

4. Zur Optik der Chloroplasten

von A. Frey-Wyssling und K. Wuhrmann.

(29. X. 46.)

Zu verschiedenen Malen hat *F. Weber*¹⁾ über Chloroplasten berichtet, die im Polarisationsmikroskop zwischen gekreuzten Nicols Sphäritenstruktur verraten, indem entweder die Granen im Chlorophyllkorn (1936) oder die Chloroplasten als Ganzes (1937) zwei grüne und zwei rote Sektoren erkennen lassen (Figur 1). *Savelli*²⁾ (1937, a, b) hat bei gelben Chromoplasten ähnliche Beobachtungen gemacht, indem er zwischen gekreuzten Nicols zwei gelbe und zwei blaue Quadranten wahrnahm.

Bei der Diskussion über diese auffallende Erscheinung an der Kolloidchemikertagung in Stuttgart (*Menke*³⁾, 1938) haben sowohl *W. J. Schmidt* als auch *W. Menke* vermutet, dass dieser Quadranteneffekt durch Spannungszustände im Objektiv hervorgerufen werde. Das heisst, sie deuten ihn als eine durch fehlerhafte Linsen (bekanntlich sind völlig spannungsfreie Objektive sehr selten) verursachte optische Täuschung und sprechen ihm somit jede Realität ab. *Schmidt* macht geltend, dass man das Sektorenbild mit einer drehbaren Glimmerplatte wegkompensieren könne, und *Menke* weist darauf hin, dass er nur bei kleinen Gangunterschieden auftrete, bei stärker brechenden Chloroplasten dagegen fehle.

Beide Argumente sind einleuchtend, aber nicht beweisend. Es soll daher im Folgenden der Schwingungszustand des aus den Chloroplasten austretenden Lichtes genau analysiert werden. Erst wenn sich auch bei dieser Untersuchung ein Quadranteneffekt als ausgeschlossen erweist, darf die Realität der vorliegenden Beobachtungen angezweifelt werden.



Fig. 1.

Quadranteneffekt des Chloroplasten von *Zygnema*. Die schwarz gezeichneten Partien des Schraubenbandes leuchten zwischen gekreuzten Nicols in 45°-Stellung rot auf, die weiss gehaltenen Partien dagegen grün (n. *Weber* 1937).

¹⁾ *F. Weber*, *Molisch-Festschr.* 1936, S. 447; *Protoplasma* **27**, 280 (1937).

²⁾ *R. Savelli*, a) *Protoplasma* **28**, 365 (1937); b) *l. c.* **29**, 1 (1937).

³⁾ *W. Menke*, *Koll. Z.* **85**, 256 (1938).

Wie aus der Dispersionskurve eines *Closterium*-Chloroplasten (*Menke*¹⁾) hervorgeht, ist der Gangunterschied für grünes Licht ca. 4mal geringer als für rotes Licht von $710\text{ m}\mu$. Besteht daher für das helle grüne Licht eine Phasendifferenz von nur $\frac{1}{8}\lambda$, so beträgt sie für rotes Licht etwa $\frac{1}{2}\lambda$. Es ist klar, dass auf diese Weise ganz abnorme Verhältnisse im Polarisationszustand der aus dem Chloroplasten austretenden Wellenzüge entstehen müssen, wenn wir ihn mit linear polarisiertem weissem Licht beleuchten. Bei einer Phasendifferenz von $\frac{1}{2}\lambda$ schwingt das austretende Licht linear, senkrecht zur Schwingungsebene des Polarisators P—P und bei $\frac{1}{8}\lambda$ in einer schmalen Ellipse parallel zu P—P, wenn das doppelbrechende Objekt unter 45° zwischen die gekreuzten Nicols geschaltet wird (s. *Ambrohn* und *Frey*²⁾, S. 29). Bringen wir daher einen Chloroplasten in Profilstellung mit $\Gamma = \frac{1}{8}\lambda$ für grünes Licht in die Stellung, in der er am hellsten aufleuchtet (45° -Stellung), so schwingt das austretende grüne Licht zur Hauptsache senkrecht zur Schwingungsebene des Analysators A—A, es wird also nur wenig von ihm durchgelassen; das rote Licht schwingt dagegen in der Schwingungsebene des Analysators und tritt daher frei aus (Figur 3). Trotzdem das rote Licht im Chloroplasten nach der Absorptionskurve von *Menke* 4mal stärker absorbiert wird als das grüne und daher seine Amplitude auf die Hälfte verkürzt erscheint (da zwischen Intensität J und Amplitude a der Lichtwellen die Beziehung $J = a^2$ besteht), ist diese doch noch grösser als die kleine Achse der Schwingungsellipse für grün, die die Amplitude des austretenden grünen Lichtes angibt (Figur 3).

Figur 3 ist die optische Erklärung für die von *Menke* angegebene Reihe der anormalen Interferenzfarben der Chloroplasten: rot—blaugrün—smaragdgrün—gelbgrün; denn bei zunehmendem Gangunterschied werden nach der Dispersionskurve der Figur 2 die Wellenzüge dieser Farben den Gangunterschied $\frac{1}{2}\lambda$ und dadurch den Schwingungszustand von linear polarisiertem Licht parallel zur Schwingungsebene des Analysators A—A erreichen und deshalb mit maximaler Helligkeit austreten.

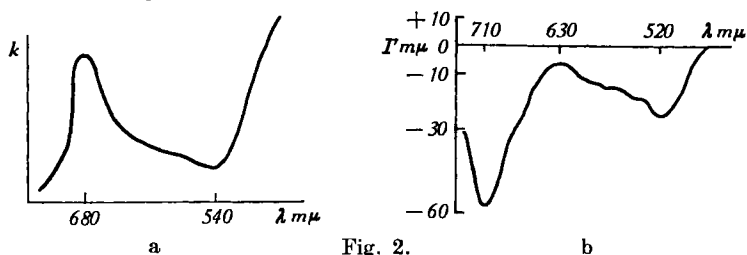


Fig. 2.

Dispersion der Doppelbrechung und Absorption der Chloroplasten von *Closterium moniliferum*. a Absorptionskurve, b Dispersionskurve (n. *Menke* 1943).

¹⁾ W. *Menke*, Biol. Zbl. **63**, 326 (1943).

²⁾ *Ambrohn* und *Frey*, Das Polarisationsmikroskop, Leipzig 1926.

Da *Menke* einen schwachen Dichroismus für rot beobachtet hat, ergibt sich eine weitere Komplikation. Bei der Konstruktion des Schwingungszustandes für rot muss die Komponente, die im Chloroplasten in Richtung des grösseren Brechungsindex n_γ schwingt, gegenüber der Komponente, die nach n_α schwingt, geschwächt werden. In Figur 4 ist die Abschwächung der beiden Komponenten im Verhältnis $5/6:1$ geschehen. Der Dichroismus hat zur Folge, dass bei einem Gangunterschied von $1/2 \lambda$ für rot das aus dem Chloroplasten austretende rote Licht nicht mehr parallel zu A—A schwingt, sondern unter einem Winkel x dazu (Figur 4b).

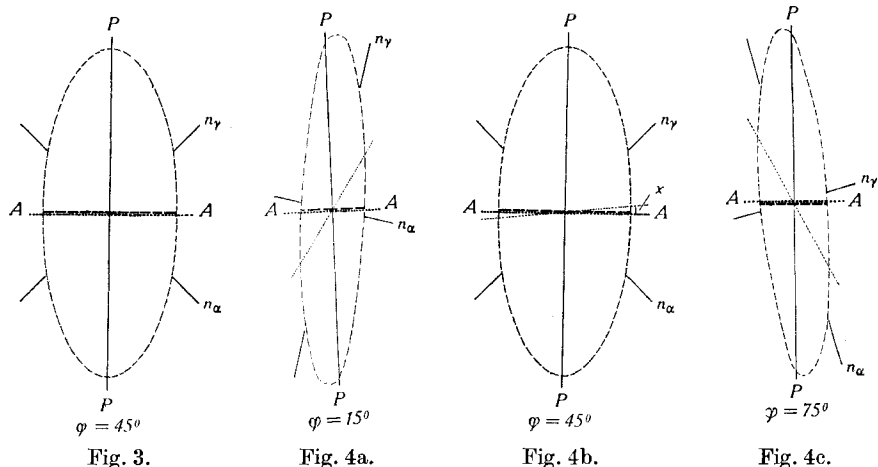


Fig. 3. Schwingungszustand des polarisierten Lichtes, das aus einem Chloroplasten mit $1/8 \lambda$ Gangunterschied für grün und $1/2 \lambda$ Gangunterschied für rot in 45° -Stellung austritt. P—P Schwingungsebene des Polarisators. A—A Schwingungsebene des Analysators. n_γ und n_α Schwingungsebenen in Chloroplasten. Schwingungszustand des aus dem Plastiden austretenden Lichtes: ----- grün, rot (s. Fig. 4). Amplitude des aus dem Analysator A—A austretenden Lichtes: ----- grün, rot.

Fig. 4. Wie Fig. 3, jedoch unter der Annahme, dass zufolge des Chloroplasten-Dichroismus für rot eine Amplitudenschwächung der nach n_γ schwingenden Wellen von 1 auf $5/6$ erfolge. Darstellung in drei verschiedenen Winkelstellungen des Objektes ($\varphi = \angle n/P-P$). a) 15° -Stellung. b) 45° -Stellung; die Schwingungsebene des linear polarisiert aus dem Plastiden austretenden Lichtes ist durch die Absorptionsanisotropie (Dichroismus) im Vergleich zu Fig. 3 um den Winkel x gegenüber A—A gedreht. c) 75° -Stellung.

Man könnte vermuten, dass der Dichroismus, der die Schwingungsrichtung des austretenden Lichtes dreht, am Quadranteneffekt schuld sei. Dies ist aber nicht der Fall. Denn wenn man durch Drehung des Objektisches alle möglichen Lagen des Objektes einstellt, ergibt sich, dass alle vier 45° -Stellungen trotz der durch den Dichroismus bedingten Verdrehung der Schwingungsebene für rot in bezug auf die Durchlassebene des Analysators A—A gleichwertig sind. Auch die Zwischenstellungen, von denen in Figur 4a und c

die 15°- und die 75°-Stellung konstruiert sind, lassen in allen 4 Quadranten erkennen, dass die Komponente für rotes Licht (.....), die aus dem Analysator austritt, stets etwas grösser ist als die Komponente für grünes Licht (-----). Der Chloroplast muss daher bei den angenommenen Bedingungen in allen Lagen rot erscheinen.

Variiert man den Gangunterschied oder geht von anderen Voraussetzungen aus, als sie durch die Messungen von *Menke* gegeben sind, so findet man immer, dass die 4 möglichen 45°-Stellungen trotz Absorption und Dichroismus gleichwertig bleiben, so dass also theoretisch auch unter den ungewöhnlichen optischen Verhältnissen, wie sie bei Chloroplasten vorliegen, kein realer Quadranteneffekt auftreten kann.

Bis jetzt ist es uns nicht gelungen, den Quadranteneffekt mit den Objektiven unserer Polarisationsmikroskope in natura zu beobachten oder etwa durch mangelhafte Kreuzung der Nicols zu erhalten. Dagegen lässt er sich durch Einschaltung einer Kompensatorplatte von sehr kleinem Gangunterschied (ca. $\frac{1}{16} \lambda$) leicht erzeugen. In den Additionsquadranten wird die $\frac{1}{8} \lambda$ -Ellipse des grünen Lichtes ansichtlich verbreitert ($\frac{3}{16} \lambda$ -Ellipse), in der Subtraktionsstellung dagegen bedeutend verschmälert ($\frac{1}{16} \lambda$ -Ellipse); die Amplitude für rot wird jedoch in beiden Fällen gleich beeinflusst, nämlich nur ganz unbedeutend verkürzt ($\frac{9}{16}$ und $\frac{7}{16} \lambda$ -Ellipse). Dies hat zur Folge, dass in Additionslage grün an Intensität überwiegt, in Subtraktionslage dagegen rot vorherrscht. Die Vermutung von *W. J. Schmid* und *Menke*, dass ein Kompensationseffekt vorliegen müsse, ist damit bewiesen.

Wie die Figuren 3 und 4 zeigen, ist der Amplitudenunterschied von grün und rot beim angenommenen $\frac{1}{8} \lambda$ -Gangunterschied nur gering. Bei stärkeren Gangunterschieden fällt er grösser aus, und zwar zugunsten von grün; es ist dann nicht mehr möglich, durch Überlagerung einer objektfremden geringen Doppelbrechung die Interferenzfarbe augenfällig zu beeinflussen. Damit ist auch die Beobachtung von *Menke* erklärt, dass der Quadranteneffekt nur bei Chloroplasten mit geringen Gangunterschieden beobachtet werden kann. Da die Plastidendoppelbrechung in den meisten Fällen sehr schwach ist, kann der auffallende Quadranteneffekt der Chloroplasten dazu benützt werden, um die Objektive eines Polarisationsmikroskopes auf ihre Spannungsfreiheit zu prüfen, die für feinere Messungen an schwach anisotropen biologischen Objekten absolut unerlässlich ist.