. Im Lichte der Ergebnisse STÄLFELTS erscheint es wünschenswert doch noch etwas über unsere Versuche mitzuteilen, obwohl diese bestimmt, ihres orientierenden Charakters wegen, noch eine gründliche Nachprüfung bedürfen.

Methodisches. Die Versuche wurden ausgeführt nach der bekannten Blasenählmethode und bezweckten den Einfluss einiger Schwermetallsalzen auf die Kohlensäureassimilation zu prüfen. Die Blasenählmethode in ihrer ursprünglicher Form ist von KNIPE (4) und WILMOTT (12) eingehend kritisiert worden und hat für quantitativ genaue Bestimmungen nur geringe Bedeutung. Für den bloß qualitativen Nachweis von Änderungen der Assimilationsintensität ist die Methode aber geeignet und ergibt sehr reproduzierbare Werte wie die folgende Reihe gleichzeitig gemachter Beobachtungen an zwei zufälligerweise mit fast der gleichen Intensität und unter gleichen Bedingungen assimilierende Sprösze nach der unten beschriebenen Methode zeigt:

Zahl der Blasen pro $\frac{1}{2}$ Minute:

Beob.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Sprosz 1	19	25	33	24 $\frac{1}{2}$	21 $\frac{1}{2}$	19	19 $\frac{1}{2}$	18	16 $\frac{1}{2}$	36	22 $\frac{1}{2}$	16 $\frac{1}{2}$	14
Sprosz 2	18 $\frac{1}{2}$	24 $\frac{1}{2}$	34	25 $\frac{1}{2}$	22 $\frac{1}{2}$	19 $\frac{1}{2}$	20 $\frac{1}{2}$	18 $\frac{1}{2}$	16 $\frac{1}{2}$	35 $\frac{1}{2}$	22 $\frac{1}{2}$	16	15

Beob.	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
Sprosz 1	15 $\frac{1}{2}$	14	12	26	15 $\frac{1}{2}$	11	7	6	5 $\frac{1}{2}$	25	13 $\frac{1}{2}$	9 $\frac{1}{2}$	3
Sprosz 2	17	16	12	26	17	11	8	6	5	27	15	10	4

Die Pflanzen befanden sich bei kontinuierlicher Beleuchtung in einer Lösung von 1/200 bzw. 1/50 % Na HCO_3 , die mittels einer einfachen Einrichtung jede 5 Minuten gewechselt wurde. 1—1½ und 2½—3 Minuten nach Beendigung der Durchströmung mit frischer Lösung, die genau 1 Minute dauerte, wurden die Blasen gezählt; von beiden erhaltenen Werten wurde dann der Mittelwert berechnet. Die Zahl der Blasen fiel nach der Durchströmung schnell auf ziemlich konstanten Werten ab; die zweite Beobachtung ergab meistens nur sehr wenig niedrigere Werte als die erste.

Die Sprösze waren invers in einigen, von einer planparallelen Küvette mit durchlaufendem Kühlwasser umgebenen, weiten Reagenzglas gestellt. Das Ganze befand sich in dem starken Lichtbündel zwischen den Linsensystemen eines Projektionsapparates (1000 Watt-Lampe), so dass das Bild der Pflanze auf einen Schirm projiziert wurde, was das Zählen der Blasen sehr erleichterte. Die Temperatur wurde während der Versuchen auf 25° konstant gehalten. Die Intensität des starken Lichtes wurde nicht gemessen; bei dieser Versuchsanstellung ist aber die Kohlensäurekonzentration zweifellos begrenzender Faktor der Assimilation gewesen:

Gelegentlich wurden auch einige Versuchen mit längerer oder kürzerer Zeitspanne zwischen den Wasserwechsel gemacht nebst Versuchen in stehendem oder in langsam fließendem Wasser. Bei den Versuchen mit Schwermetallsalzen wurde die Zufügung der diese Salzen enthaltenden Bikarbonatlösungen mit der Durchströmung salzfreier Bikarbonatlösungen abgewechselt.

Die Elodeasprösze wurden einem vor einem Nordfenster aufgestellten Aquarium entnommen, worin sie bereits mehrere Tage verweilt hatten; bisweilen wurde aber mit einem Graben entnommenen Spröszen gearbeitet.

Ergebnisse. Bei den ersten Versuchen zeigte sich überraschender-

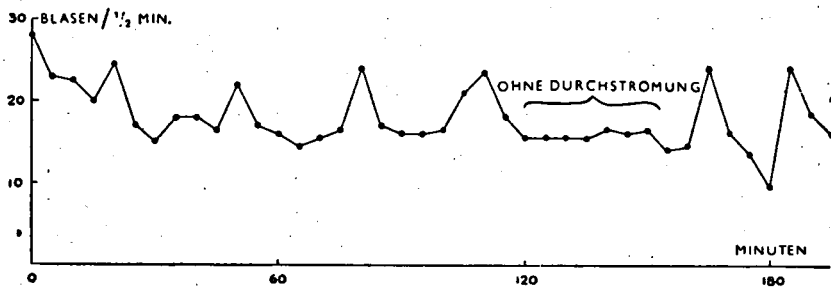


Abb. 1. Blasenbildung in stehendem Wasser, das jede 5 Minuten gewechselt wird und dieselbe ohne regelmässige Durchströmung.

weise, dass von einer Konstanz der Blasenbildung unter den gewählten Versuchsbedingungen gar nicht die Rede war, sondern dass immer wieder ein periodischer Verlauf der Assimilation auftrat. Ausgesprochene Gipfel der Assimilationsintensität wiederholten sich regelmässig nach etwa jeden 6 Wasserwechselungen, bei der üblichen Versuchsanstellung also ungefähr jede $\frac{1}{2}$ Stunde (Abb. 1). Bei Unterbrechung des Wasserwechsels wurde aber die Intensität der Assimilation sogleich konstant. Nach Wiederherstellung des Wasserwechsels wurde die Periodizität von neuem beobachtet.

In langsam fließendem Wasser (3.2 Liter/Stunde) wurde der gleiche Ergebnis als in stehendem Wasser erhalten. Bei einer schnelleren Durchströmung (15 Liter/Stunde) fanden wir eine anfänglich starke, aber bald auf niedrige Intensität abfallende Blasen-

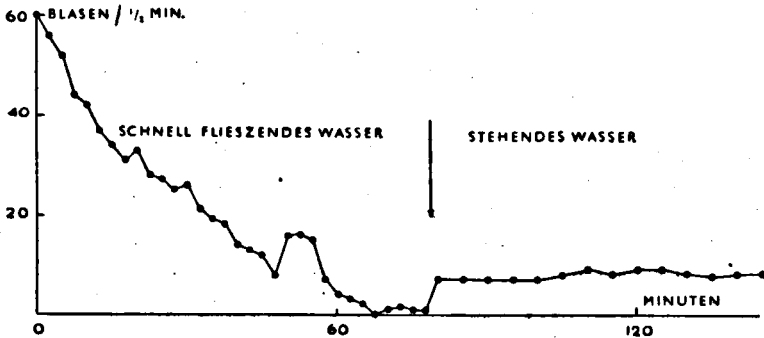


Abb. 2. Blasenbildung in fließendem und in stehendem Wasser.

bildung (Abb. 2), welche allerdings auch geringe Schwankungen aufwies. Nach Beendigung der Strömung blies der Spross mit konstanter Geschwindigkeit.

Einige Versuche, worin die Zeitspanne zwischen zwei Wasserwechselungen variiert wurde, scheinen darauf hinzuweisen, dass die Länge der Periode hauptsächlich durch die Anzahl der Durchströmungen, nicht aber durch die Dauer der zwischenliegenden Zeitspannen bestimmt wird. Bei einer Herabsetzung dieser Zeitintervall auf $2\frac{1}{2}$ Minute (die Blasen wurden hier jedesmal nur einmal gezählt) traten ebenfalls nach 6 Durchströmungen, also jede Viertelstunde, Gipfel der Assimilationsintensität auf (Abb. 3). Bei einer Zeitspanne von 10 Minuten, wurde dasselbe, also in diesem Fall ein stündlicher Gipfel wahrgenommen. Nur bei Ausdehnung der Zeitspanne bis 20 Minuten, wurde jede 80 Minuten, also nach 4 Durchströmungen, nur noch ein schwaches Ansteige der Assimilation gefunden. Nach Änderung in einer 5 Minuten Intervall

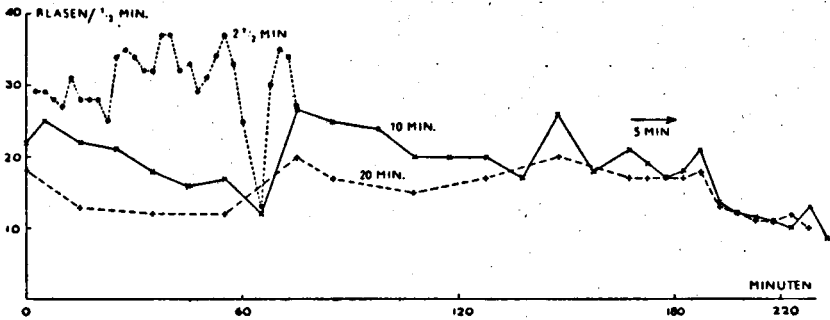


Abb. 3. Periodische Blasenbildung in stehenden Wasser nach regelmässiger Durchströmung jede $2\frac{1}{2}$, 10 oder 20 Minuten.

erschien in beiden letzten Falle wieder die halbstündliche Periode.

Diese wenigen Versuchen genügen selbstverständlich nicht für eine eindeutige Aufklärung; sie scheinen aber anzudeuten, dass das alternierende Strömen des Wassers für das Auftreten der Periodizität massgebend ist.

Bei unseren orientierenden Versuchen über den Einfluss von Schwermetallsalzen auf die Assimilation musste also auf diesen periodischen Verlauf der Assimilation Rücksicht genommen werden. Bei Zusatz geringer Mengen Salze änderte das gefundene Verhalten nicht. Nur bei Benützung konzentrierterer Lösungen superponierten sich die überwiegend die Assimilation erhöhenden Wirkungen auf den bestehenden Rythmus, welcher bisweilen noch klar zu erkennen war.

Ein Versuch mit FeCl_3 -Lösungen gibt ein deutliches Beispiel (Abb. 4). Zusatz von $1/2000$ % FeCl_3 verursachte eine kleine Erhöhung der Blasenbildung. Stärkere Stimulierungen wurden in $1/400$ und $1/80$ % Lösungen erhalten. Unabhängig von diesen Einflüssen lassen sich aber die normalen Gipfel (in der Abb. umkreist) noch klar erkennen.

Ein Zusatz von $1/400$ % FeCl_3 hatte das pH der Bikarbonatlösung nicht wesentlich geändert, Zusatz von $1/80$ % erniedrigte aber dasselbe von etwa 6.8 auf 5.5. Der gefundene Effekt der schwächeren Lösung ist also wahrscheinlich nicht einer versäuernden Wirkung (TREBOUX, 11, WILMOTT, 12, BENECKE, 1) zuzuschreiben, aber vielmehr als eine spezifische Wirkung dieses Salzes zu deuten.

Auch mit anderen, das pH der Lösung nur wenig beeinflussenden Salzen, wurden beträchtliche Beschleunigungen des Blasenstroms

beobachtet, z.B. in $1/400\%$ MoCl_3 -Lösung (pH 7.3) bis auf ungefähr das Dreifache.

Abb. 4 zeigt weiter einige bei Zusatz von CuCl_2 erhalten Ergebnisse. Zusatz von $1/80\%$ dieses Salzes setzte das pH auf 6.5, von $1/16\%$ auf 6.0 herab. Bei unserem ersten Versuch war die Assi-

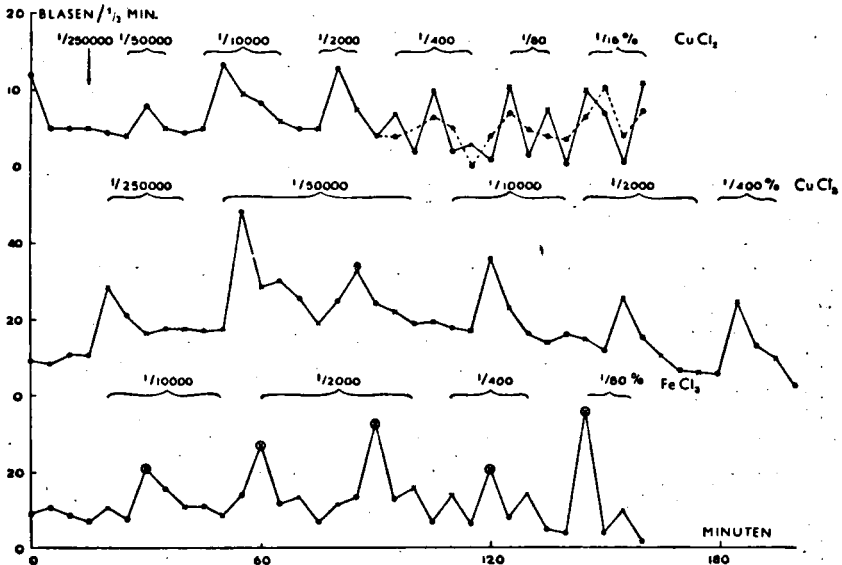


Abb. 4. Einfluss von Zusatz von verschieden konzentrierter FeCl_3 - (unten) und CuCl_2 -Lösungen (obere Kurven) auf die periodisch verlaufende Blasenbildung. Der Salzeffekt superponiert sich auf die periodische Assimilation (bei der unteren Kurve sind die periodischen Gipfel umkreist; bei der oberen Kurve gibt eine gestrichelte Linie den Verlauf nach der Korrektur für den Salzeffekt).

- Blasenbildung in reiner Bikarbonatlösung
- x dasselbe bei Salzzusatz.

milation in $1/400\%$ CuCl_2 und in schwächeren Lösungen ungeändert, bei einem zweiten wurde aber bereits in einer Lösung dieser Stärke, aber auch bei Zusatz von $1/80$ und $1/16\%$ Stimulierung der Assimilation, oder vielleicht genauer ausgedrückt geringere Blasenbildung während der zwischenliegenden Beobachtungen ohne Cu -Zusatz, gefunden. Letzterer Versuch lässt ebenfalls deutlich erkennen, dass die ursprüngliche Periodizität durch den Zusatz des Cu -Salzes nicht geändert wurde. In der Abb. 5 wird dies angezeigt durch die getüpfelte Linie, welche den Verlauf abbildet, nachdem eine Korrektur für den Salzeinfluss gemacht worden ist.

Auch bei Zusatz von Molybdenaten wurde eine Beeinflussung der Blasenbildung wahrgenommen. Zusatz von 1/80 % $(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7 \text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ wobei allerdings das pH der Lösung auf 4.9 erniedrigt wurde, ergab ein Ansteigen bis auf mehr als das Doppelte. In 1/80 bzw. 1/400 und vielleicht auch schon in 1/2000 % Lösung von $\text{Na}_6 \text{Mo}_7 \text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, welches Salz das pH nicht nennenswert änderte (1/80 % Lösung pH = 6.7) wurde aber eine Erniedrigung der Blasenbildung festgestellt. In 1/80 % Lösung war die Zahl der Blasen auf ungefähr die Hälfte zurückgefallen.

Die Versuche mit Schwermetallsalzen scheinen also auszuweisen, dass die beobachteten Effekte nicht, oder höchstensfalls nur teilweise, auf Säureeffekten zurück zu führen sind, sondern auf spezifische Wirkungen dieser Salzen beruhen.

DISKUSSION

Diese nur wenige, und bloß zur Orientierung gemachte Versuche, können einen Beitrag liefern zu dem von STÅLFELT bei *Elodea densa* beobachteten periodischen Verlauf der Kohlensäureassimilation und der Viskosität des Protoplasmas. Die bei unseren Versuchen gewählte Versuchsanordnung hat ein Pendeln der Assimilationsintensität hervorgerufen, genau so wie es von STÅLFELT unter anderen Bedingungen beobachtet wurde. Dass die Periode in unseren Versuchen kürzer war, scheint bedeutungslos, weil mit einer anderen Pflanzenart, *Elodea canadensis*, gearbeitet wurde und weiter gefunden wurde, dass die Länge der Welle von der Schnelligkeit, womit die Durchströmungen aufeinander folgten, abhängig ist. Bestätigt wurde also, dass der innere, die Intensität der Assimilation bedingende Zustand des Protoplasmas durch einen Reiz leicht in Pendeln gesetzt wird, und dieser Zustand offenbar von sehr labiler Art ist. Interessant in unseren Versuchen ist, dass eine mehrfache Wiederholung des Reizes notwendig war, um diese Erscheinung hervorzurufen. Bei Beendigung des Reizes wurde aber keine Nachwirkung gefunden.

Wie auch schon in früheren Arbeiten betont wurde (VAN DER PAAUW, 7, 8), zeigen die Ergebnisse von diesen Versuchen wieder die massgebende Bedeutung des inneren Zustandes des Protoplasmas.

Weil bei unseren Versuchen die Kohlensäurekonzentration der begrenzende Faktor war, scheint die Hypothese STÅLFELTS, dass die Permeabilität des Protoplasmas für Kohlensäure ebenso einer periodischen Schwingung unterworfen und für die Periodizität der Assimilation verantwortlich zu stellen sei, eine mögliche Erklärung zu

geben. Die tatsächlich von LEPESCHKIN (5) aufgedeckten periodischen Schwingungen der Permeabilität bei *Elodea* können diese Hypothese eine grössere Wahrscheinlichkeit geben. Vielleicht können auch die von uns wahrgenommenen Salzeinflüssen in Permeabilitätsänderungen ihren Grund haben. Es würde jedenfalls um diese Hypothese zu prüfen angebracht sein, unsere Versuche unter Licht- oder Temperaturbedingten Umständen zu wiederholen.

Möchte der Zusammenhang zwischen Assimilation und Viskosität, bzw. Permeabilität, eine künftige Bestätigung erhalten, dann wird die Blasen Zählmethode, und besonders wenn diese z.B. nach den verbesserten Anordnungen WILMOTTS (12) Anwendung findet, eine äusserst bequeme und schnelle Methode darbieten, um den Zustand der Protoplasmas in Untersuchung zu nehmen.

ZUSAMMENFASSUNG.

Die Ergebnisse einiger Assimilationsversuche mit der Wasserpflanze *Elodea canadensis* mittels der Blasen Zählmethode werden veröffentlicht.

Es hat sich gezeigt dass eine, durch die niedrige Kohlensäure-(Bikarbonat) Konzentration der Lösung bedingte, Blasenbildung periodisch wechselt, wenn das Assimilationsgefäß jede 5 Minuten während einer Minute mit frischer Lösung durchströmt wird, und die Blasen stets in einem bestimmten Zeitabschnitt nach dieser Durchströmung gezählt werden. Meistens nach etwa 6 Strömungen, also bei der genannten Zeitintervall halbstündlich, wurden deutliche Assimilationsgipfel beobachtet. Bei Änderung von diesen Zeitintervall scheint das Auftreten von der Zahl der Strömungen, weniger aber von der Dauer dieser Zeitspanne, abhängig zu sein.

In stehendem Wasser war die Blasenbildung konstant; bei Wiederaufnahmen der Durchströmungen trat aber die Periodizität gleich wieder in Erscheinung.

Zusatz von Fe-, Cu-, Mo-Salzen übte erhebliche Einflüsse auf die Blasenbildung aus. Diese sind höchstens nur teils als Säureeffekte zu deuten und beruhen wahrscheinlich auf spezifische Wirkungen. Diese Effekte superponierten sich auf die periodisch variierende Assimilation.

Es scheint ratsam das gefundene Phänomen mit der von STÄLFELT beschriebenen Periodizität von Kohlensäureassimilation bzw. Plasmaviskosität in Verbindung zu bringen. Der von STÄLFELT vermutete Zusammenhang mit periodischen Änderungen der Permeabilität kann hier eine mögliche Erklärung geben.

Es wird darauf hingewiesen dass die höchst einfache Blasen zähl-

methode vielleicht auch Mööglichkeiten öffnet für die weitere Erforschung der Eigenschaften des Protoplasmas.

Delft, Laboratorium für Technische Botanik der Technischen Hochschule.

Herrn Prof. Dr Ir G. VAN ITERSON Jr, der zu dieser Arbeit die Anregung gegeben und auch diese verspätete Veröffentlichung empfohlen hat, danke ich herzlich für sein lebhaftes Interesse, Frau Ir I. OSINGA-HIEMSTRA für die angenehme Zusammenarbeit und die Überlassung der Ergebnisse.

LITERATUR.

1. BENECKE, W.: Beiträge zum Problem der Kohlensäureassimilation. Zeitschr. f. Bot. 13, 417 (1921).
2. HARDER, R.: Über die Assimilation der Kohlensäure bei konstanten Aussenbedingungen. II. Das Verhalten von Sonnen- und Schattenpflanzen. Planta 20, 699 (1933).
3. HIROMATSU, K.: On the daily progress of carbon assimilation in the shadow under natural conditions, Science Rep. Tōhoku Imp. Univ. 4 th. Sec. Biology, 7, 239 (1932).
4. KNIEP, H.: Über den Gasaustausch der Wasserpflanzen. Ein Beitrag zur Kritik der Blasen-zählmethode. Jahrb. f. wiss. Bot. 56, 460 (1915).
5. LEPESCHKIN, W. W.: Light and the permeability of protoplasm. Amer. Journ. of Bot. 17, 953 (1930).
6. MONTFORT, C.: Lichtlähmung und Lichtbleichung bei Wasserpflanzen. Grundsätzliches zur physiologischen Gestalt der submersen Wasserpflanzen. Planta 32, 121 (1941).
7. PAAUW, F. VAN DER: The indirect action of external factors on photosynthesis. Rec. trav. bot. néerl. 29, 497 (1932).
8. ——— Der Einfluss der Temperatur auf Atmung und Kohlensäureassimilation einiger Grünalgen. Planta 22, 396 (1934).
9. STALFELT, M. G.: Über die Lichtbedingten Hemmungsvorgänge in der Kohlensäureassimilation. Svensk Bot. Tidskr. 39, 365 (1945).
10. ——— The influence of light upon the viscosity of protoplasm. Arkiv. f. Bot. 33 A, 1 (1946).
11. TREBOUX, O.: Einige stoffliche Einflüsse auf die Kohlensäureassimilation bei submersen Pflanzen. Flora 92, 49 (1903).
12. WILMOTT, A. J.: Experimental Researches on Vegetable Assimilation and Respiration XIV. Assimilation by submerged plants in dilute solutions of bicarbonates and of acids: an improved bubble-counting technique. Proc. Roy. Soc., B, 92, 304 (1921).