

**Zeitschrift:** Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse

**Herausgeber:** Schweizerische Botanische Gesellschaft

**Band:** 53A (1943)

**Artikel:** Untersuchungen über die Physiologie des Anthocyans in Keimlingen von *Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *rubra* (L.)

**Autor:** Frey-Wyssling, A. / Blank, F.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-676362>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 08.02.2025

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

# Untersuchungen über die Physiologie des Anthocyans in Keimlingen von *Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *rubra* (L.).

Von *A. Frey-Wyßling* und *F. Blank*.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.)

Eingegangen am 8. September 1942.

	Seite
I. Einleitung . . . . .	550
II. Versuchspflanze, Methodik . . . . .	551
III. Quantitative Untersuchungen an Dunkelkeimlingen . . . . .	556
a) Ergebnisse der Anthocyan-Analysen . . . . .	558
b) Ergebnisse der Zuckeranalysen . . . . .	559
c) Ergebnisse der Stickstoffanalysen . . . . .	561
d) Verhältnis von Anthocyan- zu Zuckergehalt . . . . .	563
e) Verhältnis von Anthocyan- zu Stickstoffgehalt . . . . .	564
IV. Einfluß der Temperatur auf die Anthocyanbildung . . . . .	566
V. Bildung und Wanderung des Farbstoffes . . . . .	568
VI. Besprechung der Ergebnisse . . . . .	569
VII. Zusammenfassung . . . . .	574
Literaturverzeichnis . . . . .	575

## I. Einleitung.

Die Anthocyane gehören zu den auffälligsten sekundären Pflanzenstoffen. Sie haben deshalb von jeher das Interesse der Botaniker und Chemiker erregt. Während es jedoch gelungen ist, die chemische Konstitution der Anthocyanfarbstoffe ziemlich weitgehend zu erschließen, ist die Frage ihrer physiologischen Bedeutung noch völlig ungeklärt. Wohl ist, besonders durch die Zusammenarbeit von englischen Chemikern und Botanikern (31, 52), die Vererbung der Anthocyane bei vielen Pflanzen untersucht worden, wohl liegt eine fast unübersehbare Anzahl Arbeiten über das physiologische Verhalten der Anthocyane in der Pflanze vor (42); aber trotzdem ist die Physiologie ihrer Entstehung noch in völligem Dunkel gehüllt.

Die Aufklärung der Physiologie der Anthocyane bietet mancherlei Schwierigkeiten, vor allem methodischer Art. Die quantitative Bestimmung der Farbstoffe muß wegen ihrer geringen Menge in der Pflanze auf kolorimetrischem Wege erfolgen. Hierfür ist jedoch die chemische

Reindarstellung zur Aufstellung von Eichkurven eine unbedingte Voraussetzung; eine solche Isolierung ist nur möglich, wenn eine genügend große Menge des benötigten Pflanzenmaterials erhältlich ist. Andererseits bereitet das Vorkommen der Anthocyane in fast allen Pflanzenorganen — von der Wurzel bis hinauf zu den Blüten — der Beurteilung der Physiologie der Anthocyane nicht unerhebliche Schwierigkeiten; es verunmöglicht geradezu eine einfache Versuchsanstellung!

In der vorliegenden Arbeit ist deshalb versucht worden, einige die Physiologie der Anthocyane betreffende Fragen bei der Keimung des Rotkohls abzuklären; denn von dieser Versuchspflanze standen unbeschränkte Mengen zur Verfügung, und die Farbstoffbildung ist bei der Keimung vorerst in den Kotyledonen lokalisiert. Die Isolierung und Reindarstellung des Rotkohlfarbstoffes erfolgte im Chemischen Institut der Universität Zürich<sup>1</sup>. Das reine Anthocyan erlaubte uns, folgende Fragen, über die die Literatur voller unabgeklärter Widersprüche ist und die bisher nur qualitativ untersucht worden sind, zum *ersten Male* mit einer einwandfreien Methodik einer *quantitativen* Untersuchung zu unterziehen:

1. Zusammenhang zwischen Zuckerstoffwechsel und Anthocyanbildung;
2. Verhalten des Anthocyan, des Zuckers und des Stickstoffes im Hungerstoffwechsel;
3. Einfluß der Temperatur auf die Anthocyanbildung.

Daneben fand die Bildung des Anthocyan aus seiner Vorstufe und die Wanderung des Farbstoffes während des Längenwachstums der Hypokotyle des Rotkohlkeimlings unsere Aufmerksamkeit.

## II. Versuchspflanze, Methodik.

### a) Versuchspflanze.

Aus mehr als 30 verschiedenen Versuchspflanzen, die zum Teil zur Nachprüfung der Versuchsergebnisse von M o l i s c h und R o u s c h a l (40) herangezogen wurden, wählten wir Rotkohlkeimlinge « Erfurter blutroter Riesen » für unsere Versuchszwecke. Diese Versuchspflanze hatte den Vorteil, daß sowohl genug Samen zur Anzucht der Keimlinge als auch genügend Pflanzenmaterial (Rotkohlköpfe) für die Isolierung und Reindarstellung des Anthocyan zur Verfügung standen. Die Rotkohlkeimlinge waren auch, im Gegensatz zu vielen andern untersuchten Keimlingen, hinsichtlich der Anthocyanbildung deutlich temperatur-

<sup>1</sup> Auch an dieser Stelle möchten wir Herrn Prof. Dr. P. Karrer bestens danken für die Zuvorkommenheit, mit der er den einen von uns (F. B.) in seinem Institut aufnahm, sowie für die vielseitige Hilfe, die er ihm zuteil werden ließ.

empfindlich. Diese Eigenschaft ließ auch eventuell eine Antwort auf den Zusammenhang zwischen Temperatur und Anthocyanbildung erwarten.

Die Keimung des Rotkohles erfolgte rasch. Es standen daher immer genügend Rotkohlkeimlinge zur Verfügung, wodurch das Arbeiten mit einer großen Anzahl unter gleichen Bedingungen gewachsener Versuchspflänzchen ermöglicht wurde. Aus der Verwendung von Keimlingen im gleichen Entwicklungszustand ergab sich ferner die Möglichkeit, die gefundenen Versuchsergebnisse auf physiologisch einwandfreie Bezugsgrößen wie Pflanze oder Pflanzenorgan zu beziehen.

Die in eine 6prozentige wässrige Lösung von Calciumhypochlorit 4 Minuten lang eingetauchten Rotkohlsamen wurden zur Keimung auf Sand in Emailschalen (25 cm Durchmesser) ausgelegt. Der Sand war vorher mit konzentrierter Salzsäure gereinigt und nachher im Dampftopf sterilisiert worden. Dadurch wurde in allen Versuchsserien das Erscheinen von störenden Mikroorganismen auf dem Sand oder gar an den Keimlingen verhütet.

In allen Versuchen wurden nur Keimlinge verwendet, die im Dunkeln in Thermostaten herangezogen worden waren.

## b) Methodik.

### 1. Zucker.

Die Bestimmungen der Monosaccharide wurde nach dem Verfahren von H a g e d o r n - J e n s e n (16) ausgeführt, und zwar im Pflanzenextrakt, der durch Zerreiben der Keimlinge im Porzellanmörser und Aufnahme in destilliertem Wasser erhalten wurde. Die Enteiweißung des Pflanzensaftes geschah durch Zusatz von Zinkhydroxyd ( $1 \text{ cm}^3 \text{ n}/10$  Natronlauge und  $5 \text{ cm}^3$  0,45prozentige wässrige Zinksulfatlösung), worauf die Reagensgläser 3 Minuten lang in siedendes Wasser gestellt wurden. Das eiweißfreie Filtrat wurde dann mit einem Überschuß von Ferricyankaliumlösung (1,65 Gramm Ferricyankalium puriss. pro analyse und 10,6 Gramm geglühtes Natriumkarbonat ad  $1000 \text{ cm}^3$ ) versetzt, welche durch den Zucker in der Wärme (15 Minuten lang) zu Ferrocyanium reduziert wurde, das als Zinkverbindung ausfiel. Das überschüssige Ferricyankalium wurde jodometrisch mit einer täglich frisch eingestellten  $\text{n}/200$  Natriumthiosulfatlösung zurücktitriert.

Für die Bestimmung des Zuckers, der als Glukose berechnet wurde, wurden jeweils  $5 \text{ cm}^3$  des immer auf  $100 \text{ cm}^3$  aufgefüllten Pflanzenextraktes verwendet. Alle Bestimmungen wurden vierfach mit je 30 bis 40 Keimlingen ausgeführt. Die gefundenen Glukosewerte stimmten gut miteinander überein.

Die Bestimmung der wasserlöslichen Polysaccharide geschah nach S t r e p k o v (55) durch Hydrolyse von  $5 \text{ cm}^3$  Pflanzenextrakt mit

0,5 cm<sup>3</sup> konzentrierter Salzsäure im Wasserbad von 68—70° C während 8 Minuten. Nach dem Abkühlen wurde mit Natronlauge neutralisiert und der Gehalt an Zucker nach H a g e d o r n - J e n s e n (ausgedrückt als Glukose) bestimmt.

## 2. Stickstoff.

Der Totalstickstoff wie auch der koagulierbare und der wasserlösliche Stickstoff wurden mit Hilfe der Mikrokjeldahlmethode bestimmt. Die Keimlinge wurden bei der Bestimmung des Totalstickstoffes im Aufschlußkölbchen von 150 cm<sup>3</sup> Inhalt mit 3 cm<sup>3</sup> konzentrierter Schwefelsäure über der Flamme während 3½ Stunden verascht. Als Katalysator wurde dabei eine Messerspitze eines Gemisches aus einem Teil Selen und sieben Teilen Kaliumsulfat verwendet. Da bei den Untersuchungen von B l a c k m a n und T e m p l e m a n (3) beim Aufschluß des organischen Materials mit Selen als Katalysator durchschnittlich um 6,5 % höhere Stickstoffwerte gefunden wurden, wurde auch hier Selen dem Kupfersulfat als Katalysator vorgezogen!

Die Destillation des beim Aufschluß entstandenen Ammonsulfates geschah in der von P r e g l (45) beschriebenen Destillationsapparatur nach Parnas und Wagner.

Zur Freisetzung des Ammoniaks wurden der mit destilliertem Wasser verdünnten Aufschlußflüssigkeit 18 cm<sup>3</sup> 30prozentige Natronlauge zugesetzt. Als Vorlage diente jeweils n/70 Schwefelsäure, der drei Tropfen Methylrot als Indikator beigegeben wurden. Nach beendeter Destillation wurde mit n/70 Natronlauge titriert.

Die Trennung des koagulierbaren vom wasserlöslichen Stickstoff erfolgte durch Fällung mit Gerbsäure, wie wir sie bereits bei einer früheren Untersuchung (4) angewendet hatten: Die Keimlinge wurden unter Zusatz einiger Tropfen Toluol zerrieben. Dann wurden 10 cm<sup>3</sup> kochende 4prozentige Gerbsäurelösung und 2 cm<sup>3</sup> 0,1prozentige Schwefelsäure zugesetzt. Die Koagulation trat immer sofort ein. Nach 15 Minuten Stehenlassen wurden 10 cm<sup>3</sup> und nach weiteren 15 Minuten abermals 10 cm<sup>3</sup> absoluter Alkohol hinzugefügt. Darauf wurde durch ein gehärtetes Filter (Schleicher und Schüll, Nr. 602) filtriert und mit destilliertem Wasser so lange ausgewaschen, bis das im Meßkolben aufgefangene Filtrat genau 100 cm<sup>3</sup> ausmachte. Es wurden dann einerseits genau 50 cm<sup>3</sup> des Filtrates und andererseits der Filtrerrückstand der Mikrokjeldahlbestimmung unterworfen. Der Stickstoffgehalt des Filtrerrückstandes wurde als koagulierbarer und derjenige des ganzen Filtrates als wasserlöslicher Stickstoff bezeichnet.

Die Bestimmungen wurden alle doppelt durchgeführt. Wie in der bereits erwähnten früheren Arbeit ergaben sich auch hier wieder Kontrollmöglichkeiten unserer Versuchsergebnisse durch Vergleich des gefundenen Totalstickstoffes mit der Summe von koagulierbarem und

wasserlöslichem Stickstoff. Die gleiche gegenseitige Kontrolle wurde auch für die Bestimmung des Stickstoffgehaltes von Hypokotyle und Wurzel einerseits und der Kotyledonen anderseits angewendet.

### 3. Anthocyan.

Da einerseits der Farbstoff nur in sehr geringer Menge in den Keimlingen vorhanden ist, und anderseits die Fällung der Anthocyane mit Bleisalzen keine quantitative Methode darstellt, kann für eine exakte Bestimmung des Rotkohlanthocyan nur die Kolorimetrie in Frage kommen. Da es uns aber daran lag, absolute Werte — und nicht wie *Karstens* (22) relative Werte — zu erhalten, mußte das Anthocyan zur Aufstellung der Eichkurven isoliert werden.

Zu diesem Zweck wurde der Rotkohl geschnitten, bei 60° im Luftstrom getrocknet und dann fein gemahlen. In Anlehnung an die Arbeitsvorschriften von *Chmielewska* (5) wurde jeweils 1 kg Rotkohlmehl mit 2½ Liter Methanol, das 2 % Chlorwasserstoff enthielt, übergossen. Nach 16 Stunden wurde die kirschrot gefärbte Flüssigkeit abfiltriert und der Filtrückstand auf der Nutsche mit chlorwasserstoffhaltigem Methanol ausgewaschen. Die Filtrate wurden zusammengegossen. Der Farbstoff wurde dann mit dem doppelten Volumen Äther gefällt. Nach zweistündigem Stehenlassen wurde die schwach gefärbte Lösung dekantiert und die abgeschiedene dunkle Masse in 500 cm<sup>3</sup> warmes Methanol aufgenommen. Einen Tag später wurde der ungelöste Teil, der fast ausschließlich Mineralsalze enthielt, abfiltriert und der Farbstoff aus dem Filtrat mit dem vierfachen Volumen Äther erneut ausgefällt. Die ausgefallene Masse wurde in 500 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und der Farbstoff durch Eintropfen von wässriger neutraler Bleiacetatlösung (1 Teil Bleiacetat und 2 Teile Wasser) unter ständigem Umrühren in das Bleisalz übergeführt. Zuerst fielen die Verunreinigungen, hauptsächlich Bleichlorid, aus. Nach Zugabe eines Teiles der Bleiacetatlösung wurde dieser Niederschlag abfiltriert und das Filtrat so lange mit Bleiacetat versetzt, bis die Lösung einen blauvioletten Farbton aufwies. Nach 24 Stunden wurde das blaugefärbte Bleisalz des Anthocyan abfiltriert, auf der Nutsche mit Methanol gewaschen und dann mit Methanol ausgekocht, um weitere Verunreinigungen mineralischer Natur auszuwaschen. Um das Bleisalz darauf wieder in das Chlorid überzuführen, wurde es mit Methanol, das 3 % Chlorwasserstoff enthielt, geschüttelt, und das abgeschiedene Bleichlorid abfiltriert. Das Filtrat wurde dann in die zehnfache Menge Äther eingetrofft. Der harzige Niederschlag erstarrte als dunkelrote, glasige Masse. Sie ließ sich leicht pulverisieren. Die Ausbeute aus einem Kilogramm gemahlenen Rotkohl betrug 8—9 Gramm Anthocyan. Enthielt das Farbstoffchlorid noch Asche, dann wurde der ganze Reinigungsprozeß wiederholt, das Farbstoffchlorid in Wasser auf-

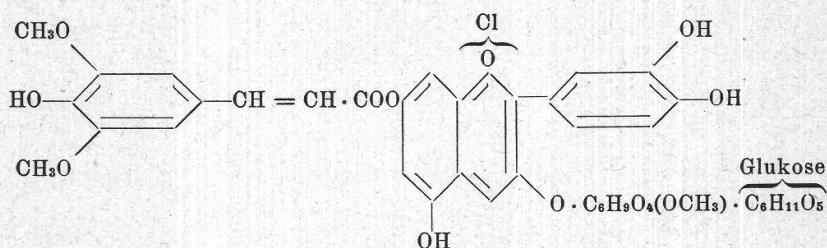
gelöst und nochmals in Bleisalz überführt und wieder ins Farbstoffchlorid zurückgeführt.

Der Rohfarbstoff wurde dann in heißem Methanol, das 1 % Chlorwasserstoff enthielt, aufgenommen und 5 Tage in Exsikkator über Äther stehengelassen. Der Farbstoff schied sich in kleinen, roten Kügelchen aus. Er wurde abfiltriert und auf der Nutsche mit Äther gewaschen. Dieser Reinigungsprozeß wurde mehrmals wiederholt.

Bekanntlich besteht das Anthocyan vieler Pflanzen (21) aus einem Gemisch in ihrer Konstitution etwas verschiedener Farbstoffe. Es wurde deshalb versucht, ein eventuell vorliegendes Gemisch mit Hilfe der chromatographischen Adsorptionsanalyse zu trennen. Die Chromatogramme wurden an Aluminiumoxyd, Gips und Talkum hergestellt; doch blieben diese Trennungsversuche erfolglos.

Nach den Untersuchungen von *Chmielewska* und Mitarbeiterinnen (6, 7) soll der Farbstoff nur aus einem Anthocyan bestehen, das mit Sinapinsäure (4-Oxy-3,5-dimethoxy-zimtsäure) verestert ist und zwei reduzierende Zuckermoleküle an noch nicht genau festgelegten Stellen des Cyanidins enthält. Das eine Zuckermolekül ist Glukose. Der andere Zucker ist noch nicht identifiziert. Er besitzt eine spezifische Drehung, die annähernd so groß wie die der Glukose ist und reduziert Fehlingsche Lösung. Mit Phenylhydrazin bildet dieser Zucker unter normalen Verhältnissen kein Osazon. Bei den Bedingungen der Glukosidhydrolyse verliert er eine Methyl- bzw. Methoxygruppe.

In ihrer letzten Veröffentlichung schlagen *Chmielewska* und Mitarbeiterinnen (7) folgende Formel für das Anthocyan des Rotkohls vor :



Das Chlorid des Farbstoffes wird als Rubrobrassicinchlorid bezeichnet.

Es ist möglich, daß mindestens zwei Anthocyane im Rotkohl vorhanden sind. Bei der Abspaltung der Zucker mit 20prozentiger Salzsäure und durch drei Minuten langes Kochen wurden immer zwei Anthocyanidine erhalten : das eine Anthocyanidin löste sich in heißer, verdünnter Salzsäure, das andere war darin unlöslich, letzteres löste sich aber in Methanol. Dieser Befund bedarf noch einer genaueren Abklärung.

Die Menge des reduzierenden Zuckers stimmte bei unsern Untersuchungen mit dem von *Chmielewska* (5) angegebenen Wert über-

ein; statt der theoretisch geforderten Menge von 37,2 % wurden 35,4 % reduzierende Zucker gefunden.

Für unsere physiologischen Untersuchungen war es gleichgültig, ob ein Anthocyan oder mehrere dieser Farbstoffe im Rotkohl vorliegen. Zur Aufstellung der Eichkurven für die kolorimetrische Bestimmung mußte ohnehin das isolierte Anthocyan gemisch benützt werden. Auch die Zuckerzahl ist die des Farbstoffgemisches, falls wirklich ein solches vorliegen sollte.

Nun hätte noch eine Schwierigkeit bestehen können. Das Farbstoffgemisch im ausgewachsenen Rotkohlkopf hätte mit dem des Keimlings nicht identisch zu sein brauchen. Glücklicherweise erwies sich diese Befürchtung als unbegründet. Die Absorptionskurve des isolierten Farbstoffes stimmte mit der des Extraktes bei der Aufnahme im Pulfrich-Photometer überein.

Zur quantitativen Extraktion des Farbstoffes wurden die Keimlinge mit Sand im Porzellanmörser vollkommen zerrieben. Der Farbstoff wurde dann in einer Bezugslösung nach Veibel (6,71 Gramm Kaliumchlorid in einem Liter n/100 Salzsäure gelöst;  $\text{pH} = 2,04$ ) aufgenommen und durch ein mit Kieselgur getränktes Filter (Schleicher und Schüll, Nr. 287) filtriert. Die Filter wurden mit dem Lösungsmittel ausgewaschen und das Filtrat immer auf 100 cm<sup>3</sup> aufgefüllt. Mit chlorwasserstoffhaltigem Methanol konnte nach dem Auswaschen kein Farbstoff mehr aus dem Filter extrahiert werden.

Die Eichkurven wurden für 3 und 5 cm Schichtdicke mit dem Grünfilter S 53 (Filterschwerpunkt bei 530 m  $\mu$ ) im Pulfrich-Photometer aufgenommen. Das Anthocyan war für diesen Zweck vorher über Phosphorpentoxyd im Vakuum bei 70° C getrocknet worden.

Für jede Analyse wurden 40—50 Keimlinge verwendet. Jede Bestimmung wurde mindestens einmal, oft zweimal wiederholt. Die Verwendung verschiedener Schichtdicken (3 und 5 cm) bei der Bestimmung ergab eine gegenseitige Kontrollmöglichkeit der gefundenen Analysenwerte !

### III. Quantitative Untersuchungen an Dunkelkeimlingen.

Bevor wir die Ergebnisse unserer chemischen Untersuchungen bekanntgeben, sei noch kurz auf einige morphologische Besonderheiten der Rotkohlkeimlinge hingewiesen. Der größte Teil des Rotkohlsamens besteht aus den beiden Kotyledonen. Sie enthalten kein Anthocyan. Die Hypokotyle ist im Samen mit bloßem Auge kaum sichtbar und besitzt ebenfalls keinen roten Farbstoff.

Bei der epigäischen Keimung entstand das Anthocyan zuerst in den Keimblättern. Erst später erschien dieser Farbstoff auch im Hypokotyl. In der Wurzel entstand nie Anthocyan. Die histologische Unter-



suchung der Querschnitte ergab, daß das Anthocyan sowohl im Hypokotyl als auch in den Kotyledonen sich immer nur in der Vakuole der subepidermalen Schicht befindet. Es hatte zwar oft — von außen betrachtet — den Anschein, als ob der Farbstoff in den Leitungsbahnen der Keimblätter lokalisiert sei oder wenigstens darin wandere; doch widersprach die histologische Untersuchung dieser Vermutung.

Ebenso charakteristisch wie die Beschränkung des Anthocyans auf die subepidermale Schicht ist das Vorkommen kleiner und großer Kügelchen im Zellsaft der Vakuole. Diese Kügelchen bestehen entweder aus Anthocyan oder sind durch diesen Farbstoff gefärbt. Gewöhnlich werden einige große Kügelchen in der Vakuole von vielen kleinen Kügelchen, die sich in lebhafter Brownscher Bewegung befinden, umgeben. Ähnliche Beobachtungen hat bereits Molisch (36) an Rotkohlesophyll « knapp unter der Oberhaut des Blattes » gemacht; doch konnten in allen unseren Schnitten weder die von Molisch beobachteten Prismen, Nadeln noch anders geformte Kristalle des Anthocyans gefunden werden. Dieser Unterschied durfte natürlich nicht überraschen, denn Molisch hat offenbar Blätter des ausgewachsenen Rotkohlkopfes untersucht.

Das Auftreten rot gefärbter Kügelchen ist verschiedentlich bei andern Pflanzen beobachtet worden. So hat Bancher (1) im Zellsaft von *Iris Reichenbachii* dunkelviolette Kugeln von verschiedener Größe und Zahl gefunden. Eine ähnliche Beobachtung wurde von Lisbeth Schorr (50) für *Vicia sepium* beschrieben. In ihrer Arbeit findet sich auch eine Anzahl einschlägiger Literaturangaben.

Ob es sich bei unsern Beobachtungen um reine Anthocyanaggregate handelt, wie es Molisch (36) annimmt, oder um gefärbte Cytoplasmakugeln nach Scharringer (49) oder aber um Anthocyanophoren, wie sie Lippmaa (33) bei *Erythrea*-Arten beschrieben hat, konnte nicht einwandfrei festgestellt werden. Eine genaue zytologische und mikrochemische Analyse könnte vielleicht mehr Aufklärung über diese ungewöhnliche Verteilung des Anthocyans geben<sup>1</sup>.

Um den Einfluß verschiedener Temperaturen auf die Physiologie des Anthocyans in unsere Versuche miteinzubeziehen, wurden jeweils zwei Versuchsreihen in folgender Weise angelegt: Die Keimschalen mit den sterilisierten Rotkohlsamen wurden zuerst in einen Thermostat mit einer Temperatur von 20° C gestellt. Nach 72 Stunden wurden dann die Schalen — je nach der betreffenden Versuchsreihe — in andere Thermo-

---

<sup>1</sup> Anmerkung bei der Korrektur: Favarger hat in einer Arbeit (Bull. Soc. Neuchâteloise des Sciences Naturelles, 66, 113—120, 1941), die uns leider erst nach der Drucklegung bekannt wurde, das Auftreten der Anthocyan-Kügelchen im Zellsaft von Rotkohlblättern näher untersucht.

steten von 10° oder 30° C gebracht. Die Entwicklung der Rotkohlkeimlinge unter diesen Bedingungen gibt Tabelle 1 wieder, wobei die Länge der Keimlinge jeweils von der Ansatzstelle des Hypokotyls am Wurzelhals bis zur obersten Grenze der gestreckten Kotyledonen gemessen wurde. Die Zeit wurde immer von der Auslegung der Samen an gemessen.

Tabelle 1.  
Wachstumsgeschwindigkeit der Keimlinge bei 10° und 30° C.

Länge der Keimlinge	Bei 10° C	Bei 30° C
	Nach	
20 mm . . . .	6 Tagen	4 Tagen
30 mm . . . .	7 »	5 »
40 mm . . . .	11 »	7 »
55 mm . . . .	16 »	9 »
65 mm . . . .	19 »	11 »
80 mm . . . .	34 »	13 »

Die in der oben angegebenen Weise durchgeführten Versuchsreihen mit Dunkelkeimlingen ergaben für das Anthocyan, die Zucker- und die Stickstoff-Fractionen folgende Resultate :

a) Ergebnisse der Anthocyan-Analysen.

Zuerst wurde der Anthocyangehalt ganzer Keimlinge bestimmt, um überhaupt einmal die absolute Größe des Anthocyangehaltes in den Keimpflanzen festzustellen. Nach diesen Analysen erschien es uns wünschenswert, auch den Anthocyangehalt der Keimblätter und des Hypokotyls zu bestimmen. Wir erwarteten von diesen Bestimmungen einige Hinweise auf die Bildung und Wanderung des Farbstoffes in den Keimpflanzen. Die gefundenen Werte sind in Tabelle 2 angegeben :

Tabelle 2.  
Anthocyangehalt von Hypokotyl + Wurzel, Kotyledonen und ganzen Keimlingen in verschiedenen Entwicklungsstadien bei 10° und 30° C.

Entwicklungsstadien der Keimlinge	Anthocyangehalt in $\gamma$					
	10°			30°		
	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen	Keimling	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen	Keimling
Samen	—	—	—	—	—	—
20 mm	8,5	5,9	14,6	6,9	5,0	12,1
30 mm	6,6	4,8	11,7	8,3	8,0	16,2
40 mm	7,2	4,2	11,4	7,3	7,1	14,3
55 mm	5,5	3,3	8,7	7,0	5,4	12,5
65 mm	4,0	3,0	7,2	7,0	4,4	11,3
80 mm	3,5	2,8	6,5	6,7	3,1	9,4

Es war schon in Vorversuchen (13) aufgefallen, daß der Gehalt an Anthocyan im Hungerstoffwechsel abnahm. Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, wurde diese Beobachtung durch die quantitative Anthocyanbestimmung bestätigt. Die Menge des Farbstoffes nimmt sowohl bei 10° als auch bei 30° zuerst zu, um dann fortlaufend wieder abzunehmen. Die Zunahme des Anthocyans, die hier mit seiner Bildung offenbar identisch war, hielt bei höherer Temperatur länger an. Bei 10° war im Entwicklungszustand von 30 mm Länge eine Abnahme festzustellen; bei 30° C erreichte dagegen der Farbstoffgehalt bei dieser Länge erst sein Maximum. Hieraus ging auch bereits klar hervor, daß die Keimlinge, die bei 30° C wuchsen, mehr Anthocyan enthielten als die bei 10° C.

Ganz ähnlich wie die Keimlinge verhielten sich auch die Kotyledonen und das Hypokotyl + die Wurzel bezüglich des Anthocyangehaltes. (Obwohl die Wurzel kein Anthocyan enthält, wird hier immer von Hypokotyl + Wurzel gesprochen, da auch bei den Zucker- und Stickstoffanalysen immer Hypokotyl + Wurzel zusammen analysiert worden sind.) Eine Abnahme des Anthocyangehaltes war in den einzelnen Organen bei 10° C bereits von 20 mm Länge an festzustellen. Bei Keimlingen, die bei einer Temperatur von 30° C wuchsen, nahm dagegen das Anthocyan im Hypokotyl und in den Kotyledonen zu. Erst von diesem Entwicklungsstadium an zeigte sich eine stetige Abnahme des Farbstoffgehaltes.

Die Geschwindigkeit der Farbstoffabnahme war bei Hypokotyl + Wurzel und den Kotyledonen verschieden. In beiden Versuchsreihen wurde eine schnellere Abnahme des Anthocyans in den Kotyledonen beobachtet. Diese Tatsache könnte eventuell auf einer Abwanderung des Farbstoffes aus den Keimblättern beruhen. Darauf wird später noch zurückzukommen sein.

#### b) Ergebnisse der Zuckeranalysen.

Der Rotkohlsamen enthielt — ausgedrückt in Glukose — 0,278 mg wasserlösliche Monosaccharide und 0,592 mg wasserlösliche Mono- + Polysaccharide. Letztere machten also 0,314 mg im Samen aus. Der Samen selbst wog im Durchschnitt 4,6 mg. Die wasserlöslichen Monosaccharide betragen daher 6,4 %, die wasserlöslichen Polysaccharide 6,8 % des trockenen Samens.

Bei den Zuckerbestimmungen der Keimlinge lagen je nach Entwicklungsstadium 90—94 % der Zucker als wasserlösliche Monosaccharide vor. Aus diesem Grunde wurden in der Folge die wasserlöslichen Polysaccharide nicht bestimmt. Hefe konnte 89—95 % der im Pflanzenextrakt enthaltenen und das Ferrocyankalium reduzierenden Substanzen vergären. Hieraus ergab sich, daß die reduzierenden Substanzen des Pflanzenextraktes vorwiegend aus durch Hefe vergärbaren Zuckern be-

standen. (Obwohl unsere Analysen den Gehalt an reduzierenden Substanzen angeben, werden sie im folgenden aus den eben aufgezählten Gründen als Zucker-Bestimmungen wiedergegeben.)

Tabelle 3 gibt den Gehalt der Keimlinge an wasserlöslichen Monosacchariden — ausgedrückt als Glukose — an.

Tabelle 3.

Gehalt an wasserlöslichen Monosacchariden — ausgedrückt in Glukose — in verschiedenen Entwicklungsstadien bei 10° und 30° C.

Entwicklungsstadien der Keimlinge	Zuckergehalt in $\gamma$					
	10°			30°		
	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen	Keimling	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen	Keimling
Samen	—	—	278	—	—	278
20 mm	526	301	827	487	343	825
30 mm	535	259	794	448	269	717
40 mm	462	227	689	431	266	697
55 mm	343	212	555	382	246	628
65 mm	284	194	474	334	218	552
80 mm	138	121	259	317	170	487

Die Bildung der wasserlöslichen Monosaccharide in den ersten Stadien der Keimung war beträchtlich. In beiden Versuchsreihen war der Gehalt an diesen Zuckern in Keimlingen von 20 mm Länge rund dreimal so groß wie im ungekeimten Samen. Berücksichtigt man, daß ein Teil der mobilisierten Zucker veratmet und ein anderer Teil z. B. für den Aufbau neuer Zellwände in Hypokotyl und Wurzel verbraucht wurde, so muß man bereits am Anfang der Keimung eine außerordentliche Intensität bei der Mobilisation der Kohlehydrate feststellen.

Mit einer Ausnahme (Hypokotyl + Wurzel, 10° C, 20 mm Länge) war in allen Fällen bereits von 20 mm Länge an eine deutliche Abnahme des Zuckergehaltes in allen Organen und im ganzen Keimling zu beobachten. In den Kotyledonen war die Abnahme des Zuckers in beiden Versuchsreihen größer als im Hypokotyl und der Wurzel zusammen. Die Wanderung des Zuckers aus den Kotyledonen in das Hypokotyl und die Wurzel erfolgte also mit größerer Geschwindigkeit als der Zuckerverbrauch in den beiden letztgenannten Organen.

Daß bei einem Entwicklungsstadium von 80 mm Länge der Zuckergehalt in den Keimlingen, die bei 10° wuchsen, kleiner ist als in den bei 30° gewachsenen, durfte nicht überraschen; denn die ersteren Keimlinge benötigten nach Tabelle 1 21 Tage mehr, um das gleiche Entwicklungsstadium zu erreichen.

c) Ergebnisse der Stickstoffanalysen.

Der Samen enthielt 189  $\gamma$  Gesamtstickstoff. Der koagulierbare Stickstoff betrug 166  $\gamma$ , die Bestimmung des wasserlöslichen Stickstoffes ergab 19  $\gamma$ . Der Totalstickstoff machte also 4,1 %, der koagulierbare 3,6 % und der wasserlösliche Stickstoff 0,4 % des Samengewichtes aus. Der Stickstoffgehalt im Samen ist bedeutend niedriger als der Gehalt an Kohlehydraten, besonders wenn man berücksichtigt, daß neben den wasserlöslichen Zuckern noch bedeutende Kohlehydratreserven in Form von Stärke vorhanden sind.

In Tabelle 4 ist der Gehalt ganzer Pflanzen an Total-Stickstoff, koagulierbarem und wasserlöslichem Stickstoff angegeben. Es geht daraus hervor, daß die Menge des Gesamtstickstoffes in allen Keimlingen bis zu einem Entwicklungsstadium von 80 mm Länge ungefähr gleich groß war. Die leichte Erhöhung des Stickstoffgehaltes in den Keimlingen könnte — wenn man eine direkte Assimilation des Luftstickstoffes durch Rotkohlkeimlinge nach herrschender Lehrmeinung ausschließen will — z. B. auf der Bildung von stickstoffhaltigen Verbindungen bei der Keimung beruhen, deren Stickstoff vorher nicht mit der Kjeldahlmethode erfaßt worden war.

Tabelle 4.

Gehalt ganzer Keimlinge an koagulierbarem, wasserlöslichem und Gesamtstickstoff in verschiedenen Entwicklungsstadien bei 10° und 30° C.

Entwicklungsstadien der Keimlinge	Stickstoffgehalt in $\gamma$					
	10°			30°		
	koagulierbarer Stickstoff	wasserlöslicher Stickstoff	Gesamtstickstoff	koagulierbarer Stickstoff	wasserlöslicher Stickstoff	Gesamtstickstoff
Samen	166	19	189	166	19	189
20 mm	134	54	191	124	65	195
30 mm	120	68	195	113	65	203
40 mm	116	84	201	104	80	193
55 mm	99	100	193	97	92	202
65 mm	90	110	194	96	95	194
80 mm	90	105	193	100	96	193

Die Mobilisation der Stickstoffverbindungen, wie sie sich in dem Verhältnis von koagulierbarem zu wasserlöslichem Stickstoff ausdrückt, zeigte keine Verschiedenheiten in beiden Versuchsreihen. Die gefundenen Werte wiesen für alle Stickstoff-Fraktionen keine wesentlichen Unterschiede auf.

Auch die Verteilung des Gesamtstickstoffes auf die einzelnen Organe zeigte bei 10° und 30° C keine großen Unterschiede (Tabelle 5). Dagegen war die Wanderung des Stickstoffes aus den Kotyledonen ins Hypokotyl und in die Wurzel bei 30° nicht so stark wie in den bei 10° gezogenen Pflanzen. Die Differenz war sicherlich durch die längere Wachstumszeit, ähnlich wie bei der Abnahme der Zucker (s. S. 560), bedingt.

Tabelle 5.

Gesamtstickstoffgehalt von Hypokotyl + Wurzel und Kotyledonen in verschiedenen Entwicklungsstadien bei 10° und 30° C.

Entwicklungsstadien der Keimlinge	Stickstoffgehalt in $\gamma$			
	10°		30°	
	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen
Samen . . .	—	—	—	—
20 mm . . .	67	116	71	108
30 mm . . .	75	113	74	111
40 mm . . .	89	100	81	103
55 mm . . .	93	93	84	101
65 mm . . .	105	89	86	90
80 mm . . .	115	75	106	80

Tabelle 6 gibt die gefundenen Werte für Keimlinge, die bei 10° C wuchsen, aufgeteilt in koagulierbaren und wasserlöslichen Stickstoff, wieder.

Tabelle 6.

Gehalt von Hypokotyl + Wurzel und Kotyledonen an koagulierbarem und wasserlöslichem Stickstoff in verschiedenen Entwicklungsstadien bei 10° C.

Entwicklungsstadien der Keimlinge	Stickstoffgehalt in $\gamma$			
	Hypokotyl + Wurzel		Kotyledonen	
	koagulierbarer Stickstoff	wasserlöslicher Stickstoff	koagulierbarer Stickstoff	wasserlöslicher Stickstoff
Samen . . .	—	—	—	—
20 mm . . .	37,5	39	85	31
30 mm . . .	34	47	81	35
40 mm . . .	34	55	65	33
55 mm . . .	35	64	53	36
65 mm . . .	34	69	52	35
80 mm . . .	39	72	48	35

Die entsprechenden Werte für die Keimlinge, die bei einer Temperatur von 30° C wuchsen, sind aus Tabelle 7 ersichtlich.

Tabelle 7.

Gehalt von Hypokotyl + Wurzel und Kotyledonen an koagulierbarem und wasserlöslichem Stickstoff in verschiedenen Entwicklungsstadien bei 30° C.

Entwicklungsstadien der Keimlinge	Stickstoffgehalt in $\gamma$			
	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen
	koagulierbarer Stickstoff	wasserlöslicher Stickstoff	koagulierbarer Stickstoff	wasserlöslicher Stickstoff
Samen . . .	—	—	—	—
20 mm . . .	35	35	86	23
30 mm . . .	33	34	82	28
40 mm . . .	34	47	79	28
55 mm . . .	38	50	73	32
65 mm . . .	41	60	63	31
80 mm . . .	42	65	55	29

Die Tabellen 6 und 7 bestätigen also die bereits aus Tabelle 5 ersichtlichen, geringen Unterschiede. Es gilt für sie das bereits auf S. 560 und S. 562 Gesagte.

Eine interessante Feststellung betrifft noch den koagulierbaren Stickstoff in den Kotyledonen und den wasserlöslichen Stickstoff in Hypokotyl + Wurzel. Die Summe dieser beiden Stickstoff-Fractionen ist in allen Entwicklungsstadien sowohl bei 10° als auch bei 30° C konstant. Sie beträgt im Durchschnitt aller Entwicklungsstadien 122  $\gamma$ .

#### d) Verhältnis von Anthocyan- zu Zuckergehalt.

Die Untersuchung des Verhältnisses Anthocyan/Zucker gehörte zu den Zielen unserer Arbeit. Aus den Ergebnissen der Anthocyan- und Zuckeranalysen ließ sich dieses Verhältnis errechnen; es ist in Tabelle 8 wiedergegeben.

Tabelle 8.

Verhältnis von Anthocyan zu wasserlöslichen Monosacchariden in verschiedenen Entwicklungsstadien bei 10° und 30° C.

Entwicklungsstadien der Keimlinge	Verhältnis von Anthocyan zu wasserlöslichen Monosacchariden					
	10°			30°		
	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen	Keimling	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen	Keimling
Samen	—	—	—	—	—	—
20 mm	1 : 61,9	1 : 51	1 : 56,6	1 : 70,7	1 : 68,6	1 : 68,2
30 mm	1 : 81,1	1 : 54	1 : 67,8	1 : 53,9	1 : 33,6	1 : 44,3
40 mm	1 : 64,2	1 : 54	1 : 60,4	1 : 59	1 : 37,5	1 : 48,7
55 mm	1 : 62,4	1 : 64,2	1 : 63,3	1 : 54,6	1 : 45,5	1 : 50,2
65 mm	1 : 71	1 : 64,7	1 : 65,8	1 : 47,7	1 : 49,5	1 : 48,8
80 mm	1 : 39,3	1 : 43,2	1 : 39,8	1 : 47,3	1 : 54,8	1 : 52,8

Aus der Tabelle 8 geht eindeutig hervor, daß zwischen dem Anthocyan- und Zuckergehalt weder in Hypokotyl + Wurzel noch in den Kotyledonen, noch in dem ganzen Keimling ein konstantes Verhältnis besteht. Diese Feststellung gilt für die bei 10° und 30° durchgeführten Versuchsreihen.

e) Verhältnis von Anthocyan- zu Stickstoffgehalt.

Das Verhältnis von Anthocyan- und Stickstoffgehalt der ganzen Keimlinge zeigte sowohl bei Bezug auf Total-Stickstoff als auch bezüglich des koagulierbaren und wasserlöslichen Stickstoffes — Tabelle 9 — keine Konstanz bei 10° und 30° C.

Tabelle 9.

Verhältnis von Anthocyan zu koagulierbarem, wasserlöslichem und Gesamtstickstoff in verschiedenen Entwicklungsstadien bei 10° und 30° C.

Entwicklungsstadien der Keimlinge	Verhältnis von Anthocyan zu					
	koagulierbarem Stickstoff	wasserlöslichem Stickstoff	Gesamtstickstoff	koagulierbarem Stickstoff	wasserlöslichem Stickstoff	Gesamtstickstoff
	10°			30°		
Samen	—	—	—	—	—	—
20 mm	1 : 9,3	1 : 3,7	1 : 13,3	1 : 10,4	1 : 5,5	1 : 16,3
30 mm	1 : 10,5	1 : 5,9	1 : 17,1	1 : 6,9	1 : 4	1 : 12,4
40 mm	1 : 10,2	1 : 7,3	1 : 17,7	1 : 7,2	1 : 5,5	1 : 13,4
55 mm	1 : 11,3	1 : 11,3	1 : 21,9	1 : 7,8	1 : 7,4	1 : 16,3
65 mm	1 : 12,9	1 : 15,7	1 : 27,7	1 : 8,4	1 : 8,4	1 : 17
80 mm	1 : 14,3	1 : 16,6	1 : 30,6	1 : 10,2	1 : 9,8	1 : 19,8



Für die einzelnen Organe ergaben sich bei 10° C folgende Verhältnisse (Tabelle 10) :

Tabelle 10.

Verhältnis von Anthocyan zu koagulierbarem und wasserlöslichem Stickstoff in Hypokotyl + Wurzel und in den Kotyledonen in verschiedenen Entwicklungsstadien bei 10° C.

Entwicklungsstadien der Keimlinge	Verhältnis von Anthocyan zu			
	koagulierbarem Stickstoff		wasserlöslichem Stickstoff	
	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen
Samen . . .	—	—	—	—
20 mm . . .	1 : 4,4	1 : 14,4	1 : 4,6	1 : 5,3
30 mm . . .	1 : 5,2	1 : 16,9	1 : 7,1	1 : 7,3
40 mm . . .	1 : 4,7	1 : 15,5	1 : 7,6	1 : 7,9
55 mm . . .	1 : 6,0	1 : 16	1 : 11,6	1 : 10,9
65 mm . . .	1 : 8,5	1 : 17,3	1 : 18,3	1 : 11,7
80 mm . . .	1 : 11,2	1 : 17,1	1 : 20,5	1 : 12,5

Die Werte für Keimlinge, die bei 30° C wuchsen, sind folgende (Tabelle 11) :

Tabelle 11.

Verhältnis von Anthocyan zu koagulierbarem und wasserlöslichem Stickstoff in Hypokotyl + Wurzel und in den Kotyledonen in verschiedenen Entwicklungsstadien bei 30° C.

Entwicklungsstadien der Keimlinge	Verhältnis von Anthocyan zu			
	koagulierbarem Stickstoff		wasserlöslichem Stickstoff	
	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen
Samen . . .	—	—	—	—
20 mm . . .	1 : 5,1	1 : 17,2	1 : 5,1	1 : 4,6
30 mm . . .	1 : 4	1 : 10,3	1 : 4,1	1 : 4
40 mm . . .	1 : 4,8	1 : 10,1	1 : 6,4	1 : 3,9
55 mm . . .	1 : 5,6	1 : 13,5	1 : 7,1	1 : 5,9
65 mm . . .	1 : 5,9	1 : 17,5	1 : 8,6	1 : 7,5
80 mm . . .	1 : 6,3	1 : 17,7	1 : 9,7	1 : 9,4

In den verschiedenen Organen der Keimlinge lag, wie aus den beiden vorgehenden Tabellen ersichtlich ist, kein konstantes Verhältnis weder von Anthocyan zu koagulierbarem Stickstoff, noch von Anthocyan zu wasserlöslichem Stickstoff vor.

Auch das Verhältnis von Anthocyan/Gesamtstickstoff läßt in den einzelnen Organen bei 10° und 30° C keine direkten Beziehungen erkennen (Tabelle 12) :

Tabelle 12.

Verhältnis von Anthocyan zu Gesamtstickstoff in Hypokotyl + Wurzel und Kotyledonen in verschiedenen Entwicklungsstadien bei 10° und 30° C.

Entwicklungsstadien der Keimlinge	Verhältnis von Anthocyan zu Gesamtstickstoff			
	10°		30°	
	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen
Samen . . .	—	—	—	—
20 mm . . .	1 : 7,9	1 : 19,5	1 : 10,3	1 : 21,6
30 mm . . .	1 : 11,3	1 : 23,5	1 : 8,9	1 : 14,9
40 mm . . .	1 : 12,4	1 : 23,8	1 : 11,1	1 : 14,6
55 mm . . .	1 : 17	1 : 28,2	1 : 12	1 : 18,7
65 mm . . .	1 : 26,2	1 : 28,2	1 : 13,7	1 : 20,5
80 mm . . .	1 : 32,6	1 : 26,7	1 : 15,8	1 : 25,8

Aus den Tabellen 9—12 ist in keinem Falle eine Gesetzmäßigkeit im Verhältnis von Anthocyan zu den untersuchten Stickstoff-Fractionen ersichtlich.

#### IV. Einfluß der Temperatur auf die Anthocyanbildung.

Die schon beschriebenen Versuchsreihen hatten deutlich den Einfluß der Temperatur auf die Anthocyanbildung dargetan. Es schien jedoch wünschenswert, den Temperatureinfluß genauer zu untersuchen

Tabelle 13.

Anthocyanengehalt von Dunkelkeimlingen (Hypokotyl + Wurzel und Kotyledonen) bei 10°, 20° und 30° C.

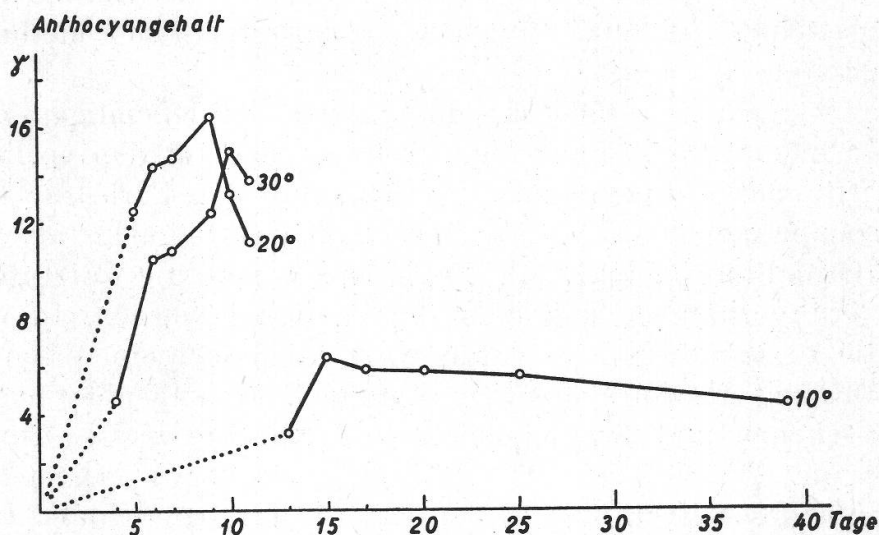
Entwicklungsstadien der Keimlinge	Anthocyanengehalt in $\gamma$					
	10°		20°		30°	
	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen	Hypokotyl + Wurzel	Kotyledonen
Samen	—	—	—	—	—	—
20 mm	2,0	1,3	7,1	5,4	2,2	2,5
30 mm	2,0	4,4	8,3	6,0	5,1	5,5
40 mm	2,3	3,6	7,9	6,8	6,0	4,8
55 mm	2,4	3,4	8,2	8,2	6,9	5,5
65 mm	2,4	3,2	8,2	5,0	7,7	7,3
80 mm	2,4	2,0	7,5	3,2	7,1	6,7

und die Versuchspflanzen bei gleicher Temperatur keimen und wachsen zu lassen. Auch in diesen Versuchsreihen wurden nur Dunkelkeimlinge verwendet, um den Einfluß der Assimilation auf die Farbstoffbildung auszuschalten.

In den drei durchgeführten Versuchsreihen war die Anthocyanbildung bei 20° am stärksten. Der Farbstoffgehalt je Keimling war bei 20° höher als bei 10° und 30° C (s. Fig. 1). Außerdem war das Maximum der Farbstoffbildung bei 20° eher als bei den zwei anderen Versuchstemperaturen erreicht.

In den Keimlingen, die bei 10° C wuchsen, wurde nicht einmal die Hälfte des bei 20° und 30° gebildeten Anthocyan gemessen. Einer langsamen Anthocyanbildung entspricht bei 10° C auch eine wesentlich verlangsamt Abnahme des Farbstoffes im Hungerstoffwechsel.

Das Temperaturoptimum für die Farbstoffbildung würde wahrscheinlich bei einer Temperatur zwischen 10° und 30° C liegen.



Figur 1.

Anthocyanengehalt ganzer Keimlinge in verschiedenen Entwicklungsstadien bei 10°, 20° und 30° C. Die aufgetragenen Punkte auf der Abszisse entsprechen den Entwicklungsstadien von 20, 30, 40, 55, 65 und 80 mm.

In Figur 1 sind auf der Abszisse die Entwicklungsstadien der untersuchten Keimlinge in der Anzahl Tage, die zur Erreichung des betreffenden Stadiums nötig waren, ausgedrückt. Die Keimlinge wuchsen, wie aus Figur 1 hervorgeht, bei 20° und 30° C von 30 mm Länge an gleich schnell. Trotzdem waren Bildung und Abnahme des Anthocyan nicht gleich groß. Man kann daraus vielleicht ableiten, daß Bildung und Abnahme des Farbstoffes nicht unbedingt an die Intensität des Wachstums allein gebunden sind.

## V. Bildung und Wanderung des Farbstoffes.

Das Anthocyan entstand bei der Keimung zuerst in den Kotyledonen. Diese Tatsache war ohne weiteres verständlich; denn in den Keimblättern war die Hauptmenge der Reservestoffe aufgespeichert. Das Hypokotyl und das Würzelchen waren im Samen nur sehr klein vorgebildet und enthielten nur geringe Mengen Reservestoffe, um Material für die Farbstoffbildung liefern zu können.

Die Bildung des Farbstoffes fand auch während der Keimung unter völligem Lichtabschluß statt. Radiessamen verhielten sich bei der Keimung in dieser Beziehung gleich.

Mit fortschreitendem Wachstum erschien das Anthocyan auch in den Kotyledonarstielchen und dann im oberen Teil des Hypokotyls. Die abnehmende Intensität der Färbung gegen das untere Ende des Hypokotyls schien darauf hinzuweisen, daß der Farbstoff aus den Kotyledonen durch die Stielchen der Keimblätter ins Hypokotyl wanderte. Versuche, die Wanderung des Anthocyan durch Einführung von Glimmerplättchen zu unterbrechen, scheiterten an methodischen Schwierigkeiten.

Nach Strugger (56) ist das Plasma der lebendigen Zelle für Anthocyan impermeabel. Falls diese Angabe auch für den vorliegenden Fall zutrifft, müßte angenommen werden, daß der Farbstoff in Form einer plasmapermeablen *Vorstufe* aus dem Kotyledonen auswandert, denn auf Grund morphologischer Überlegungen muß die Vorstufe in den Keimblättern vorhanden sein oder dort gebildet werden. In welchem Gewebe die Vorstufe wandern würde, wäre dabei noch eine offene Frage.

Die Bildung des Anthocyan muß dann in der subepidermalen Zellschicht geschehen, und zwar vielleicht in der Weise, wie sie bereits von Keeble und Mitarbeitern (23—27) angegeben wurde. Danach müßte die Vorstufe des Farbstoffes in der subepidermalen Schicht von Fermenten (Dehydrasen, Peroxydasen) in das Anthocyan übergeführt werden. Die Lokalisierung der Fermente auf die subepidermale Schicht in Kotyledonen und Hypokotyl könnte die auffällige topographische Verteilung des Anthocyan erklärlich erscheinen lassen.

In diesem Zusammenhang stellte sich nun die Frage nach der Herkunft und Bildung des Anthocyan bei der Keimung. Photosynthese und Resorption von irgendwelchen Bausteinen — außer Wasser — waren ausgeschaltet. Die Bildung des Farbstoffes bzw. seiner Vorstufe konnte nur aus den im Samen enthaltenen Reservestoffen geschehen.

Die schnelle Bildung des Anthocyan bei der Keimung schien auf einen nicht sonderlich komplizierten Vorgang hinzuweisen. Es gelang dann auch, durch Eintauchen von ungequollenen Rotkohlsamen in eine 1,5—2prozentige wässrige Wasserstoffsperoxydlösung *sofort* eine blauviolette Farbe in der subepidermalen Zellschicht unter Bildung von

Gasbläschen hervorzurufen. Waren die Samen etwas in Wasser gequollen, oder wurden noch ungefärbte Keimlinge eingetaucht, so war die Farbstoffbildung ausgeprägter und der Farbton dunkler. Längeres Verweilen in Wasserstoffsperoxydlösung bewirkte den gleichen Effekt.

Diese Farbstoffbildung konnte beim Eintauchen von Samen in Wasser oder Glukoselösung nicht beobachtet werden. Da das Wasserstoffsperoxyd mit Schwefelsäure stabilisiert war, wurde der gleiche Versuch in Schwefelsäuren verschiedener Konzentration wiederholt — jedoch ohne Erfolg.

Bei der histologischen Untersuchung des gefärbten Samens war die Farbe nur in den Vakuolen der subepidermalen Schicht anzutreffen. Das Plasma dieser Zellen war ungefärbt. Der Zusatz von verdünnter Ammoniaklösung verwandelte den blauvioletten Farbton in gelbgrün.

Der gleiche Versuch gelang auch mit Weißkohlsamen, der bei der Keimung normalerweise kein Anthocyan bildet !

Die Isolierung und Identifizierung dieses künstlich gebildeten Farbstoffes müßte zeigen, ob er mit dem natürlichen Anthocyan identisch ist. Würde dies der Fall sein, so wäre erwiesen, daß die Bildung des Anthocyans bei der Keimung des Rotkohlsamens auf einer Oxydation bzw. Dehydrierung beruhe. Es wäre dann die Möglichkeit gegeben, aus dem Samen das bereits vorgebildete Chromogen zu isolieren und zu identifizieren. Mit Hilfe von Modellversuchen könnte dann die Bildung des Rotkohlfarbstoffes weitgehend abgeklärt werden.

## VI. Besprechung der Ergebnisse.

### Beziehung zwischen Anthocyanbildung und Zuckerstoffwechsel.

O v e r t o n (43) schloß auf Grund seiner Versuche über die Anthocyanbildung bei künstlicher Ernährung mit verschiedenen Zuckerarten, daß « bei einer größeren Anzahl von Pflanzenarten, welche zu den verschiedensten Familien von Monokotyledonen und Dikotyledonen gehören, das Auftreten von rotem Zellsaft in enger Beziehung zum Zuckerreichtum des Zellsaftes steht ». Diese nie exakt bewiesene Hypothese ist von einer großen Anzahl Autoren übernommen worden; jedoch nur wenige haben sie quantitativ zu beweisen gesucht. So hat C o m b e s (8) aus seinen Versuchen den Schluß gezogen, daß die Overtonsche Hypothese zu Recht bestehe. N o a c k (41) hat aber bereits darauf hingewiesen, daß die Schlüsse dieses Autors aus verschiedenen Gründen « nicht beweisend » seien. Auch die Resultate, die J o n e s c o (19) aus seiner Arbeit mit Blüten von *Cobaea scandens* anführt, können — aus methodischen Gründen — die Overtonsche Hypothese nicht erhärten. Das gleiche trifft auch für die histochemischen Befunde K a r s t e n s (22) über eine Beziehung zwischen der Verteilung von Stärke, Zucker und Anthocyan im Buchweizenkeimling zu.

Noack (41) hat in der bereits erwähnten Arbeit angenommen, daß der Zucker nur eine indirekte Wirkung auf die Anthocyanbildung haben kann.

Niemand hat aber bis heute die « Zuckertheorie » so scharf abgelehnt, wie es Lippmaa (32) getan hat. Es gelang ihm, durch künstliche Zuckerezuführung bei verschiedenen Pflanzen neben der Bildung von Anthocyanen auch die der Carotine bzw. Carotinoide zu steigern. Chloroplasten verwandelten sich in Chromoplasten und verliehen so dem Blattgewebe der untersuchten Pflanzen ein bedeutend dunkleres Aussehen. Der Zucker soll nach diesem Autor vor allem als auslösender Faktor für die Anthocyanbildung von Bedeutung sein, eine Auffassung, die später auch Gaßner und Straib (15) und zum Teil auch Molisch und Rouschal (40) geäußert haben.

Die Ergebnisse unserer Versuche (Tabellen 2, 3 und 8) weisen deutlich darauf hin, daß der Zusammenhang zwischen Zuckergehalt und Anthocyanbildung nicht so eng ist, wie von Overton (43) und vielen andern Autoren angenommen wurde. Wohl ist in den Keimlingen, die im allgemeinen mehr Zucker enthielten, auch mehr Anthocyan gebildet worden. Diese Tatsache scheint im ersten Augenblick für die Auffassung Overtons zu sprechen. Wahrscheinlich hängt aber die verstärkte Anthocyanbildung mit der erhöhten Intensität des Stoffwechsels zusammen.

Der Vergleich der Einzelergebnisse spricht jedoch ganz entschieden gegen die « Zuckertheorie ». Wie aus den Tabellen 2 und 3 hervorgeht, beträgt z. B. der Anthocyangehalt von 30 und 40 mm langen Keimlingen bei 10° C 11,7 bzw. 11,4  $\gamma$ . Der Zuckergehalt unterscheidet sich aber in beiden Entwicklungsstadien sehr stark voneinander (794 und 689  $\gamma$ ). Keimlinge von 40 mm Länge (10° C) haben 11,4  $\gamma$  Anthocyan, solche von 65 mm Länge (30° C) besitzen 11,3  $\gamma$  Anthocyan. Ihr Zuckergehalt weist jedoch eine große Differenz auf: im ersteren Falle sind es 689, im zweiten Falle 552  $\gamma$ .

Bezeichnend sind in dieser Hinsicht auch die für Keimlinge bei 30° C gefundenen Werte. Während der Zuckergehalt in ihnen dauernd abnimmt, liegt der Anthocyangehalt in 30, 40 und 55 mm langen Keimlingen über dem Gehalt an Anthocyan im ersten, nach der Keimung untersuchten Entwicklungsstadium. Zucker- und Anthocyangehalt bewegen sich in diesen Entwicklungsstadien also direkt in entgegengesetzter Richtung.

Die Zahl dieser Beispiele könnte noch beliebig vermehrt werden; denn auch in den einzelnen Organen des Keimlings lassen sich aus den gefundenen Resultaten solche Gegensätze im Anthocyan- und Zuckergehalt nachweisen.

Ebenso beweist das Fehlen jeder Gesetzmäßigkeit im Verhältnis Anthocyan zu Zucker in den einzelnen Organen und im ganzen Keim-

ling, daß ein quantitativer Zusammenhang zwischen Zucker- und Anthocyangehalt höchst fraglich erscheint.

Wenn wirklich ein solcher Zusammenhang besteht, kann er nur sekundärer Natur sein (z. B. künstliche Zuckerzufuhr → gesteigerter Stoffwechsel → vermehrte Anthocyanbildung). Solange aber die Bildung des Farbstoffes in der Pflanze nicht aufgeklärt ist, bestehen große Schwierigkeiten, die gegenseitige Beziehung des Anthocyan- und Zuckerstoffwechsels genau zu umschreiben !

#### Verhalten der Keimlinge im Hungerstoffwechsel.

Der Stickstoffgehalt der Keimlinge bleibt im Hungerstoffwechsel mehr oder weniger konstant. Der Zuckergehalt nimmt dagegen ständig ab (Veratmung, Aufbau von Zellwänden !). Auch der Anthocyangehalt unterliegt im Hungerstoffwechsel Schwankungen.

Betrachten wir die Veränderungen des Anthocyan- und Zuckergehaltes bei 10° C, so ist eine dauernde Abnahme sowohl des Zuckers als auch des Farbstoffes in den Keimlingen festzustellen. Die Abnahme zwischen dem ersten Entwicklungsstadium nach der Keimung (20 mm Länge) und dem letzten untersuchten Stadium ist jedoch nicht gleich groß. Das Anthocyan nimmt in diesem Zeitraum um 55,5 %, der Zucker aber um 68,7 % ab. Auch in den Keimlingen, die bei 30° C wuchsen, ist dieselbe Beobachtung zu machen. Der Anthocyangehalt nimmt — nach anfänglicher Zunahme — vom ersten bis zum letzten Stadium um 22,3 %, der Zuckergehalt dagegen, ohne daß er je zunimmt, um 40,9 % ab.

Wieweit das Anthocyan bei der Rücknahme in den Stoffwechsel wieder abgebaut wird, kann vorläufig nicht gesagt werden. Es besteht durchaus die Möglichkeit, daß der Abbau des Anthocyan nur bis zur farblosen Vorstufe (einem Glukosid) geht; denn Hungerkeimlinge zeigen nach Begießen der Kulturen mit Wasserstoffsperoxyd erneut, zuerst im unteren Teil des Hypokotyls, Farbstoffbildung.

Eine Rücknahme des Farbstoffes in den Stoffwechsel geschieht sicherlich nicht wegen des glukosidisch gebundenen Anthocyanzuckers. Dieser ist nämlich nur in äußerst geringer Menge im Keimling vorhanden, da ja nur rund ein Drittel des Anthocyanmoleküls aus Zucker besteht. Das Verhältnis der gesamten mobilisierbaren Kohlehydratreserven zu dem glukosidisch gebundenen Zuckergehalt ist derart weit, daß der Zucker des Anthocyanmoleküls selbst im Hungerstoffwechsel kaum eine Bedeutung als Energiequelle für die Pflanze haben dürfte.

Jonesco (20) hat bereits darauf hingewiesen, daß die Anthocyane nicht als « substances de déchet » betrachtet werden dürfen. Die Pflanze kann sie irgendwann wieder in ihren Stoffwechsel einbeziehen. Dieser Meinung möchten wir uns anschließen. Die Anthocyane verhalten

sich in dieser Hinsicht ähnlich wie andere sekundäre Pflanzenstoffe. So nimmt nach Spence und McCallum (53) *Parthenium argentatum* einen Teil des von ihr gebildeten Kautschukes wieder in den Stoffwechsel zurück. Mazanko (35) hat die gleiche Beobachtung bei *Taraxacum megalorrhizon* v. *gymnanthium* DC. unter verschiedenen Versuchsbedingungen gemacht. Ähnlich verhalten sich nach Wallbrook (57) die Alkaloide von *Lupinus luteus* und nach eigenen Untersuchungen (12) die ätherischen Öle von *Salvia officinalis*. Welche Rolle aber die Anthocyane und die anderen sekundären Pflanzenstoffe im Gesamtstoffwechsel spielen, bleibt in Dunkel gehüllt, solange es nicht gelingt, die aus ihnen entstehenden Umwandlungsprodukte zu fassen.

#### Einfluß der Temperatur auf die Anthocyanbildung.

Über die Beeinflussung der Anthocyanbildung durch die Temperatur liegen viele Untersuchungen (11, 14, 17, 18, 28, 30, 34, 40, 44, 51, 54, 58) vor. Da in den meisten Fällen der Farbstoff nicht extrahiert und quantitativ bestimmt worden ist, sind die vielen widerspruchsvollen Angaben verständlich. Das Abschätzen des Farbstoffgehaltes in der Pflanze birgt sehr große Fehlerquellen in sich. In dieser Hinsicht ist große Vorsicht geboten, da nicht nur die Reaktion des Pflanzensaftes, sondern auch andere Farbstoffe (Flavone, Carotinoide usw.) und kolloide Beimengungen den Farbton stark zu beeinflussen vermögen (2, 46, 47). Bei unsern Untersuchungen schienen z. B. die Keimlinge von 10° C mehr Anthocyan zu besitzen als die bei 30° C gewachsenen, wobei die Reaktion des Pflanzensaftes die gleiche war (pH = 5,67 bzw. 5,63). Erst die quantitative Analyse ergab bei allen Bestimmungen entgegengesetzte Resultate.

Von Porthelm (44), Kuilman (30), Zanker (58), Kosaka (28), Gaßner und Straib (14), Molisch und Rouschal (40) ziehen aus ihren Untersuchungen den Schluß, daß niedrige Temperaturen ganz allgemein die Bildung der Anthocyane begünstigen.

Demgegenüber beobachtete Sprecher (54) bei *Hevea brasiliensis*-Keimlingen eine starke Anthocyanbildung zwischen 17° und 30° C. Er weist mit Recht darauf hin, daß mit steigender Intensität des Stoffwechsels auch die Anthocyanbildung zunimmt. Harder (17) fand bei Petunien bei 15° C eine sehr helle Scheckung, bei 35° C waren die Blüten aber fast rein violett. Floren (11) gibt für *Hibiscus mutabilis*, *Diervilla coracensis*, *Victoria regia* und *Lantana hybrida* eine optimale Temperatur von 32°—35° C für die Farbstoffbildung bei sich anthocyanfrei öffnenden Blüten an. Nach Schröder (51) wirken Erhöhung der Temperatur und Abschwächung des Lichtes auf Blaufärbung des Blütenfarbmusters von *Petunia hybrida grandiflora hort.*



hin. Dagegen bringen Senkung der Temperatur wie auch Steigerung der Lichtintensität die weißen Areale in den Blüten zur Herrschaft.

In den Dunkelkeimlingen des Rotkohls ist wie bei den oben erwähnten Befunden der Anthocyangehalt (Tabelle 13, Fig. 1) bei 20° und 30° C viel höher als bei 10° C. Bei 30° C ist aber bereits wieder eine deutliche Abnahme des Farbstoffgehaltes in den Keimlingen festzustellen. Wahrscheinlich liegt das Temperaturoptimum für die Anthocyanbildung in den Dunkelkeimlingen zwischen 10° und 30° C.

Offenbar besitzen alle Pflanzen bezüglich ihrer Anthocyanbildung ein Temperaturoptimum. Letzteres dürfte mit dem Temperaturoptimum des Stoffwechsels zusammenfallen. Dabei besteht durchaus die Möglichkeit, daß dieses Optimum der Anthocyanbildung bei tiefen Temperaturen liegen kann. Doch sollte man keineswegs auf Grund der bisher nicht bewiesenen Overtonschen Hypothese annehmen, daß die Herabsetzung des Kohlehydratverbrauches bei niedrigerer Temperatur infolge verminderter Atmung für vermehrte Anthocyanbildung ausschlaggebend ist, und ganz allgemein niedrige Temperaturen großen und hohe Temperaturen geringen Anthocyangehalt bedingen (39).

#### Anthocyanbildung im Dunkeln.

Von Interesse ist die Bildung des Anthocyan in Keimlingen des Rotkohls unter Ausschluß jeder Belichtung. Diese Erscheinung findet ihre Parallele in der Anthocyanbildung in Wurzeln, wie sie M o l i s c h (37) bei *Crassulaceae*, *Saxifragaceae*, *Compositae*, *Balsaminaceae* und *Melastomaceae* beschrieben hat. Der rote bis rotviolette Farbstoff ist dabei auf die Vegetationsspitze der Wurzel beschränkt. Nebenbei kann das Anthocyan noch in sich abschuppenden Zellen der Wurzelhaube vorkommen. In Indien hat M o l i s c h (38) den blauen Farbstoff in den Zellwänden von *Eichornia crassipes*-Wurzeln als Anthocyan identifizieren können. Das Anthocyan bleibt aber nur auf die Zellwände der Epidermis und der 3—4 folgenden Rindenschichten beschränkt. Aus Versuchen folgert M o l i s c h (38), daß diese sehr seltene, prachtvolle blauviolette Färbung der Zellwände durch hohen Eisengehalt des Kulturwassers hervorgerufen wird.

Während in den eben angegebenen Pflanzen Anthocyan ohne jede Belichtung gebildet wird, ist in andern ausreichendes Licht Voraussetzung der Anthocyanbildung. Mrs. W h e l d a l e O n s l o w (42) hat bereits an Hand vieler Beispiele und Literaturangaben auf das in dieser Hinsicht gegensätzliche Verhalten vieler Pflanzen hingewiesen. In neuerer Zeit haben sowohl K u i l m a n (30) als auch K a r s t e n s (22) auf Grund ihrer Untersuchungen darauf aufmerksam gemacht, daß für die Anthocyanbildung neben chemischen Prozessen auch eine photochemische Reaktion unbedingt erforderlich sei.

Eine ähnliche Erscheinung, daß je nach Pflanze Licht zur Farbstoffbildung notwendig ist, finden wir bei der Chlorophyllsynthese. Auch hier gibt es Pflanzen (*Coniferenkeimlinge*, Algen bei künstlicher Eiweißzufuhr usw.), die kein Licht zur Chlorophyllbildung brauchen. Die große Mehrheit der Pflanzen kann jedoch ohne Belichtung kein Blattgrün aufbauen.

#### Bildung des Anthocyans aus seinen Vorstufen.

Sollte sich der im ruhenden Samen durch Wasserstoffsperoxyd erzeugte Farbstoff bei der chemischen Analyse als Anthocyan erweisen, so wäre ein neuer Beweis für die Oxydationstheorie von Keeble und Armstrong (23, 25) erbracht worden. Für die Auffassung, daß die Anthocyane aus ihren Vorstufen durch Oxydations- und nicht durch Reduktionsprozesse, wie Everest (9, 10) annimmt, entstehen, ist in neueren Arbeiten einiges Beweismaterial gebracht worden. So konnte Molisch (38) in weißen Blüten von *Hibiscus mutabilis*, die mit Wasser bedeckt waren, durch Zusatz von Wasserstoffsperoxyd Anthocyanbildung auslösen. Wurde dem Wasser, das die Blüten bedeckte, kein Wasserstoffsperoxyd zugefügt, dann unterblieb die Rotfärbung durch Anthocyan. Auch Kozłowski (29), der mit Extrakten aus Blüten von *Pelargonium zonale* und andern Pflanzen arbeitete, glaubt die Oxydationstheorie bestätigen zu müssen. Karstens (22) verlangt sogar zwei Oxydationsprozesse für die Anthocyanbildung. Es scheint daher, als ob Robinson (48) recht hatte, als er die Vermutung aussprach: «... that in a different form the oxidase hypothesis of Keeble and Armstrong will be revived.»

Über die Vorstufe ohne genaue Kenntnis ihres Chemismus etwas aussagen zu wollen, hieße das Chaos, das in dieser Beziehung ohnehin schon besteht, noch vermehren. Auch in unserem Falle vermag diese Frage nur durch Isolierung und Identifizierung der als Vorstufe in Frage kommenden Reservestoffe aus dem Rotkohlsamen ihrer Lösung nähergebracht zu werden.

#### VII. Zusammenfassung.

Aus Rotkohlköpfen wurde das Anthocyan isoliert und zur Aufstellung von Eichkurven für die kolorimetrische Bestimmung des Farbstoffes im Pulfrich-Photometer benützt.

In Dunkelkeimlingen, die bei 20° C keimten und bei 10° oder 30° C weiterwuchsen, wurden Anthocyan-, Zucker- und Stickstoffgehalt in Entwicklungsstadien von 20 bis 80 mm Länge bestimmt. Im Hungerstoffwechsel nahm der Anthocyanengehalt pro Keimling bei 10° C vom ersten untersuchten Entwicklungsstadium an dauernd ab; bei 30° C war dagegen zuerst noch eine Zunahme und dann erst eine Abnahme festzu-

stellen. Der Zuckergehalt (wasserlösliche Monosaccharide) pro Keimling zeigte in beiden Versuchsreihen eine kontinuierliche Abnahme. Die Gesamtstickstoffmenge blieb mehr oder weniger konstant; in den einzelnen Fraktionen (wasserlöslicher und koagulierbarer Stickstoff) fanden dagegen Veränderungen statt.

Eine enge Beziehung zwischen Anthocyan- und Zuckerstoffwechsel konnte nicht beobachtet werden. Sollte eine solche bestehen, so könnte sie nur sekundärer Natur sein.

Die Rücknahme des Anthocyans in den Stoffwechsel deutete darauf hin, daß dieser Farbstoff nicht als « Endprodukt » zu werten ist. Über den Grad der Rückbildung des Anthocyans im Stoffwechsel konnten nur Vermutungen aufgestellt werden.

In weiteren Versuchsreihen wurde bei 10°, 20° und 30° C die Anthocyanbildung messend verfolgt. Sie war in Keimlingen, die bei 10° C wuchsen, am kleinsten, in denen bei 20° C am größten. In den bei 30° C gezogenen Keimlingen war gegenüber der letzteren eine deutlich verminderte Anthocyanbildung festzustellen. Das Temperaturoptimum für die Farbstoffbildung wurde deshalb bei einer Temperatur zwischen 10° und 30° C angenommen.

Die Bildung und eine eventuelle Wanderung des Anthocyans in den Keimlingen wurde diskutiert.

Durch Eintauchen in eine wässrige Wasserstoffsperoxydlösung konnte im ruhenden Samen und in noch ungefärbten Keimlingen die Bildung eines roten Farbstoffes hervorgerufen werden. Sollte sich dieser Vakuolenfarbstoff als Anthocyan erweisen, dann wäre ein neuer Beweis für die Oxydationstheorie, d. h. die Bildung der Anthocyane aus ihren Vorstufen durch Oxydation, erbracht.

Die gefundenen Ergebnisse wurden mit den aus der neueren Literatur ersichtlichen Angaben verglichen und besprochen.

#### Literaturverzeichnis.

(Eine ausführliche Besprechung der seit 1925 erschienenen Literatur wird noch an anderer Stelle erfolgen.)

1. B a n c h e r, E. Zellphysiologische Beobachtungen an *Iris Reichenbachii* während des Abblühens. Österr. Bot. Zs., **90**, 97—106, 1941.
2. B a n c r o f t, W. D. and R u t z l e r, J. E., jr. The colloid chemistry of leaf and flower pigments. I. The precursors of the anthocyanins. J. Amer. Chem. Soc., **60**, 2738—2743, 1938.
3. B l a c k m a n, G. E. and T e m p l e m a n, W. G. The interaction of light intensity and nitrogen supply in the growth and metabolism of grasses and clover (*Trifolium repens*). III. Analytical methods for the estimation of some nitrogen and carbohydrate fractions. Annals of Botany, N. S. **4**, 119—134, 1940.

4. Blank, F. und Frey-Wyßling, A. Protoplasmawachstum und Stickstoffwanderung in der Koleoptile von *Zea Mays*. Ber. Schweizer. Bot. Ges., **51**, 116—142, 1941.
5. Chmielewska, I. Badania nad barwnikiem czarnej kapusty (*Brassica oleracea*) I. Etude sur le colorant du chou rouge I. Roczniki Chemji, **13**, 725—735, 1933.
6. — Badania nad barwnikiem czarnej kapusty (*Brassica oleracea*) II. Etude sur le colorant du chou rouge II. Roczniki Chemji, **16**, 384—387, 1936.
7. — Smardzewska, I. i Kulesza, I. Badania nad barwnikiem czarnej kapusty (*Brassica oleracea*) III. Studien über den Rotkohlfarbstoff III. Roczniki Chemji, **18**, 176—184, 1938.
8. Combes, R. Rapports entre les composés hydrocarbonés et la formation de l'anthocyane. Ann. Sc. Nat., Bot., 9<sup>me</sup> sér., **9**, 275—304, 1909.
9. Everest, A. E. The production of anthocyanins and anthocyanidins. Proc. Roy. Soc., London, Ser. B, **87**, 444—452, 1914.
10. — The production of anthocyanins and anthocyanidins. Part II. Proc. Roy. Soc., London, Ser. B, **88**, 326—332, 1915.
11. Floren, G. Untersuchungen über Blütenfarbmuster und Blütenfärbungen. Flora, N. F. **35**, 65—100, 1941.
12. Frey-Wyßling, A. und Blank, F. Über den Terpenhaushalt von *Salvia officinalis*-Keimlingen. Verh. Schweizer. Naturf. Ges., Locarno, 1940, 163—165.
13. — und Blank, F. Physiological condition of anthocyanins in etiolated seedlings. Nature (London), **147**, 148—149, 1941.
14. Gaßner, G. und Straib, W. Über die Anthocyanbildung junger Getreidepflanzen und ihre Verwertbarkeit als Sortenmerkmal. Wiss. Arch. Landw. A. **4**, 169—195, 1930.
15. — und Straib, W. Untersuchungen über den Einfluß der Mineralsalzer-nährung auf die Anthocyanbildung an jungen Gerstenpflanzen. Angew. Botanik, **19**, 225—245, 1937.
16. Hagedorn, H. C. und Jensen, B. Norman. Zur Mikrobestimmung des Blutzuckers mittels Ferricyanid. Biochem. Zs., **135**, 46—58, 1923.
17. Harder, R. Über Farb- und Musteränderungen bei Blüten. Naturw., **26**, 713—722, 1938.
18. — und Döring, B. Über die Farbänderung der Blüten von *Dahlia variabilis*. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, mathem.-naturw. Kl., Fachgr. VI, **2**, 89—95, 1935.
19. Jonesco, St. Formation de l'anthocyane dans les fleurs de *Cobaea scandens* aux dépens des glucosides préexistants. C. R. Ac. Sc. Paris, **173**, 850—852, 1921.
20. — Recherches sur le rôle physiologique des anthocyanes. Ann. Sc. Nat., Bot., 10<sup>me</sup> sér., **4**, 301—403, 1922.
21. Karrer, P. Lehrbuch der organischen Chemie. 7. Auflage. Leipzig 1941.
22. Karstens, W. K. H. Anthocyanin and anthocyanin formation in seedlings of *Fagopyrum esculentum* Moench. Rec. Trav. Bot. Néerlandais, **36**, 85—179, 1939.
23. Keeble, F. and Armstrong, E. F. The distribution of oxydases in plants and their rôle in the formation of pigments. Proc. Roy. Soc., London, Ser. B, **85**, 214—218, 1912.
24. — and Armstrong, E. F. The oxydases of *Cytisus Adami*. Proc. Roy. Soc., London, Ser. B, **85**, 460—465, 1912.

25. Keeble, F. and Armstrong, E. F. The rôle of oxydases in the formation of the anthocyanin pigments of plants. *J. Genetics* **2**, 277—311, 1913.
26. — Armstrong, E. F. and Jones, W. N. The formation of the anthocyanin pigments of plants. Part IV. The chromogenes. *Proc. Roy. Soc., London, Ser. B*, **86**, 308—317, 1913.
27. — Armstrong, E. F. and Jones, W. N. The formation of anthocyanin pigments in plants. Part VI. *Proc. Roy. Soc., London, Ser. B*, **87**, 113—131, 1914.
28. Kosaka, H. Über den Einfluß des Lichtes, der Temperatur und des Wassermangels auf die Färbung der *Chrysanthemum*-Blüten. *Bot. Mag., Tokyo*, **66**, 551—560, 1932.
29. Kozłowski, A. Pcwstawianie w roślinach antocjanu przez utlenie antocjanogenów. (On the formation of anthocyanins in plants by an oxidation of anthocyanogens.) *Acta Soc. Bot. Poloniae*, **12**, 275—288, 1935.
30. Kuilman, L. W. Physiologische Untersuchungen über die Anthocyane. *Rec. Trav. Bot. Néerlandais*, **27**, 287—416, 1930.
31. Lawrence, W. J. C. and Price, J. R. The genetics and chemistry of flower colour variation. *Biological Reviews*, **15**, 35—58, 1940.
32. Lippmaa, T. Über den Parallelismus im Auftreten der Karotine und Anthocyanine in vegetativen Pflanzenorganen. *Sitz.-Ber. d. Naturf. Ges. b. d. Univ. Dorpat*, **30**, 58—111, 1924.
33. — Die Anthocyanophoren der *Erythrea*-Arten. *Beih. Bot. Centrbl., Abt. I*, **43**, 127—132, 1926.
34. Marheineke, J. Über den Einfluß von Außenfaktoren auf das Blütenfarbmuster von *Petunia hybrida grandiflora*, *Calliopsis bicolor*, *Mimulus tigrinus* und *Primula malacoides*. *Jb. w. Bot.*, **83**, 593—656, 1936.
35. Mazanko, F. P. Consumption of their rubber by certain plants. *C. R. Ac. Sc. USSR.*, **27**, 838—840, 1940.
36. Molisch, H. *Mikrochemie der Pflanze*. 3. Auflage. Jena 1923.
37. — Rote Wurzelspitzen. *Ber. Dt. Bot. Ges.*, **46**, 311—317, 1928.
38. — Als Naturforscher in Indien. Jena 1930.
39. — *Pflanzenphysiologie als Theorie der Gärtnerei*, 6. Auflage. Jena 1930.
40. — und Rouschal, E. Physiologische Versuche über Anthokyan. *Sitz.-Ber. Ak. Wiss. Wien, mathem.-naturw. Kl., Abt. I*, **148**, 255—268, 1939.
41. Noack, K. Physiologische Untersuchungen an Flavonolen und Anthocyanen. *Zs. f. Bot.*, **14**, 1—74, 1922.
42. Onslow, M. Wheldale. *The anthocyanin pigments of plants*. 2<sup>nd</sup> edition. Cambridge 1925.
43. Overton, E. Beobachtungen und Versuche über das Auftreten von rotem Zellsaft bei Pflanzen. *Jb. w. Bot.*, **33**, 171—231, 1899.
44. Portheim, L. von. Über den Einfluß von Temperatur und Licht auf die Färbung des Anthokyans. *Denkschr. k. k. Ak. Wiss. Wien, mathem.-naturw. Kl.*, **91**, 499—537, 1915.
45. Pregl, F. *Die quantitative organische Mikroanalyse*. 4. Auflage, bearbeitet von H. Roth. Berlin 1935.
46. Robinson, G. M. Notes on variable colors of flower petals. *J. Amer. Chem. Soc.*, **61**, 1606—1607, 1939.
47. — and Robinson, R. A survey of anthocyanins. II. *Biochem. J.*, **26**, 1647—1664, 1932.
48. Robinson, R. Chemistry of the anthocyanins. *Nature (London)*, **135**, 732—736, 1935.

49. Scharinger, W. Cytologische Beobachtungen an *Ranunculaceen*-Blüten. Protoplasma, **25**, 404—426, 1936.
  50. Schorr, L. Über bunte Vakuolensysteme. Protoplasma, **31**, 292—297, 1938.
  51. Schröder, H. Untersuchungen über die Beeinflussung des Blütenfarbmusters von *Petunia hybrida grandiflora hort.* Jb. w. Bot., **79**, 714—752, 1934.
  52. Scott-Moncrieff (Mrs. O. M. Meares), R. The genetics and biochemistry of flower colour variation. Erg. Enzymforschung, **8**, 277—306, 1939.
  53. Spence, D. and McCallum, J. The function of the rubber hydrocarbon in the living plant. Transactions Inst. Rubber Ind., London, **11**, 119—134, 1935.
  54. Sprecher, A. Same und Keimung von *Hevea brasiliensis*. Bull. Jardin Bot. de Buitenzorg, 2<sup>me</sup> sér., **19**, 1—110, 1915.
  55. Strepkov, S. M. Mikroanalyse der Kohlehydrate in Pflanzenstoffen. Zs. f. analyt. Chemie, **111**, 57—94, 1937.
  56. Strugger, S. Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin 1935.
  57. Wallebroek, J. C. J. Alkaloid and nitrogen metabolism in the germination of *Lupinus luteus*. Rec. Trav. Bot. Néerlandais, **37**, 78—132, 1940.
  58. Zanker, J. Untersuchungen über *Geraniaceen*. Planta (Berl.), **9**, 681—717, 1930.
-