

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen.

ÜBER DIE BEZIEHUNGEN
ZWISCHEN ATMUNG UND ANTHOCYANSYNTHESE.

Von

F. EBERHARDT.

Mit 15 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Oktober 1953.)

I. Einleitung.

Die Erscheinung, daß künstliche Zuckerzufuhr bei vielen Pflanzen die Anthocyanbildung hervorrufen oder verstärken kann, hat zu verschiedenartigen Ansichten über die Bedeutung von Zuckern für die phytochemische Synthese der Anthocyane geführt. OVERTON (1899) schloß aus seinen Versuchen auf einen Zusammenhang zwischen Anthocyanfärbung und Zuckerreichtum der Zellen. Die Auffassung, daß *Zuckeranhäufung* in den Geweben eine Voraussetzung für die Farbstoffbildung sei, ist auch später mehrfach vertreten worden. In jüngster Zeit haben THIMANN und EDMONDSON (1949) diesen Gedanken erneut ausgesprochen. Sie entnehmen aus Versuchen mit *Spirodela oligorrhiza*, daß die Anthocyan-synthese von angehäuften Zuckern ihren Ausgang nimmt. Die fördernde Wirkung von Glucose, Fructose und Saccharose auf die Pigmentbildung in nicht wachsenden *Spirodela*-Kulturen wird von THIMANN, EDMONDSON und RADNER (1951) dahingehend gedeutet, daß diese Zucker unabhängig voneinander in Anthocyan umgewandelt werden können. Aber diese Umwandlung soll nicht auf dem Wege des gewöhnlichen Kohlenhydratumsatzes vor sich gehen, weil verschiedene gefütterte Zwischenprodukte des glykolytischen Abbaues die Pigmentierung nicht begünstigten. Auch Phosphat war ohne fördernde Wirkung auf den Anthocyan-gehalt der Kulturen. ROBINSON (1937), der die Biogenese der Anthocyane vom chemischen Gesichtspunkt aus diskutiert hat, hält die Vorstellung für gerechtfertigt, daß die Farbstoffe aus einfachen Kohlenhydraten gebildet werden. Danach kommt dem Zuckermolekül die Bedeutung eines unmittelbaren Ausgangsproduktes für die Anthocyan-synthese zu.

Demgegenüber vertreten FREY-WYSSLING und BLANK (1943) die Auffassung von einer indirekten Wirkung des Zuckers. Ihre quantitativen

Untersuchungen über einen Zusammenhang von Zuckermenge und Anthocyan in Rotkohlkeimlingen haben eine Beziehung zwischen beiden Größen nicht erkennen lassen. In Kressekeimlingen können neben Rohrzucker, Glucose und Fructose auch so ungewöhnliche Zucker wie Arabinose und Sorbose die Synthese von Anthocyan begünstigen. Auf Grund dieser Beobachtung neigen auch EDDY und MAPSON (1951) zu der Ansicht, daß die Zucker nicht unmittelbar als Bausteine in die Farbstoffsynthese eingehen, sondern daß sie erst über den intermediären Stoffwechsel in Form ihrer Abbauprodukte für die Anthocyanbildung zugänglich werden. In einer Zusammenfassung der Theorien über die Biogenese von Flavan-Derivaten treten GEISSMAN und HINREINER (1952) ebenfalls für eine indirekte Wirkung der Mono- und Disaccharide ein. Auch die Tatsache, daß Zuckerezufuhr die Bildung recht verschiedener sekundärer Pflanzenstoffe fördert, läßt eine Wirkung von Spaltprodukten der Zucker erwarten. So konnte durch Zuckerrückführung neben der Anthocyanbildung auch eine Vermehrung des Arbutingehaltes (DANNER 1940) und eine Synthese von Carotinoiden erreicht werden (LIPMAA 1924, zit. bei BLANK 1947).

Man kann also annehmen, daß Substanzen, die einem Gewebe oder einer Pflanze künstlich zugeführt werden, zunächst in allgemeine Stoffumsetzungen eintreten und nach ihrer Umformung in einfachere einheitliche Bausteine dann zu dem Material werden, von dem die Synthese komplizierterer Verbindungen ihren Ausgang nimmt. PAECH (1950) weist darauf hin, daß bei der Aufklärung der Zuckerwirkung die *umgesetzte* Zuckermenge berücksichtigt werden müßte. Hier könnte die Beobachtung der Atmung während der Anthocyanbildung Aufschluß darüber geben, ob der Zucker über einen allgemein gesteigerten Stoffwechsel in die Farbstoffsynthese eingeht. Mit der vorliegenden Untersuchung sind die Fragen aufgegriffen worden, 1. ob ein verstärkter Stoffumsatz Voraussetzung für die Anthocyanogenese ist, und 2. welche stoffwechselphysiologischen Bedingungen für die Farbstoffbildung notwendig sind.

Zur Klärung der gestellten Fragen wurden die Untersuchungen sowohl an der künstlich durch Zucker induzierten Anthocyanbildung als auch an der Synthese aus arteigenen Baustoffen vorgenommen. Für die Durchführung der Versuche mußte pflanzliches Material verwendet werden, das in relativ kurzer Zeit möglichst viel Anthocyan produzieren kann. Die natürliche Farbstoffbildung wurde bei Rotkohlkeimlingen, die künstlich durch Zuckergaben angeregte Anthocyan-synthese bei Blättern von *Saxifraga crassifolia* studiert. Aus dem Verhalten der Atmung während der Anthocyanproduktion und aus der Wirkung von Eingriffen in den Zwischenstoffwechsel konnten Hinweise auf den Ausgangspunkt der Farbstoffsynthese erwartet werden.

II. Material und Methode.

1. Aufzucht der Keimlinge von *Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. *f. rubra* (L.).

Samen der Rotkohlsorte „Amerikanische Mammuth“ wurden zu je 100 Stück auf Filterpapier in Petrischalen ausgelegt und je Schale mit 5 ml Aqua dest. angefeuchtet. Für einige Versuche wurden die Keimlinge zu je 1500 Stück in Saatkästen mit Flußsand aufgezogen. Die Keimlinge wuchsen in einem Raum auf, dessen Temperatur während der Dauer eines Versuches Schwankungen von höchstens $\pm 0,5^{\circ}$ C aufwies. Die Versuchstemperatur betrug im allgemeinen $23-24^{\circ}$ C. Abweichungen von diesem Wert sind bei den Ergebnissen besonders vermerkt. Keimlinge, die im Dauerlicht aufwuchsen, waren 1000—2000 Lux ausgesetzt, die von 4 Osram-Leuchtröhren HNT 120 mit je 25 Watt im Abstand von 0,4—0,6 m ausgestrahlt wurden. Innerhalb einer Versuchsreihe war der Abstand der Pflanzen von der Lichtquelle gleich. Etiolierte Keimlinge wuchsen in demselben Raum wie die belichteten auf. Die Petrischalen waren in diesem Falle in lichtundurchlässiges Papier eingewickelt, die Kästen mit Dunkelstürzen zugedeckt.

2. Blätter von *Saxifraga crassifolia* L.

Das Blattmaterial für die Untersuchung der zuckerinduzierten Anthocyanbildung stammte von Freilandpflanzen aus dem Alpinum des Botanischen Gartens in Tübingen. Alle *Saxifraga*-Stauden wachsen dort unter gleichen Lichtbedingungen. Im allgemeinen kamen nur rein grüne Blätter zur Verwendung. Aus den Blatthälften wurden mit einer Schablone flächengleiche Stücke von 1 cm^2 Größe ausgestanzt. Die verwendeten Stellen einer Blattspreite waren ungefähr gleich dick. Größere Blattnerven wurden beim Ausschneiden umgangen. Die Blattstücke wurden in Petrischalen auf 0,1 molarer Rohrzuckerlösung oder auf Aqua dest. unter den gleichen Bedingungen gehalten, wie sie für die Aufzucht der Keimlinge angegeben sind. Die Lösungen wurden in regelmäßigen Abständen erneuert. Pilzwachstum trat nicht auf. Die Blattstücke schwammen auf den Lösungen mit der Blattoberseite nach oben gewendet.

3. Bestimmung von Anthocyan und Leuko-Anthocyan.

Zur Anthocyanbestimmung diente die Absorptionsmessung mit dem Pulfrich-Photometer. Dazu wurden je 60 Keimlinge ohne die farblose Wurzel mit etwas Quarzsand in der Reibschale zerrieben und bei Zimmertemperatur mit VEIBELscher Lösung (6,71 g KCl in 1 Liter n/100 HCl; p_{H} 2) extrahiert. Die Lösung wurde durch ein Kieselgurfilter (Schleicher und Schüll Nr. 287) filtriert, das Filter mit VEIBELscher Lösung ausgewaschen, und das Filtrat mit der gleichen Flüssigkeit auf 25 ml aufgefüllt. Die Extinktion wurde mit dem Grünfilter S 53 (Filter-schwerpunkt bei 5300 Å) in der 2 cm-Küvette gemessen. Als Bezugsgröße diente der Keimling. In den Tabellen und Abbildungen sind die Werte für 60 Keimlinge verzeichnet. Die Messungen geben nur relative Anthocyanmengen an, da auf die Reindarstellung des Anthocyans für eine Eichung verzichtet werden konnte. Die Extraktion des Farbstoffes aus den *Saxifraga*-Blättern erfolgte auf die gleiche Weise. In diesem Falle diente die Blattfläche als Bezugsgröße.

Zur Ausfärbung der Leuko-Anthocyane wurden 10 ml der Lösung nach der Bestimmung der Anthocyan-Extinktion mit einem Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt und 5 min im Wasserbad gekocht. Um die Verdampfung des Lösungsmittels zu verhindern, waren die Proben mit Gummistopfen verschlossen, die

von kurzen Capillarröhren durchbohrt waren. Aus der Differenz der Extinktionswerte (e) vor und nach der Ausfärbung des Leuko-Anthocyans zum roten Anthocyan konnte der Wert für Leuko-Anthocyane ermittelt werden.

Die Prüfung der Gültigkeit des LAMBERT-BEERSchen Gesetzes mit Hilfe von Verdünnungsreihen ergab eine lineare Abhängigkeit der Extinktion von der Konzentration des Anthocyans. Die Extinktionswerte konnten als relatives Maß für den Farbstoffgehalt benützt werden.

4. Atmungsmessungen.

Die Atmungsmessungen wurden mit der Warburg-Apparatur (System Möhle) durchgeführt. Die Ablesegenauigkeit beträgt 0,5 mm und somit bei einer durchschnittlichen Gefäßkonstanten von 2 etwa $1 \text{ mm}^3 \text{ O}_2$

bzw. CO_2 . Bei Verwendung von 10 Keimlingen im Gefäß könnten theoretisch Werte bis zur Genauigkeit von $0,1 \text{ mm}^3$ gemessen werden, praktisch ist jedoch die individuelle Schwankung der Atmungsintensität bei den Keimlingen erheblich größer. Sie beträgt zwischen vergleichbaren Proben mit je 10 Keimlingen etwa 10%. Für flächengleiche Blattstücke ist die Genauigkeit größer. Die Messungen wurden im allgemeinen über 2 Std verfolgt. In den Tabellen und graphischen Darstellungen sind die in 1 Std verbrauchten bzw. entwickelten Gasmengen angegeben. Das Warburg-Gerät stand in einer Dunkelkammer mit einer durchschnittlichen Temperatur von 19 bis 20° C . Die Temperatur des Wasserbades war innerhalb der Grenzen von $\pm 0,01^\circ \text{ C}$ konstant und betrug bei den Rotkohlversuchen 25° C , bei den Versuchen mit *Saxifraga* 24° C . Für alle Messungen wurden Warburg-Gefäße mit Erlenmeyer-Form und 40 mm Bodendurchmesser verwendet. Jedes Gefäß enthielt im Außenraum 0,1 ml Wasser und im zentralen Einsatz entweder 0,2 ml KOH (11%) oder die gleiche Menge Wasser.

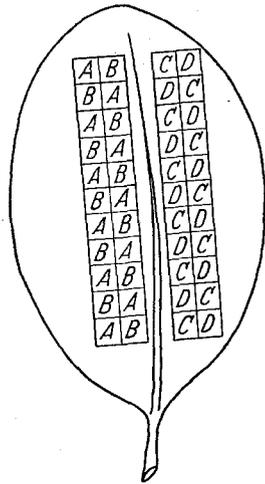


Abb. 1. Schema der Verteilung der Blattstücke aus einem *Saxifraga*-Blatt auf vergleichbare Proben.

Zur Atmungsmessung der Keimlinge dienten 2 Verfahren:

a) Von den auf Sand gezogenen Keimlingen kamen zu den angegebenen Zeiten je 10 Stück ohne die anthocyanfreie Wurzel in ein Warburg-Gefäß. Nach der Atmungsmessung wurden jeweils 60 Keimlinge aus gleichen Ansätzen extrahiert. Bei diesem Verfahren war es möglich, die Gefäße mit Keimlingen einheitlicher Größe zu beschicken.

b) Für die auf Filterpapier in Petri-Schalen gezogenen Keimlinge gilt folgende Anordnung: sobald das Keimen der Samen mit Sicherheit zu erkennen war, kamen je 10 Keimlinge nach Entfernung der Testa in ein Warburg-Gefäß, dessen Boden mit einem ringförmig zugeschnittenen Filterpapier bedeckt war. Alle Gefäße enthielten die gleiche Menge Wasser. Die Keimlinge wuchsen so mehrere Tage lang in den Warburg-Gefäßen, die in Zeiten zwischen den Messungen in einer feuchten Kammer gehalten wurden. Es konnte zwar nicht unter sterilen Bedingungen gearbeitet werden, jedoch zeigten sowohl mikroskopische Kontrollen als auch die gute Übereinstimmung mehrerer Versuche, daß keine Störungen der Messung durch Mikroorganismen auftraten. Für die Farbstoffbestimmungen wurden bei dieser Anordnung Keimlinge aus Parallelansätzen herangezogen. Der Vorteil

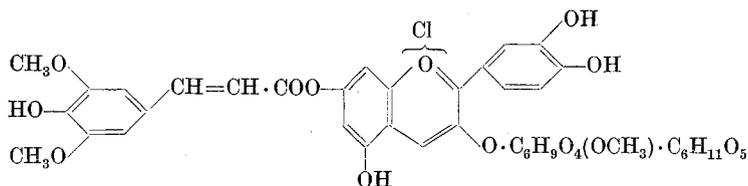
dieses Verfahrens besteht darin, daß der Verlauf der Atmung während der Entwicklung immer an den gleichen Keimlingen gemessen werden kann. Auf die einheitliche Größe der Keimlinge mußte bei dieser Versuchsanordnung verzichtet werden.

Da die Blattspreite von *Saxifraga crassifolia* in der Regel eine Länge von 20 cm und eine Breite von etwa 12 cm erreicht, war das aus einem Blatt gewonnene Material für einen Versuch ausreichend. Wenn in einzelnen Versuchsreihen mehr als 2 vergleichbare Proben aus demselben Blatt verwendet werden mußten, so wurde die Verteilung der einzelnen Blattstücke entsprechend dem Schema der Abb. 1 vorgenommen. Für die Atmungsmessung kamen je 6 bzw. 10 flächengleiche Blattstücke in ein Warburg-Gefäß, dessen Boden mit feuchtem Filterpapier bedeckt war. Für Blattscheiben von Tomaten wurde eine ähnliche Methode von KLINKER (1950) beschrieben.

III. Atmung und Anthocyanbildung bei Keimlingen von *Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *rubra* (L.)

1. Anthocyanbildung und Atmung im Verlauf der Keimlingsentwicklung.

Das Anthocyan des Rotkohls ist nach CHMIELEWSKA (zit. bei FREY-WYSSLING und BLANK 1943) ein Cyanidin, das zwei reduzierende Zuckermoleküle enthält, mit Sinapinsäure (4-Oxy-3,5-dimethoxy-zimtsäure) verestert ist und als Rubrobrassicin bezeichnet wird. Eine Zuckerkomponente konnte als Glucose identifiziert werden.



Der Farbstoff tritt in Hypokotylen und Kotyledonen auf. Er ist in den Kotyledonarstielen am konzentriertesten und findet sich in den Vacuolen häufig zu tiefrot gefärbten Kügelchen zusammengeballt.

Der Anthocyan Gehalt nimmt in den ersten Tagen des Wachstums rasch zu (Abb. 2). Er erreicht nach ungefähr 8 Tagen ein Maximum. Die Farbstoffproduktion ist bei den belichteten Keimlingen erheblich höher als bei den etiolierten. Sie ist in beiden Fällen in den Kotyledonen größer als in den Hypokotylen. Das steht im Widerspruch zu den Angaben von FREY-WYSSLING und BLANK (1943), deren Messungen für die Hypokotyle höhere Werte als für die Kotyledonen ergaben¹. In den belichteten Keimlingen wird außerdem eine Substanz gebildet, die sich ähnlich wie Anthocyan verhält, jedoch erst bei kurzem Kochen mit Säure rot wird. Entsprechend diesen Eigenschaften muß es sich

¹ Es ist möglich, daß dieser Gegensatz seine Ursache in der Verwendung verschiedener Rotkohlsorten hat. Für die vorliegenden Untersuchungen konnte das von FREY-WYSSLING und BLANK verwendete Material („Erfurter blutrote Riesen“) nicht beschafft werden.

um einen Stoff der verbreiteten Gruppe der Leuko-Anthocyane handeln. In den etiolierten Pflanzen spielt diese Komponente kaum eine Rolle.

Die von FREY-WYSSLING und BLANK beschriebene Abnahme des Anthocyangehaltes im Hungerstoffwechsel (d. h. unter Lichtausschluß) trat bei der Sorte „Amerikanische Mammuth“ nicht so deutlich in Erscheinung. Hingegen konnte bei den belichteten Keimlingen nach dem 10. Tag eine Abnahme des Anthocyangehaltes beobachtet werden. Die Farbstoffverminderung kann also nicht eine Folge des Hungerstoffwechsels sein. Die Erscheinung ist möglicherweise allgemein mit

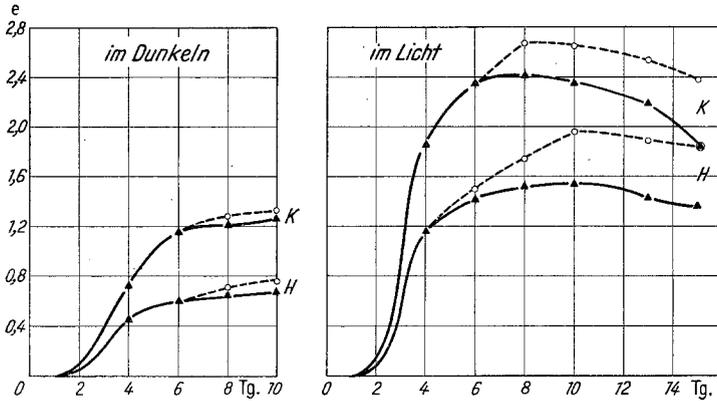


Abb. 2. Anthocyanbildung in etiolierten und belichteten Rotkohlkeimlingen (in Flußsand bei 22—23° C gezogen). Abszisse: Tage nach der Aussaat. Ordinate: Anthocyan aus 60 Keimlingen (2 cm-Küvette). ▲—▲ Anthocyan, ○- - - -○ Anthocyan + Leuko-Anthocyan, K Kotyledonen (einschließlich Kotyledonarstielchen), H Hypokotyle.

der Keimlingsentwicklung verknüpft und findet vielleicht eine Parallele in der Anthocyanentfärbung in jugendroten Blättern (vgl. PAECH und EBERHARDT 1952).

Für jede Probe wurden Pflanzen einheitlicher Größe ausgewählt. Die Tabelle gibt die Größe der Keimlinge an (gemessen von der Ansatzstelle des Hypokotyls am Wurzelhals bis zum distalen Rand der gestreckten Kotyledonen):

Tage nach der Aussaat	4	6	8	10	12	15
Etioliert (Länge in mm)	14	33	62	79		
Belichtet (Länge in mm)	14	29	36	47	54	54

Die Verfolgung der Farbstoffbildung in den etiolierten Keimlingen war nur bis zum 10. Tage möglich, da ältere Keimlinge Anzeichen von Erschöpfung zeigten und für die Atmungsmessung nicht mehr verwendet werden konnten.

Die Atmungsintensität (Abb. 3) erreicht bei belichteten und etiolierten Keimlingen um den 4. Tag ihr Maximum. Der respiratorische Quotient (RQ) hat um diese Zeit eine Größe von 0,55—0,60 und nähert sich mit fortschreitender Entwicklung dem Werte 1. Bei belichteten Keimlingen ist die Atmungsintensität im Zeitpunkt des Maximums

größer, unterscheidet sich jedoch im Verlauf der weiteren Entwicklung nicht mehr wesentlich von der Atmungsgröße der Etiolierten.

Vergleicht man die Kurven für die Atmung mit der Abb. 2, so kann man daraus entnehmen, daß zwar die Atmungsintensität dann besonders groß ist, wenn auch die Anthocyanbildung in vollem Gange ist (zwischen dem 3. und 5. Tag), daß aber trotz sinkender Atmungsgröße die Farbstoffbildung noch einige Zeit weiterläuft. Auch die folgenden Versuche haben ergeben, daß das Atmungsmaximum immer etwas früher als das Maximum der Anthocyanmenge erreicht wird.

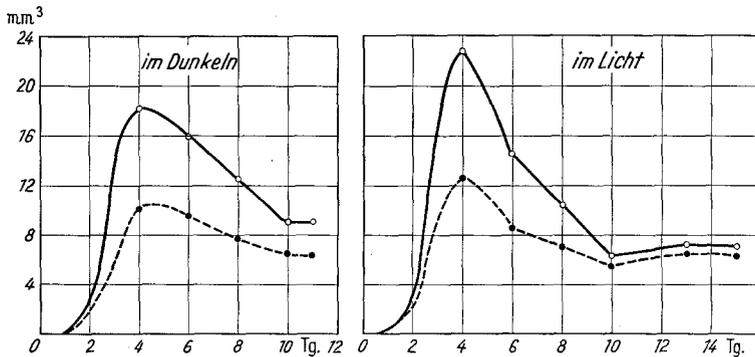


Abb. 3. Atmung von Rotkohlkeimlingen (im Dunkeln bei 25° C gemessen. Es sind die Keimlinge verwendet worden, deren Anthocyan gehalt in Abb. 2 wiedergegeben ist. Keimwurzel entfernt). Abszisse: Tage nach der Aussaat. Ordinate: mm³ Gas je Keimling je Stunde. —○— O₂-Verbrauch, ●- - - -● CO₂-Abgabe.

Auf den ersten Blick scheint sich also kein möglicher Zusammenhang zwischen Anthocyan synthese und Atmung zu zeigen. Man kann jedoch damit rechnen, daß die energie- und sauerstoffverbrauchenden Vorgänge überwiegend in die frühe Phase der Farbstoffsynthese fallen. Dann käme der späten Bildungsphase die Bedeutung einer von Atmung und Stoffumsatz relativ unabhängigen „Ausfärbung“ zu.

Der Vorgang der oben erwähnten Ausfärbung ist von verschiedenen Autoren als Oxydation eines Chromogens aufgefaßt worden (vgl. ROBINSON 1937; KARSTENS 1939). Wenn wir bei der Bildung des Anthocyan aus einem Chromogen einen einfachen Oxydationsschritt annehmen, so können wir wenigstens größenordnungsmäßig eine Berechnung des für einen solchen Schritt notwendigen Sauerstoffes durchführen und feststellen, ob dieser mit der hier angewandten Methode erfassbar ist.

Das Molekulargewicht des Rotkohlanthocyan ist nach CHMIELEWSKA 866. Um ein Mol Anthocyanvorstufe zu oxydieren, sind 16 g Sauerstoff nötig. Wir nehmen das Molekulargewicht des Chromogens mit 850 (866—16) an¹. In der

¹ Die Möglichkeit, daß es sich bei dem Vorgang um eine Dehydrierung handeln könnte und das Mol.-Gewicht des Chromogens dementsprechend mit 868 angesetzt werden müßte, ändert an dem Resultat der folgenden Betrachtung nichts.

Arbeit von FREY-WYSSLING und BLANK liegen Angaben über Gewichtsmengen von gebildetem Rotkohlanthocyan vor, die auf den Keimling bezogen sind. Die maximale Anthocyanmenge im etiolierten Keimling beträgt etwa 15 γ . Nach eigenen Versuchen wird diese Menge bei 24stündiger Belichtung im günstigsten Falle verdreifacht. Zur Atmungsmessung werden je Warburg-Gefäß 10 Keimlinge verwendet. Diese bilden in den 24 Std der Belichtung eine Gewichtsmenge von rund 300 γ Anthocyan. Für einen einfachen Oxydationsschritt sind für diese 300 γ etwa 6 γ Sauerstoff nötig, die bei den Versuchsbedingungen ungefähr einen Raum von 4 mm³ einnehmen. Da die Gefäßkonstante um 2 liegt, entspricht diesem Volumen eine abgelesene Manometerdifferenz von 2 mm in 24 Std. Die Versuchsdauer der einzelnen Messung beträgt im allgemeinen 2 Std, so daß in dieser Zeit nur der 12. Teil der berechneten Menge Sauerstoff verbraucht wird. Solche Größen lassen sich jedoch nicht ablesen. Außerdem beträgt die individuelle Schwankung der Atmung bei der Zahl von 10 Keimlingen ein Mehrfaches von 2 mm. Auch wenn wir der Berechnung die von KARSTENS angenommenen 2 Oxydationsschritte zugrunde legen, ändert sich die praktische Bedeutung dieses Resultates nicht.

Wir dürfen also mit Hilfe dieser Methode keine Ergebnisse erwarten, die direkt die Oxydation eines Chromogens zum Farbstoff im Sinne von KARSTENS erkennen lassen. Man wird aber Aussagen darüber machen können, wie sich der Atmungsumsatz zur Zeit der Anthocyanbildung verhält.

Da die Keimlinge einer Aussaat zu keinem Zeitpunkt von einheitlicher Größe sind, liegt in der Auswahl der Durchschnittsgröße eine gewisse Willkür. Aus diesem Grunde gibt das oben unter a) (S. 256) beschriebene Verfahren den zeitlichen Verlauf der Atmung während der Entwicklung eines Keimlings nicht mit Sicherheit eindeutig wieder. In den folgenden Versuchen ist deshalb entsprechend den Angaben unter b) (S. 256) verfahren worden. Diese Anordnung hat 2 Vorteile: 1. Der Gang der Atmung im Entwicklungsverlauf kann immer am gleichen Keimling verfolgt werden. 2. Auf Filterpapier gezogene Pflanzen können schon in früheren Entwicklungsstadien zur Messung herangezogen werden als solche, die in Sand aufwachsen.

Es wurden 3 verschiedene Ansätze verwendet: 1. Keimlinge im Dauerlicht, 2. etiolierte Keimlinge, 3. etiolierte Keimlinge, die zu einem gegebenen Zeitpunkt ins Licht gestellt wurden.

Der 3. Fall wurde deshalb für wesentlich erachtet, weil hier mit einer besonders hohen Farbstoffproduktion in kurzer Zeit gerechnet werden konnte. In Vorversuchen war festgestellt worden, daß der Anthocyangehalt etiolierter Keimlinge, die im Zeitpunkt der stärksten Pigmentproduktion in Dauerlicht gebracht wurden, bei einsetzender Belichtung sehr schnell anstieg. Auch Leuko-Anthocyane traten dabei wieder auf.

Entsprechend den 3 angegebenen Reihen wurden Keimlinge als Parallelmaterial in Petri-Schalen herangezogen, von denen jeweils 60 Stück zur Farbstoffbestimmung dienten. Sie wuchsen unter gleichen Bedingungen auf wie die Pflanzen,

die zur Atmungsmessung verwendet wurden. Die Bestimmung des CO_2 -Verbrauchs wird dadurch etwas unsicher, daß sich in einem Gefäßpaar zur gleichen Zeit nie einheitliches Material hinsichtlich der Größe befindet. Es wird also die abgelesene Differenz O_2 — CO_2 (für $\text{RQ} < 1$) auf einen Sauerstoffwert bezogen, der nicht von den gleichen Keimlingen stammt. Hier äußert sich wieder der allgemeine Nachteil der Warburg-Technik bei der Anwendung auf höhere Pflanzen. Der Vergleich zahlreicher Versuche hat jedoch gezeigt, daß die Methode für die hier anzustellenden Betrachtungen ausreichend ist.

Bei etiolierten Keimlingen (Abb. 4) stimmt der Verlauf der Atmungs- und Anthocyankurven gut überein und er könnte Schlüsse über mögliche Zusammenhänge nahelegen. Der Anthocyan-gehalt nimmt zu, solange auch die Atmungsintensität ansteigt, und er bleibt annähernd gleich, wenn die Atmung wieder abnimmt.

Bei den im Licht gewachsenen Keimlingen (Abb. 5) sind die Kurven für die Atmung in ihrem Verlauf denen von Abb. 4 ähnlich, aber die Anthocyanbildung steigt hier noch an, wenn die Atmungsgrößen schon zu-

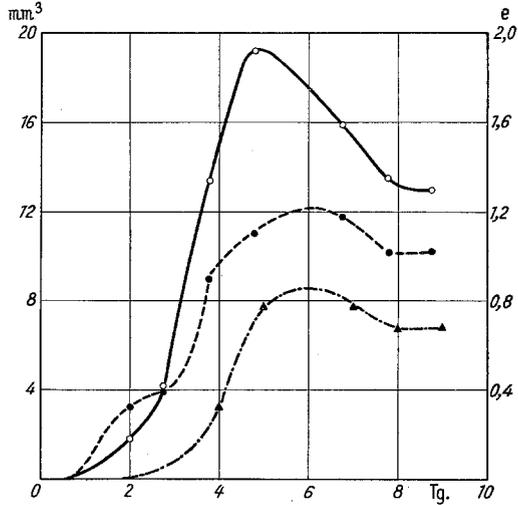


Abb. 4. Atmung und Anthocyanbildung etiolierter Rotkohlkeimlinge (auf Filterpapier bei 23° C gezogen). Abszisse: Tage nach der Aussaat. Ordinate, linke Skala: mm^3 Gas je Keimling je Stunde. Ordinate, rechte Skala: Anthocyan aus 60 Keimlingen (1 cm-Küvette).
 ○ — — — ○ O_2 -Verbrauch; ● - - - - ● CO_2 -Abgabe; ▲ - - - - ▲ Anthocyan.

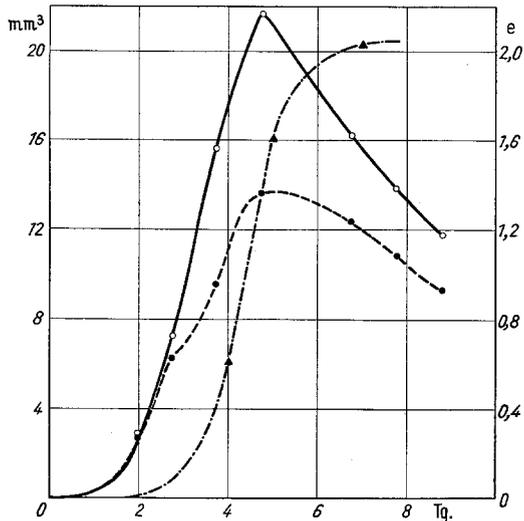


Abb. 5. Atmung und Anthocyanbildung von Rotkohlkeimlingen, die im Licht aufgewachsen sind (übrige Daten wie bei Abb. 4). ○ — — — ○ O_2 -Verbrauch; ● - - - - ● CO_2 -Abgabe; ▲ - - - - ▲ Anthocyan.

rückgehen. Eine wesentliche Übereinstimmung beider Anthocyankurven (Abb. 4 und 5) ergibt sich jedoch, wenn man die *Steigung* betrachtet,

die ja die Größe der Farbstoff-Bildung in dem betreffenden Augenblick angibt. Der RQ ist in den Anfangsstadien der Keimung ungefähr 1 oder etwas größer als 1. Die Anthocyansynthese tritt erst in dem Stadium merklich in Erscheinung, in dem der RQ kleiner als 1 wird. Die Farbstoffzunahme ist dann am größten, wenn der RQ seinen geringsten Betrag erreicht. Sie wird in dem Zeitpunkt wieder kleiner, wo der RQ anzusteigen beginnt. Der niedere RQ deutet auf den Umsatz von Fetten hin, die häufig als Reservematerial in Cruciferensamen auftreten. Man kann also sagen, daß die Anthocyansynthese nur während der Mobilisierung der Reservefette in größerem Maße vor sich geht.

Tabelle 1 zeigt an Hand von Zahlenangaben, daß der Anthocyanzuwachs am größten ist, wenn der RQ ein Minimum durchläuft.

Tabelle 1. Tägliche Anthocyanzunahme und RQ bei Rotkohlkeimlingen. (Übrige Daten wie bei Abb. 4 und 5.)

Alter in Tagen	Etiolierte Keimlinge		Belichtete Keimlinge	
	AC-Zunahme	RQ	AC-Zunahme	RQ
2	—	> 1	—	1,00
3	0,06	0,81	0,10	0,75
4	0,27	0,63	0,51	0,65
5	0,45	0,59	0,99	0,64
6	0,06	0,69	0,31	0,73
7	—	0,76	0,12	0,77

In einer 3. Versuchsreihe wurden etiolierte Keimlinge am 5. Tage ins Dauerlicht gestellt (Abb. 6). Die Belichtung setzt zu einer Zeit ein, zu der das Anthocyan schon fast seine volle Ausbildung hat und die Atmung zurückgeht.

Während die Dunkelkontrollen noch weiter abnehmende Atmungsintensität zeigen, tritt bei Belichtung ein Anstieg auf. Gleichzeitig nimmt das Anthocyan zu. Der Atmungsanstieg hält nur etwa 1 Tag an, doch bleibt die Atmungsintensität auch in den folgenden Tagen größer als die der Dunkelkontrollen. Aus dieser Beobachtung läßt sich eine Aussage ableiten, die mit den bisherigen Ergebnissen übereinstimmt: Die Bildung des Farbstoffes erfolgt dann, wenn auch die Atmungsintensität zunimmt oder hohe Werte aufweist.

Der Anstieg der Atmung bei Belichtung etiologierter Keimlinge läßt sich nicht auf die gleiche Weise erklären wie der Hauptanstieg in den ersten 4 Entwicklungstagen. Die allgemeine Tendenz einer abnehmenden Atmungsgröße und einer Annäherung an den RQ 1 bleibt erhalten. Mit einem erneut einsetzenden Fettabbau ist nicht zu rechnen. Sicherlich gehen aber unter Belichtung neue Synthesen in den Keimlingen vor sich, mindestens diejenige des Chlorophylls. Im Gefolge dieser offenbar energieverbrauchenden Synthesen wird auch wieder Anthocyan

aufgebaut. Möglicherweise werden die beim Fettabbau gewonnenen Zuckerreserven in erhöhtem Maße mobilisiert, so daß ein Teil des umgesetzten Materials für den Aufbau des Farbstoffes zur Verfügung stehen kann.

Der beobachtete Sachverhalt könnte aber auch mit dem Ablauf einer photochemischen Reaktion bei der Anthocyansynthese (vgl.

KARSTENS 1939) zusammenhängen, wobei diese Reaktion entweder selbst Sauerstoff verbraucht oder von einer O₂-verbrauchenden Folgereaktion begleitet wird. Wenn dieser Fall

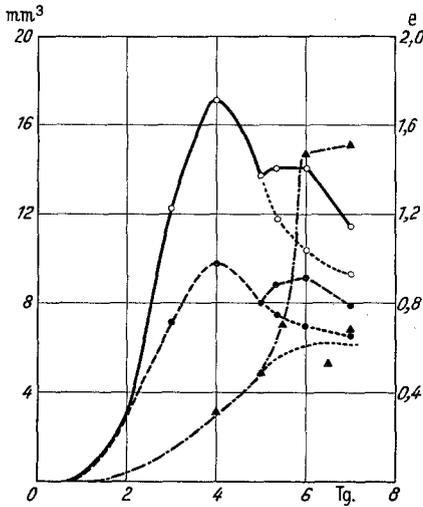


Abb. 6.

Abb. 6. Atmung und Anthocyanbildung etiolierter Rotkohlkeimlinge, die vom 5. Tage an belichtet wurden (übrige Daten wie bei Abb. 4). ○ — ○ O₂; ● — ● CO₂; ▲ — — — ▲ Anthocyan; ······ unbelichtete Kontrollen.

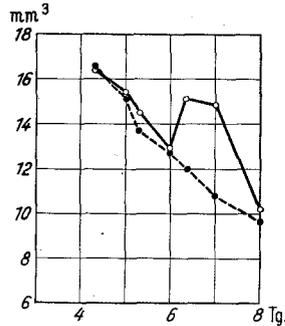


Abb. 7.

Abb. 7. Sauerstoffverbrauch von Weißkohlkeimlingen (auf Filterpapier bei 23° im Dunkeln gezogen). Abszisse: Tage nach der Aussaat. Ordinate: mm³ O₂ je Keimling. ○ — ○ Etiolierte Keimlinge, vom 6. Tag an belichtet. ● — — — ● Etiolierte Keimlinge.

zutreffen sollte, so ist der Atmungsanstieg nicht ausschließlich auf einen solchen Vorgang zurückzuführen, wie die früher angestellte Berechnung der dazu erforderlichen O₂-Menge gezeigt hat.

Um festzustellen, ob der 2. Atmungsanstieg in Abb. 6 allein mit dem Anthocyan in Zusammenhang stehen kann, was von vornherein unwahrscheinlich schien, wurde derselbe Ansatz mit Weißkohlkeimlingen wiederholt. Der Weißkohl zeigt den gleichen Effekt wie Rotkohl (Abb. 7). Der Atmungsanstieg steht also wahrscheinlich in ganz allgemeinem Zusammenhang mit Synthesen, die entweder wie das Chlorophyll Licht benötigen oder wenigstens vom Licht begünstigt werden. Es ist nicht ausgeschlossen, daß im Weißkohl an Stelle des Anthocyans andere Flavanderivate gebildet werden. Es wurde aber auch beobachtet, daß der Weißkohlkeimling durchaus zur Bildung von Anthocyan befähigt ist, wenn auch nur in sehr geringem Umfang. Am Rande der Kotyle-

donen befindet sich eine schmale Zone von anthocyanführenden Zellen. Der distale Rand der Keimblätter ist am stärksten gefärbt. Dies ist auch der Ort, wo sich im Rotkohlkeimling das Anthocyan in besonders starker Konzentration befindet.

2. Reservestoffe, Anthocyan und Atmung.

FREY-WYSSLING und BLANK haben beim keimenden Rotkohl quantitative Zuckerbestimmungen durchgeführt und nach Zusammenhängen zwischen Anthocyangehalt und Zuckermenge gesucht. Ihr Schluß geht

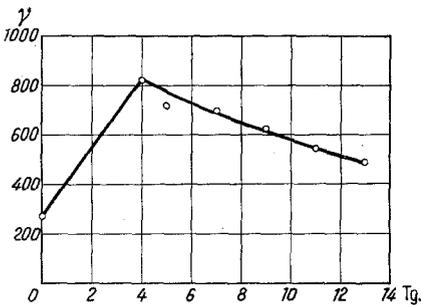


Abb. 8. Gehalt an wasserlöslichen Monosacchariden in etiolierten Rotkohlkeimlingen; 30° C. (Nach Zahlenangaben von FREY-WYSSLING und BLANK 1943, Tabelle 1, S. 558 und Tabelle 3, S. 560.) Abszisse: Tage nach der Aussaat. Ordinate: γ Glucose je Keimling (Methode von HAGEDORN-JENSEN).

dahin, daß die Beziehung zwischen Zuckergehalt und Anthocyanbildung nicht so eng ist, wie von OVERTON angenommen wurde. Immerhin kommen FREY-WYSSLING und BLANK zu dem Ergebnis, daß „in den Keimlingen, die im allgemeinen mehr Zucker enthielten, auch mehr Anthocyan gebildet wurde“. Aber das Fehlen eines zahlenmäßig eindeutigen Zusammenhanges veranlaßt FREY-WYSSLING und BLANK zu der Aussage, daß „ein quantitativer Zusammenhang zwischen Zucker- und Anthocyangehalt höchst fraglich erscheint“.

FREY-WYSSLING und BLANK sind jedoch auf *einen* Zusammenhang nicht eingegangen. Die Zuckerwerte zeigen das stärkste Ansteigen während einer Zeit, in der auch der Farbstoffgehalt am stärksten zunimmt.

In Abb. 8 sind die von FREY-WYSSLING und BLANK angegebenen Zuckermengen — für Keimlinge, die bei 30° aufwuchsen — graphisch dargestellt. Bei dem Vergleich dieser Kurve mit den hier vorliegenden Atmungskurven (Abb. 3 und 4) ergibt sich eine allgemeine Übereinstimmung im Verlauf. Der gesteigerte Stoffwechsel hängt also mit dem Auftreten von löslichen Monosacchariden zusammen.

FREY-WYSSLING und BLANK schreiben die Steigerung der Zuckermengen in den ersten 4 Entwicklungstagen einer Umwandlung von Kohlenhydratreserven zu (S. 571). Sie sprechen auch davon, daß im Rotkohlsamen bedeutende Kohlenhydratreserven in Form von Stärke vorhanden seien (S. 561). Nach eigenen Beobachtungen läßt sich Stärke in den Rotkohlsamen nicht nachweisen, auch wenn man Vorsichtsmaßnahmen gegen eine eventuell sehr aktive Amylase trifft. Die

Samen wurden trocken zerrieben und danach sofort mit Jod angefärbt. Um auch eine mögliche Störung der Jodprobe durch andere Samen-inhaltsstoffe auszuschalten, wurde Jod im Überschuß angewendet und in einer Kontrolle dem Samenextrakt verdünnte Stärkelösung zugegeben. Danach hätte die Jod-Stärke-Färbung wenigstens für die Dauer einiger Minuten auftreten müssen, wenn Stärke vorhanden gewesen wäre.

Statt dessen konnte ein gelbliches, fettes Öl gewonnen werden, das ganz offensichtlich den Hauptreservestoff des Rotkohlsamens bildet. Ausgehend von der Tatsache, daß Fett das Reservematerial bei der Keimung darstellt, soll im folgenden eine Deutung der bisher festgestellten Beobachtungen versucht werden.

Aus dem Absinken des RQ unter den Wert 1 kann geschlossen werden, daß der Fettabbau nach dem 2. Entwicklungstage einsetzt. Zwischen dem 4. und 5. Tag erreicht der Abbau des Reservefettes seinen Höhepunkt. Die Fettspaltstücke werden bis zu einer 2-C-Verbindung abgebaut, die zu den verschiedensten Synthesen in der Zelle dienen kann (vgl. LYNEN, WESSELY, WIELAND und RUEFF 1952; HOLZER 1952). Diese 2-C-Bruchstücke werden zum Teil veratmet, zum Teil zum Aufbau von Cellulose und Monosacchariden (Abb. 8) verwendet¹. Es ist anzunehmen, daß in diesen Entwicklungstagen eine Überschwemmung der Gewebe mit 2-C-Bruchstücken einsetzt, so daß genügend Material für den Aufbau der verschiedensten Pflanzenstoffe zur Verfügung steht. Der intensive Fettabbau hat auch eine reichliche Versorgung des Keimlings mit synthetisch nutzbarer Energie zur Folge. Aus dem anfallenden Material und aus den verfügbaren energiereichen Bindungen werden Synthesen gespeist, zu denen auch die Anthocyanbildung gehören kann. Später klingt die Fettmobilisierung aus, und es bleibt kein überschüssiges Material mehr, um Nebenkä-näle des Stoffwechsels zu versorgen. Die Anthocyansynthese hört auf. Auch die Bildung von Monosacchariden ist beendet. Zuckergehalt, 2-C-Spiegel und Atmung sinken.

Der bis dahin aus den Veränderungen des RQ erschlossene Verlauf des Fettabbaues bei der Keimung konnte mit Hilfe von quantitativen Fettbestimmungen bestätigt werden. Die graphisch dargestellten Verhältnisse (Abb. 9) zwischen Abbau des Reservefettes und Anthocyanbildung in etiolierten Keimlingen zeigen, daß die Farbstoffsynthese

¹ Auch der RQ gibt einen Hinweis darauf, daß während des Fettabbaues eine Synthese von Kohlenhydraten erfolgt. Für die vollständige Oxydation einer der in Cruciferensamen vorherrschenden Fettsäuren (vgl. BONNER 1950, S. 361) ist ein RQ von etwa 0,7 kennzeichnend. Der Umbau einer Fettsäure in Kohlenhydrat geht ohne CO₂-Entwicklung, aber unter O₂-Verbrauch vor sich. Deshalb muß beim Ablauf beider Umsetzungen der RQ < 0,7 werden. Das ist tatsächlich der Fall.

erst mit der Abnahme des Fettgehaltes einsetzt und daß die intensivste Anthocyanbildung tatsächlich im Stadium des stärksten Fettumsatzes auftritt. Die gleichen Verhältnisse finden sich auch bei Keimlingen, die im Licht aufgewachsen sind.

Je 100 Rotkohlsamen¹ bzw. Rotkohlkeimlinge wurden in der Reibschale mit etwas Quarzsand zerrieben, im Falle von Keimlingen unter Zusatz von wasserfreiem Na_2SO_4 zur Aufnahme des Wassers, und der Extraktion im Soxhlet-Gerät unterworfen. Als Extraktionsmittel diente Tetrachlorkohlenstoff. Nach 6stündiger

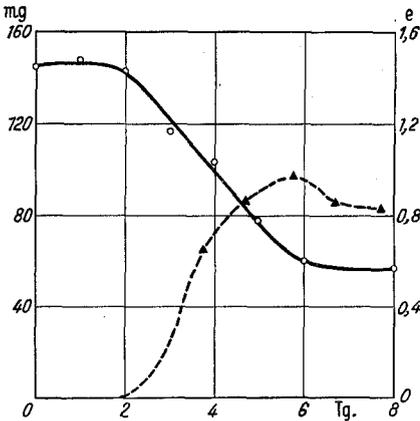


Abb. 9. Fettgehalt und Anthocyanbildung etiolierter Rotkohlkeimlinge (auf Filterpapier bei 21° C gezogen). Abszisse: Tage nach der Aussaat. Ordinate, linke Skala: mg Fett je 100 Keimlinge, Ordinate, rechte Skala: Anthocyan aus 60 Keimlingen. ○—○ Fett, ▲- - - -▲ Anthocyan.

Extraktion wurde das Lösungsmittel abdestilliert. Der Fettrückstand wurde mit Äthyläther aufgenommen und quantitativ in kleine Wägegläschen gespült, die nach Verdunsten des Äthers und einstündiger Trocknung bei 70° C gewogen wurden.

Die „Fett“-Bestimmung erfaßte alle ätherlöslichen Inhaltsstoffe. Es kann jedoch angenommen werden, daß Verbindungen wie Carotinoide, Chlorophylle usw. im Verhältnis zum Reservematerial in quantitativer Hinsicht eine sehr geringe Rolle spielen und daß somit die Kurve im wesentlichen den Verlauf des Fettumsatzes wiedergibt.

3. Die Abhängigkeit der Anthocyanbildung von der Temperatur.

Aus der Tatsache, daß die Anthocyane in vegetativen Organen

besonders im Frühjahr und Herbst auftreten, hat man geschlossen, daß die Anthocyan-synthese durch tiefe Temperaturen begünstigt wird. KULLMAN (1930) lieferte experimentelle Beiträge zu der Vorstellung von einer Begünstigung der Anthocyan-synthese durch Kälte. Bei Keimlingen von Buchweizen (*Fagopyrum esculentum* MOENCH) läuft die Farbstoffbildung bei 20° C (im Dunkeln nach vorausgegangener Belichtung) zwar schneller ab als bei 4—6° C, es werden aber bei der niederen Temperatur viel größere Mengen an Farbstoff gebildet. KULLMAN erklärt dieses Phänomen mit der Konkurrenz von 2 Reaktionen um das Chromogen. Bei höheren Temperaturen soll ein größerer Anteil des vorhandenen Chromogens in eine andere Verbindung übergehen. Der günstige Einfluß kühler Dunkelperioden auf die Anthocyanbildung wurde auch an Früchten beobachtet. Die Rötung am Baum reifender

¹ Für diese Versuche mußten Keimlinge der Sorte „Haco“ (1952) herangezogen werden, da die bisher verwendete Sorte „Amerikanische Mammuth“ nicht mehr zu beschaffen war.

Äpfel wird durch tiefe Nachttemperaturen (+ 7° C) gefördert. Bei 25° C mittlerer Nachttemperatur bleibt die Anthocyanbildung aus (UOTA 1952).

Dagegen geht aus den Versuchen von KATIC (1905) hervor, daß die Farbstoffsynthese in vielen Fällen durch höhere Temperaturen begünstigt wird. Bei *Hydrilla verticillata* konnte unter sonst optimalen Bedingungen niemals Anthocyanbildung beobachtet werden, wenn die mittlere Temperatur weniger als 16° C betrug. FREY-WYSSLING und BLANK heben diesen Widerspruch durch ihre Vorstellung auf, daß alle Pflanzen bezüglich der Anthocyanbildung ein eigenes Temperaturoptimum besitzen, das wahrscheinlich mit dem Optimum des Stoffwechsels zusammenfällt.

FREY-WYSSLING und BLANK kamen zu dem Ergebnis, daß das Temperaturoptimum für die Farbstoffbildung im Rotkohlkeimling zwischen 10 und 30° C liegt. In der Versuchsreihe bei 20° C war die Anthocyanbildung am stärksten. Es heißt bei FREY-WYSSLING und BLANK: „In den Keimlingen, die bei 10° C wuchsen, wurde nicht einmal die Hälfte des bei 20 und 30° C gebildeten Anthocyans gemessen. Einer langsamen Anthocyanbildung entspricht bei 10° C auch eine wesentlich verlangsamte Abnahme des Farbstoffes im Hungerstoffwechsel.“ (Vgl. Abbildung 10.)

Betrachtet man jedoch die Zahlen der Tabelle 2 in der Arbeit von FREY-WYSSLING und BLANK (S. 558), in der gerade Angaben über die Extremwerte der angewendeten Temperaturen vorliegen, so findet man 1. daß die Produktion bei 10° C nicht wesentlich erniedrigt ist gegenüber derjenigen bei 30° C; 2. daß die Abnahme im Hungerstoffwechsel in beiden Reihen ungefähr gleich schnell verläuft und nur bei den Keimlingen länger verfolgt werden kann, die bei der niederen Temperatur im Dunkeln länger lebensfähig sind.

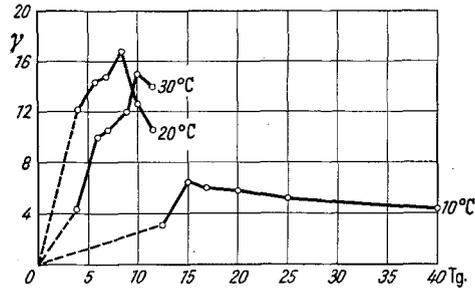


Abb. 10. Anthocyangehalt in etiolierten Rotkohlkeimlingen bei verschiedenen Temperaturen. (Nach FREY-WYSSLING und BLANK.) Abszisse: Alter in Tagen. (Die Meßpunkte entsprechen der Reihe nach einer Keimlingsgröße von 20, 30, 40, 55, 65 und 80 mm.) Ordinate: γ Anthocyan je Keimling.

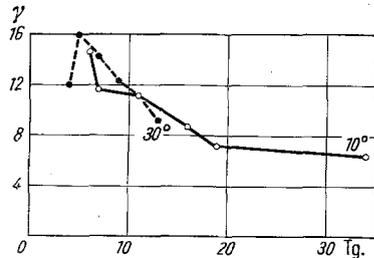


Abb. 11. Anthocyangehalt in etiolierten Rotkohlkeimlingen bei verschiedenen Temperaturen. Die Keimlinge beider Reihen wurden während der ersten 72 Std bei 20° C gehalten. (Übrige Angaben wie bei Abb. 10.) (Nach Zahlenangaben von FREY-WYSSLING und BLANK.)

Die Ergebnisse dieser Tabelle 2 (S. 558) sind in gleichem Maßstab wie Abb. 10 unter Zuhilfenahme der Tabelle 1 von FREY-WYSSLING und BLANK in Abb. 11 dargestellt. Bei dem Vergleich dieses Ergebnisses mit demjenigen von Abb. 10 muß beachtet werden, daß zwischen beiden Versuchsreihen ein Unterschied in der Versuchsanordnung besteht: Die Keimlinge, die in Abb. 11 vermerkt sind, wurden zwar bei den angegebenen Temperaturen gehalten, waren jedoch während der ersten 3 Keimungstage gemeinsam der Temperatur von 20° C ausgesetzt. Bei den Keimlingen der Abb. 10 wirkten die angeführten Temperaturen schon vom Beginn der Keimung an. Man wird also die Erklärung heranziehen müssen, daß in den ersten 3 Entwicklungstagen eine temperaturempfindliche Phase der Farbstoffbildung besteht. Das bedeutet aber, daß sich die Temperatur nur während der Bildung der Anthocyanvorstufen auswirkt, denn in den ersten 2—3 Tagen der Keimung wird kaum Anthocyan sichtbar. Wahrscheinlich sind gerade die frühen Phasen der Umwandlung von Reservestoffen für die Menge des später gebildeten Anthocyan maßgebend. Hält man die ausgelegten Samen schon während der Anfangszeit der Keimung bei verschiedenen Temperaturen, so läuft der Umsatz der Reservestoffe mit verschiedener Geschwindigkeit an und liefert schon in den ersten Tagen unterschiedliche Mengen von Material für die Anthocyan synthese.

Diese Vorstellung wird durch eigene Messungen unterstützt (Tabelle 2).

Tabelle 2. *Anthocyanbildung etiolierter Rotkohlkeimlinge bei verschiedenen Temperaturen. (In Flußsand gezogen.)*

	Tage nach der Aussaat	Länge mm	Anthocyan (60 Keimlinge)
Bei 22—24° C gekeimt und aufgewachsen	5	30	1,07
	7	40	1,10
	9	70	1,44
3 Tage bei 22—24° C gekeimt, danach bei 10° C gehalten	9	30	0,72
	12	40	0,85
	17	60	0,80
Bei 10° C gekeimt und aufgewachsen	12	25	0,39
	17	50	0,55
	24	70	0,57

Beim Umstellen von 22° auf 10° C waren die Wurzeln ausgetreten, die Hypokotyle noch nicht sichtbar. — Zur Farbstoffbestimmung wurden je 60 Keimlinge mit salzsaurem Alkohol (p_H 2,5) extrahiert. (Die bei 10° C gezogenen Pflanzen eigneten sich nicht für wäßrige Extraktion, weil das Filtrat trüb durchlief. Dieser Mißstand wurde durch Verwendung von salzsaurem Alkohol beseitigt.)

IV. Untersuchungen über Atmung und Anthocyanbildung bei Blättern von *Saxifraga crassifolia* L.

1. Lokalisation des Anthocyan.

Für die vorliegenden physiologischen Untersuchungen über die Anthocyanbildung hat sich Blattmaterial von *Saxifraga crassifolia* L. als besonders geeignet erwiesen. Die Blätter dieser Pflanze sind groß, bilden viel Anthocyan und können fast zu jeder Jahreszeit verwendet werden. Der Farbstoff erscheint im Herbst in großen Mengen und hält sich den Winter über. Im Frühjahr vertrocknen die vorjährigen Blätter, wobei sie sich dunkelbraun bis schwarzbraun verfärben. Gleichzeitig treiben die jungen Blätter aus.

An dieser Pflanze läßt sich häufig feststellen, daß der Farbstoff nicht gleichmäßig in der ganzen Blattspreite auftritt, sondern daß sich im gleichen Blatt anthocyanhaltige und anthocyanfreie Bereiche finden können. Das Anthocyan entwickelt sich in den Teilen besonders stark, die in reichem Lichtgenuß stehen. Es handelt sich um dasselbe Phänomen, das bei vielen herbstroten Gewächsen auftritt, so z. B. bei den *Parthenocissus*-Arten. Bei *Saxifraga* können auch in den Zeiten der stärksten Rötung noch grüne Blätter oder wenigstens grüne Teile von Blättern gefunden werden. Das Anthocyan tritt in der Epidermis und im Mesophyll auf. Leuko-Anthocyane sind nur in geringer Menge vorhanden.

2. Atmung grüner und roter Blattabschnitte.

Aus einem *Saxifraga*-Blatt, das grüne und rote Bereiche besaß, wurden flächengleiche Stücke ausgeschnitten, deren Atmungsintensität bestimmt wurde (Tabelle 3)¹.

Sowohl Sauerstoffverbrauch als auch CO₂-Produktion sind in geröteten Blattbereichen gegenüber den grünen deutlich erhöht. Der RQ verhält sich in beiden Fällen gleich. Auch für *Saxifraga crassifolia* tref-

Tabelle 3. Gaswechsel verschieden gefärbter Teile eines *Saxifraga*-Blattes (mm³ Gas je 6 cm² Blattfläche je Stunde). (Zur Messung der Extinktion wurden je 12 cm² Blattfläche extrahiert; Extrakt auf 10 ml aufgefüllt; 2 cm-Küvette.)

	O ₂	CO ₂	RQ	Extinktion bei 5300 Å
Grüne Teile . .	32	35	1,09	0,02
Rote Teile . .	46	50	1,09	3,32

fen also ähnliche Verhältnisse zu, wie sie bei verschiedenen anderen Objekten beobachtet worden sind (vgl. PÆCH 1950, S. 191).

Dieses Resultat hat eine Parallele im Stoffwechsel reifender Früchte. Wenn auch bei manchen Früchten (z. B. Banane, Citrone) die Farbänderung während der Reifung nur auf dem Hervortreten von Carotinoiden

¹ Das Blatt war am 27. 11. bei einer Temperatur von + 2° C gepflückt und langsam an die Versuchstemperatur von 25° C angeglichen worden.

nach dem Chlorophyllabbau beruht, so setzt doch in vielen fleischigen Früchten mit der Reifung auch eine lebhafte Farbstoffsynthese ein. Das gilt sowohl für die Polyenfarbstoffe in den Plastiden (z. B. *Solanum Lycopersicum*, *Sorbus aucuparia* u. a.) als auch für die Vacuolenpigmente (z. B. in den *Vaccinium*-Arten, in *Rubus fruticosus*, *Sambucus nigra* u. v. a.)¹. Neben diesem auffälligen Merkmal der Verfärbung ist für die Fruchtreifung auch eine Veränderung der Atmungsintensität kennzeichnend. Im Verlauf der Reifung tritt bei vielen Früchten ein charakteristischer Atmungsanstieg auf, der in der angelsächsischen Literatur als „climacteric rise“ bezeichnet wird und zuerst bei Äpfeln beobachtet wurde (KIDD und WEST 1921; vgl. PAECH 1952,

Tabelle 4. *Atmungsgröße der Steinfrüchte von Sambucus nigra im Verlauf der Reifung* (mm³ Gas je 10 Früchte je Stunde). (Messung vom 20. 9.; bei 20° C Wasserbadtemperatur.)

	O ₂	CO ₂	R Q
Grün	74	66	0,89
Hellbraun und grün .	128	127	0,99
Dunkelbraun	165	190	1,15
Schwarzrot	152	209	1,37

Fruchtreifung bei *Sorbus hybrida* hervor. Tabelle 4 zeigt, daß auch die Anthocyanbildung bei Früchten in eine Phase erhöhter Atmungsintensität fällt.

Im Unterschied zu den *Saxifraga*-Blättern steigt bei den Holunderfrüchten der Atmungsquotient im Verlauf der Verfärbung an. Das trifft auch für verschiedene andere Früchte zu (WOLF 1938; vgl. PAECH 1952, S. 277/78).

Blätter von *Parthenocissus vitacea* HITCHCOCK zeigen wieder Verhältnisse, die denen von *Saxifraga*-Blättern ähnlich sind. Sowohl Messungen an verschiedenen Fingern eines Blattes zu verschiedenen Zeiten des Rötungsprozesses als auch Versuche mit gleichzeitig verschieden ausgefärbten Teilen eines Blattes ergaben eine Steigerung der Atmungsintensität hinsichtlich des O₂-Verbrauches und der CO₂-Produktion ohne bedeutende Veränderungen des respiratorischen Quotienten (Tabelle 5).

Es scheint also, als zeigten Früchte und Blätter bei der Reifung bzw. Alterung in ähnlicher Weise den Effekt des „climacteric rise“. Ein Unterschied zwischen beiden besteht darin, daß bei Früchten auch der R Q ansteigt und Werte über 1 erreichen kann, während der R Q der Blätter relativ unverändert bleibt. Die Phase der Verfärbung fällt bei Früchten und Blättern mit dem Atmungsanstieg zeitlich

¹ Lediglich *Rubus chamaemorus* L. macht in dieser Hinsicht eine bemerkenswerte Ausnahme. Der rote Farbstoff in unreifen Moltebeeren verschwindet im Verlauf der Reifung.

S. 275). Dieses Phänomen scheint in vielen Fällen gerade während der Verfärbung aufzutreten. Eine deutliche Beziehung zwischen dem Atmungsklimakterium und der Carotinoidsynthese geht aus den Angaben von WOLF (1938) über die

Tabelle 5. *Atmungsintensität der Blätter von Parthenocissus vitacea* (mm³ Gas je 10 cm² Blattfläche je Stunde) (bei 25° C).

	O ₂	CO ₂	RQ
I. Verschiedene Finger eines Blattes			
8. Oktober: rein grün	32	32	1,00
24. Oktober: beginnende Rötung ¹	47	45	0,96
II. Gleichzeitig verschieden gefärbte Finger eines Blattes. 9. Oktober			
Grüne Teile: Extinktion 0,14.	61	57	0,94
Braungrüne Teile ¹ : Extinktion 0,51.	72	72	1,00

¹ Die braungrüne Färbung ging im allgemeinen in leuchtendes Rot über, die Messungen konnten jedoch an den bezeichneten Blättern nicht fortgesetzt werden, da sie einem Frost zum Opfer fielen.

zusammen. Die Anthocyansynthese ist also nicht nur in Keimlingen sondern auch in alternden Geweben mit einem verstärkten Stoffwechsel verknüpft.

3. *Auslösung der Anthocyansynthese durch Zuckerfütterung. Licht- und Temperatureinfluß.*

Die Förderung der Anthocyansynthese durch Zuckerfütterung ist seit den Versuchen OVERTONS bei verschiedenen Pflanzen beobachtet worden (BLANK 1951; THIMANN, EDMONDSON und RADNER 1951). DANNER (1940) hat in seinen Untersuchungen über die Physiologie des Arbutins bei *Saxifraga crassifolia* sowohl eine Anreicherung des Hydrochinonglucosides als auch eine Rötung der Blätter bei künstlicher Zuckerezufuhr beschrieben. Die Möglichkeit, durch Fütterung mit Rohrzucker die Anthocyanbildung jederzeit hervorrufen zu können, macht *Saxifraga crassifolia* zu einem besonders geeigneten Objekt für die Untersuchung der Farbstoffsynthese. In Tabelle 6 ist die Stärke der Rötung nach 5 Tagen auf 0,1 molarer Rohrzuckerlösung durch die Anzahl der Kreuze ausgedrückt. Die Unterschiede sind bedeutend und für eine Beurteilung leicht mit dem Auge abschätzbar.

Es geht daraus hervor, daß Licht zwar nicht unentbehrlich für die Ausfärbung ist, daß es jedoch die Anthocyanbildung fördert. Dieser Sachverhalt trifft auch für viele andere Objekte zu (z. B. Rotkohl.

Tabelle 6. *Rötung von Teilen eines grünen Saxifraga-Blattes nach 5 Tagen auf 0,1 mol Rohrzucker. (Jede Probe 10 Blattstücke von je 1 cm²; Versuch vom 12. 12.).*

	Wasser	Rohrzucker
10° C Dunkel . .	—	—
24° C Dunkel . .	—	++
24° C Dauerlicht	(+) ¹	+++

¹ Auf Wasser entsteht Anthocyan nur dann, wenn die allgemeine Tendenz zur Ausfärbung der Blätter groß ist. So trat am 12. 12. eine Rötung auf, während die Wasserkontrollen z. B. am 2. 7. rein grün blieben.

keimlinge). Andererseits bilden Pflanzen wie der Buchweizen Anthocyan nur nach Belichtung aus. Ein ganz ähnliches Verhalten gegenüber Licht kann man auch bei der Bildung von Carotinoiden beobachten. Hier gibt es unter den Pilzen Vertreter, die zur Carotinoidsynthese Licht benötigen (*Neurospora sitophila*), während für andere Licht nicht erforderlich ist, aber fördernd wirkt (*Neurospora crassa*). *Phycomyces* produziert im Dunkeln ungefähr halb so viel Carotin wie unter sonst gleichen Bedingungen im Licht. Bemerkenswert ist, daß es sich hier um heterotrophe Organismen handelt, und ein Chlorophylleffekt ausgeschlossen ist (GOODWIN 1952). Vielleicht ergeben sich auch bei der Untersuchung weiterer sekundärer Pflanzenstoffe solche Verhältnisse. Für das Hydrochinonglucosid Arbutin liegen entsprechende Angaben bereits vor (DANNER 1940).

Das Ausbleiben der Färbung bei 10° C hätte auch darauf beruhen können, daß der Zucker bei dieser Temperatur von den Geweben gar nicht aufgenommen wurde. Es mußte deshalb geprüft werden, ob bei 10° C im Dunkeln so viel Zucker aufgenommen wird, daß unter optimalen Bedingungen ohne weitere Zuckerezufuhr Anthocyan entstehen kann. Zu diesem Zweck wurden die Blattstücke, die 5 Tage bei 10° C auf Zucker gehalten worden waren, am 6. Tag mit Wasser abgespült und auf Wasser schwimmend bei 24° C ins Licht gebracht. Erste Rötungszeichen traten schon am nächsten Tage auf, nach 2 Tagen war die Rötung über die ganze Blattfläche ausgedehnt. Das beweist, daß die Intransparenz des Zuckers bei der niederen Temperatur nicht gehemmt ist.

Während einerseits in dem Versuch der Tabelle 6 zum Ausdruck kommt, daß der Pigmentierungsvorgang in *Saxifraga*-Blättern auf Zuckerlösung nur bei höherer Temperatur vor sich geht, zeigt andererseits die Beobachtung der Pflanzen im Freiland, daß die Hauptfarbstoffproduktion in die kühlere Jahreszeit fällt. Dieser Widerspruch könnte durch die Annahme geklärt werden, daß der Einfluß niederer Temperaturen während einer längeren Zeitspanne günstige Ausgangsbedingungen für die Anthocyan-synthese in den Geweben schafft, daß aber die Synthese selbst bei höheren Temperaturen schneller abläuft. Die „günstigen Ausgangsbedingungen“ bestehen vielleicht in ähnlichen Verhältnissen, wie sie für die Kartoffelknolle beschrieben worden sind. Bei Temperaturen über 10° C bleibt der Stärkegehalt der Knolle bei 14tägiger Lagerung nahezu unverändert, während zwischen 0 und 10° C die Stärke rasch abnimmt und der Rohrzuckergehalt ansteigt. Auch pH-Änderungen können für solche Schwankungen des Stärke-Zucker-Gleichgewichtes verantwortlich sein. Die Wasserstoffionenaktivität beeinflusst das Reaktionsgleichgewicht der Phosphorylasereaktion. Erhöhung der Acidität begünstigt die Stärkesynthese. In der Arbeit von KESSLER (1935) liegt für *Saxifraga cordifolia* in dieser Hinsicht Material vor.

Osmotischer Wert und p_H -Wert der Blätter zeigen in allen Jahreszeiten eine weitgehende Parallelität. Während der Herbstmonate steigen beide Größen an. Ihr Anstieg fällt zeitlich mit der stärksten Anthocyanbildung zusammen. Diese Übereinstimmung legt die Deutung nahe, daß während der kühleren Jahreszeit hydrolytische (oder phosphorolytische) Prozesse vorherrschen, die eine reichliche Zuckerversorgung zur Folge haben und für die Anthocyansynthese günstig sind, weil sie die Voraussetzungen für eine erhöhte Stoffwechselintensität schaffen (vgl. Tabelle 3).

Es sei noch die allgemeine Beobachtung hinzugefügt, daß die Farbstoffbildung auf Zuckerlösung in den Spätherbstmonaten und im Winter am schnellsten, im Mai und Juni am langsamsten vor sich geht. Diese unterschiedliche Reaktion der Blätter zu verschiedenen Jahreszeiten kann entweder darauf beruhen, daß die Konzentration von Stoffen, die zur Anthocyansynthese herangezogen werden, jahreszeitlich schwankt, oder darauf, daß die Verwendung des gebotenen Zuckers jahreszeitlich verschieden ist. Dabei könnte der Entwicklungszustand der Blätter — besonders im Hinblick auf Celluloseaufbau und Stärkespeicherung — eine Rolle spielen.

4. Die Beeinflussung der Atmungsintensität durch Wundränder.

Um ein leichtes Eindringen des Zuckers zu erzielen und um flächengleiches Material in die Warburg-Gefäße einführen zu können, wurden aus den Blättern quadratische Blattstücke ausgestanzt. Es ist denkbar, daß die Verwundung bei dem Ausschneiden der Blattstücke von einer gewissen Bedeutung für Anthocyanbildung und Atmung ist. Man kann häufig beobachten, daß Anthocyan an Verletzungsstellen auftritt. Grüne Blätter von *Saxifraga crassifolia* haben an verletzten Randstellen oft einen schmalen, roten Farbhof. Da die Methodik ähnliche Verhältnisse schafft, muß die Frage aufgeworfen werden, worin die Wirkung von Schnittträgern bei der Farbstoffproduktion und bei der Atmung bestehen könnte. Für die Anthocyansynthese werden die Wundränder in erster Linie die Aufnahme des dargebotenen Zuckers erleichtern. In den meisten Fällen ist daher der Beginn der Rötung an den Rändern zu beobachten. Es kommt jedoch auch vor, daß sich Blattstücke ziemlich gleichzeitig über die ganze Fläche verfärben.

Daß die Schnittwirkung noch in anderer Hinsicht bei der Pigmentbildung mitspielt, könnte aus einer Beziehung zwischen Schnitttrandlänge und Atmung abgelesen werden. In dem in Tabelle 7 gezeigten Effekt kommt ein erhöhter

Tabelle 7. Der Einfluß von Wundrändern auf die Atmung ($mm^3 O_2/Std$). (Es wurden 4 flächengleiche Stücke eines grünen *Saxifraga*-Blattes untersucht, von denen 2 in je 9 gleich große Einzelstücke zerlegt, die beiden andern zunächst unzerteilt verwendet wurden; $24^{\circ}C$).

		$mm^3 O_2$		$mm^3 O_2$
1 Blattstück	9 cm^2	22	} nach Zerteilen	31
1 Blattstück	9 cm^2	24		} in 9 Blattstücke
9 Blattstücke	je 1 cm^2	33		
9 Blattstücke	je 1 cm^2	33		32

Stoffumsatz bei Verletzung zum Ausdruck, sofern man nicht annehmen will, daß die Schnittländer lediglich die Gasdiffusion erleichtern. Eine Verdreifachung der Schnittrandlänge hat eine Erhöhung der Atmung um etwa 40% zur Folge. Dieser erhöhte Stoffwechsel könnte durchaus einen Einfluß auf die Farbstoffsynthese haben. Verletzung allein — ohne Zugabe von Zucker — führt allerdings nicht zur Anthocyanbildung, ausgenommen in den Fällen, in denen das verwendete Material schon natürlicherweise eine starke Tendenz zur Farbstoffbildung zeigt, nämlich im Winter.

Es muß also festgehalten werden, daß mit den angegebenen Werten für die Atmungsgröße in keinem Fall der *Saxifraga*-Versuche die Atmung des unverletzten Blattes gemeint sein kann. Der durch die Schnittwunden hinzugekommene Faktor dürfte sich aber aufheben, da das in den Versuchen verglichene Material jeweils dieselbe Gesamtlänge an Schnittländern besitzt. Sowohl hinsichtlich der Farbstoffmengen als auch der Atmungsgrößen ist daher ein Vergleich solcher Proben berechtigt.

5. Atmung und Anthocyanbildung bei künstlicher Zuckerzufuhr.

Es hatte sich herausgestellt, daß die Farbstoffbildung schneller vor sich geht, wenn die Blattstücke gleich zu Beginn des Versuches mit Zuckerlösung infiltriert werden (Kontrollen mit Wasser infiltriert). Deshalb wurde dieses Verfahren bei allen folgenden Versuchsreihen angewandt.

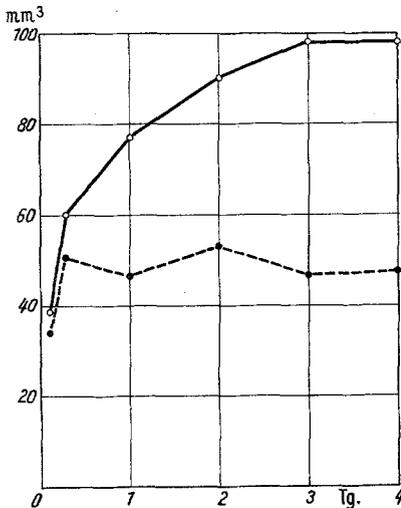


Abb. 12. Atmung von Teilen eines grünen *Saxifraga*-Blattes auf 0,1 mol Rohrzuckerlösung. mm³ O₂ je 6 cm² Blattfläche je Stunde. (Das Material wurde bei 22°C im Dauerlicht gehalten; übrige Angaben wie bei Tabelle 8.) Versuch vom 11.—15. 3. Anthocyan nur auf Zucker gebildet.
○ — Zucker; ● — Wasser.

Tabelle 8. Anthocyanbildung und Atmung von Teilen eines grünen *Saxifraga*-Blattes auf 0,1 mol Rohrzuckerlösung (mm³ Gas je 6 cm² Blattfläche je Stunde). (Das Material wurde bei 21°C im Dauerlicht gehalten; die Atmung bei 24°C im Dunkeln gemessen; 1. Messung vor, 2. Messung nach der Infiltration; Anthocyan aus je 10 Blattstücken; Versuch vom 1.—10. 3.)

Tag	Zucker		Wasser	
	O ₂	CO ₂	O ₂	CO ₂
1.	46	49	49	45
3.	64	65	53	51
4.	83	81	54	52
5.	92	90	61	58
6.	102	109	64	61
7.	124	119	73	69
8.	122	119	64	61
10.	122	121	60	62
10. Extinktion:	2,08		0,20	

Bevor die Blattstücke auf die entsprechenden Lösungen kamen, wurde das Ausdunsten der Interzellularen nach der Infiltration abgewartet.

Tabelle 8 zeigt den Verlauf der Atmung von Blattstücken auf Zuckerlösung. Während die Blättchen auf Wasser nach 10 Tagen nur schwach rötlich waren, trat auf Zucker eine tiefe, durchgehende Rötung auf.

Die Anthocyansynthese ist von einer verstärkten Atmung begleitet. Der R.Q. unterliegt gewissen Schwankungen, weist jedoch keinen Gang auf.

Der leichte Atmungsanstieg bei den Wasserkontrollen wurde auch in Wiederholungsversuchen beobachtet (Abb. 12). Er wird auf die Verletzung oder auf die Veränderung der Hydraturverhältnisse zurückzuführen sein.

Eine Korrelation zwischen Anthocyanbildung und Atmung besteht also nicht nur bei der natürlichen Verfärbung des *Saxifraga*-Blattes, sondern auch bei der experimentell erzeugten Pigmentierung. Ein entsprechender Zusammenhang zeigt sich auch, wenn man das Verhalten ver-

schiedener Blattabschnitte auf Zuckerlösung untersucht. Es besteht zwar kein ausgeprägter Gradient zwischen Basis und Spitze eines Blattes in bezug auf Atmung und Anthocyanbildung, doch geht aus Tabelle 9 wiederum eine Parallelbeziehung beider Größen hervor.

Tabelle 9. *Atmung und Anthocyanbildung von Blattstücken aus dem apikalen, mittleren und basalen Bereich von grünen Saxifraga-Blättern auf 0,1 mol Rohrzuckerlösung.* (Das Material wurde bei 24° C im Dauerlicht gehalten; Atmungsmessung bei 24° C im Dunkeln). Mittelwert aus 2 Blättern. Anthocyan aus je 10 Blattstücken (10 cm² Blattfläche); Sauerstoffverbrauch: mm³ O₂ je 10 cm² Blattfläche je Stunde. Die täglich gemessenen Werte sind addiert. Versuch vom 25.—30. 4.

	O ₂ - Verbrauch	Anthocyan
Spitze	1039	0,81
Mitte	1058	0,88
Basis.	928	0,70

6. *Atmung bei Zuckerzufuhr im Licht und im Dunkeln.*

Nachdem eine Übereinstimmung im Verhalten von Anthocyanbildung und Atmung auf Zuckerlösung festgestellt worden war, blieb zu prüfen, ob die Verwertung des gebotenen Zuckers — wie sie in der Atmung zum Ausdruck kommt — im Licht und im Dunkeln unterschiedlich verläuft (Tabelle 10).

Tabelle 10. *Atmung von Teilen eines grünen Saxifraga-Blattes auf 0,1 mol Rohrzuckerlösung.* Das Material wurde bei 25° C im Licht bzw. im Dunkeln gehalten. (mm³ O₂ je 10 cm² Blattfläche je Stunde.) (Atmungsmessung bei 24° C, 1. Messung vor, 2. Messung nach der Infiltration; Verdunkelung der Dunkelprobe nach Infiltration und nach Ausdunsten der Interzellularen.)

Tag	Zucker		Wasser	
	Licht	Dunkel	Licht	Dunkel
7. 7. vor Inf.	111	117	113	115
7. 7. nach Inf.	133	130	133	128
8. 7.	184	130	123	114
9. 7.	177	132	104	97
10. 7.	172	170	92	120

Wir bemerken hier die auffallende Erscheinung, daß die Atmung im Licht früher ansteigt, und können daraus schließen, daß der gebotene Zucker im Licht schneller verwertet wird als im Dunkeln. Die Parallelität von Atmung und Anthocyansynthese ist auch hier deutlich: beide

Vorgänge sind im Licht gesteigert, im Dunkeln kommt es dagegen erst nach längerer Zeit zu einem Atmungsanstieg und die Farbstoffbildung ist gering. Während bei dem angeführten Versuch im Dunkeln noch kein Anthocyan auftrat, setzte die erste Rötung der Blattstücke im Licht am 2. Versuchstage ein. Mit Zucker behandelte *Saxifraga*-Blätter können aber auch im Dunkeln Anthocyan bilden (vgl. Tabelle 6).

Es gibt eine Reihe von Erklärungsmöglichkeiten für dieses Phänomen der Atmungssteigerung im Licht. Man könnte an eine vom Zucker un-

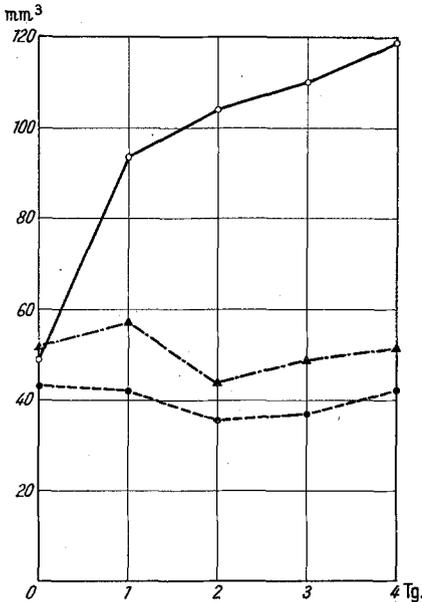


Abb. 13. Atmung von *Saxifraga*-Blattstücken auf 0,1 mol Rohrzucker bzw. d-Mannit. mm³ O₂ je 6 cm² Blattfläche je Stunde. (Das Material wurde bei 24° C im Dauerlicht gehalten; Messung bei 24° C im Dunkeln; Versuch vom 25.—29. 3.).
○ — Zucker; ▲ — Mannit;
● — Wasser.

Lösung ab und bringt sie unter Belichtung in eine feuchte Kammer, so zeigen die vorher grünen Blätter eine sehr rasche Farbstoffbildung. Es muß also auch im Dunkeln genügend Zucker aufgenommen worden sein. Das Licht scheint in dieser Beziehung nicht auf dem Wege über eine Permeabilitätserhöhung zu wirken.

Es könnte noch an die Wirkung von Spaltöffnungsbewegungen auf die Atmungsgröße gedacht werden. Die Messung von vorher belichteten Blättern über mehrere Stunden im Dunkeln ließ jedoch keine Verminderung der Atmungsintensität erkennen, so daß dieser Faktor als Erklärung ausgeschlossen werden kann.

abhängige Veränderung des Plasma- und damit des Fermentzustandes der Gewebe denken. Ein Einfluß von Assimilaten ist bei dem Überschuß an gebotenen Atmungsmaterial nicht zu erwarten. Für die Farbstoffbildung auf Zucker im Licht konnte gezeigt werden, daß ein Mangel an atmosphärischem CO₂ die Ausfärbung nicht verhindert. In die verschlossenen Petrischalen, in denen die Blattstücke auf Zuckerlösung schwammen, wurde eine kleine Schale mit KOH (11%) eingestellt. Die Pflanzen zeigten jedoch genau so ausgeprägte Farbstoffbildung wie die Blättchen auf Zucker ohne Beigabe von KOH.

Die Erhöhung der Permeabilität durch Belichtung kann zu einer erhöhten Wasser- und Elektrolytaufnahme führen. Damit könnte auch eine verstärkte Zuckeraufnahme verbunden sein. Setzt man jedoch die Blattstücke, die im Dunkeln auf Zuckerlösung schwammen, von der

7. Die Wirkung anderer Verbindungen auf die Anthocyanbildung.

Um festzustellen, ob der Zuckereffekt nicht etwa auf einer Reizung durch osmotische Veränderungen oder auf einer anderen unspezifischen Wirkung beruht, wurde auch 0,1 mol d-Mannit zugeführt. Mannit übt weder einen Einfluß auf die Anthocyanbildung noch auf die Atmung aus (Abb. 13). Nach wenigen Tagen waren die Blattstücke auf Zucker tiefrot, auf Mannit blieben sie ebenso wie auf Wasser grün.

0,1 mol Natriumacetat (gepuffert auf p_H 6,0) führt innerhalb einer Woche zu einer starken Bräunung und Schädigung der Gewebe. Rötung tritt zu keinem Zeitpunkt auf. Dieselbe Erscheinung ruft eine Versorgung mit 6×10^{-2} mol Citronensäure (mit NaOH auf p_H 6,0 gepuffert) hervor. Auch in DANNERS Versuchen hatte Citronensäure keinen fördernden Einfluß auf die Anthocyanbildung.

0,1 mol Glycerin fördert die Anthocyanbildung bei Blattstücken von *Saxifraga crassifolia*.

8. Die Wirkung von Jodessigsäure auf die Anthocyansynthese.

Die weitgehende Parallelität von Zuckerumsatz und Farbstoffbildung deutet zwar darauf hin, daß die Abbauprodukte oder der Energiegewinn aus dem Kohlenhydratumsatz eine Voraussetzung für die Anthocyansynthese sind, schließt aber die Möglichkeit nicht aus, daß das Zuckermolekül unabhängig von diesen Prozessen als Ganzes in die Synthese eingeht. Eine Aufklärung darüber, ob lediglich eine Zuckeranhäufung für die Anthocyanbildung entscheidend ist, konnte von der Hemmung des glykolytischen Abbaues durch Jodessigsäure erwartet werden.

Die Behandlung der Blattstücke mit 4×10^{-4} bis 8×10^{-4} molarer Jodessigsäure vom Beginn des Versuches an erwies sich als unbrauchbar. Die Zeit bis zum Einsetzen der Anthocyanbildung wurde von den vergifteten Blättern im allgemeinen nicht ohne Schädigung ertragen, obwohl die Atmung niemals vollständig gehemmt ist. Es war deshalb nötig, die Versuchsanordnung so zu treffen, daß das Pflanzenmaterial bei Versuchsende noch in frischem, turgeszentem Zustand angetroffen werden konnte.

Die Blattstücke wurden auf Zuckerlösung gebracht und bis zum Einsetzen der Farbstoffbildung darauf belassen. Dann wurden von 4 vergleichbaren Proben aus demselben Blatt 2 extrahiert und die Anthocyanmenge bestimmt. Die Infiltration der beiden übrigen Proben mit 2×10^{-3} mol Jodessigsäure bzw. Wasser geschah zur gleichen Zeit. Diese Ansätze standen ohne Zuckerlösung in einer feuchten Kammer unter den gleichen Bedingungen wie in den Tagen vor der Infiltration. Nach einem weiteren Tag wurde die Farbstoffzunahme bestimmt (Abb. 14).

Die Atmung sinkt nach der Jodessigsäurebehandlung ab, und es wird kein weiterer Farbstoff mehr gebildet. Das Resultat unterstützt die Vorstellung, daß nur der umgesetzte Zucker bei der Anthocyan-synthese wirksam ist. Da Jodessigsäure die Dehydrierung von 3-Phosphoglycerinaldehyd hemmt, kämen von den Spaltprodukten des Kohlenhydratabbaues nur die auf den Glycerinaldehyde folgenden als synthetisches Material für die Anthocyanbildung in Frage.

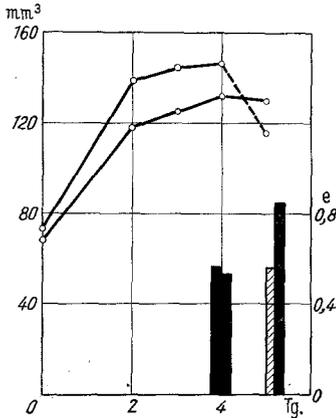


Abb. 14. Atmung und Anthocyanbildung von *Saxifraga*-Blattstücken bei Vergiftung mit Jodessigsäure (2×10^{-3} mol). Bis zum 4. Tag gleiche Behandlung auf 0,1 mol Rohrzuckerlösung bei 25° C im Dauerlicht, danach Infiltration mit JCH_2COOH bzw. H_2O . Ordinate links: O_2 -Verbrauch je 10cm^2 Blattfläche und Stunde. ○—○ Auf Zucker allein, ○- - -○ nach dem 4. Tage mit Jodessigsäure vergiftet. Ordinate rechts: Anthocyan aus 20 Blattstücken; am 4. Tag: Parallelproben, am 5. Tag: schwarze Säule = unvergiftete, schraffierte Säule = mit Jodessigsäure vergiftete Probe. (Versuch vom 17.—22. 5.)

Jodacetat unterbricht jedoch nicht nur den Abbau der Kohlenhydrate, sondern greift infolgedessen auch direkt hemmend in den Aufbau energiereicher Bindungen ein. Nach den neueren Vorstellungen über den Mechanismus der Triosephosphatdehydrierung (HOLZER und HOLZER 1952) muß der Reaktionshemmung durch Jodessigsäure in dieser Hinsicht eine erweiterte Bedeutung zugemessen werden. Die Bildung der Acyl-S-Gruppierung, die der Bildung der energiereichen Phosphatbindung vorausgeht, ist durch die Reaktion der Jodessigsäure mit den Sulfhydrylgruppen der Triosephosphatdehydrase unterbunden. Die Hemmung eines synthetischen Vorganges als Folge einer Vergiftung der Triosephosphatdehydrase braucht deshalb nicht (oder nicht nur) auf einem Fehlen der Abbauprodukte von 3-Phosphoglycerinaldehyd zu beruhen. Sie kann auch mit der Unterbrechung des Aufbaues von energiereichen Bindungen zusammenhängen. Es läßt sich deshalb zunächst nicht entscheiden, ob die Hemmung der Anthocyanbildung auf dem Fehlen von Kohlenhydratspaltprodukten oder auf dem Mangel an synthetisch nutzbarer Energie beruht.

9. Die Wirkung von 2,4-Dinitrophenol (DNP) auf die Anthocyan-synthese.

Zur Klärung dieser Frage kann ein Eingriff in den Stoffwechsel dienen, der den Aufbau energiereicher Bindungen hemmt, ohne den oxydativen Abbau der Substrate zu unterbrechen. Mit 2,4-Dinitrophenol ist eine solche spezifische Hemmung zu erreichen. DNP bewirkt eine Entkoppelung von Dehydrierungs- und Phosphorylierungsvorgängen (LIPMANN und KAPLAN 1949; vgl. KANDLER 1950). Der Aufbau von

energiereichen Phosphatbindungen ist blockiert, die Substrate werden ohne physiologisch sinnvolle Verwendung veratmet. Der Effekt ist — bei geeigneten Konzentrationen — eine Atmungsintensivierung, an der die DNP-Wirkung leicht erkannt werden kann. Sie beruht nach TERNER (1950) darauf, daß Synthesen aus den glykolytischen Spaltprodukten gehemmt sind und daß das in der Glykolyse anfallende Material der Oxydation über den Citronensäurekreislauf zugeführt wird.

Die an verschiedenen höheren Pflanzen mit DNP in vivo durchgeführten Untersuchungen (KANDLER 1950; vgl. EBERHARDT 1952) erhielten durch die Arbeit von BONNER und MILLERD (1953) eine bislang noch fehlende Grundlage. An Mitochondrien von *Phaseolus aureus* konnte gezeigt werden, daß DNP wie bei tierischen Mitochondrien auch in pflanzlichen Systemen die oxydative Bildung von ATP unterdrückt.

STADLER (1942) hat ohne nähere Angaben über eine Wirkung von DNP auf die Anthocyansynthese berichtet. Die durch Glucose induzierte Bildung des Farbstoffes in Maisblattstücken wird durch DNP gehemmt. THIMANN, EDMONDSON und RADNER (1951) haben eine ähnliche Erscheinung bei *Spirodela* beschrieben. In diesem Fall wurde kein Zucker im Außenmedium geboten. Die genannten Autoren verwendeten DNP mit dem Ziel, eine Abnahme des internen Zuckergehaltes in den *Spirodela*-Geweben herbeizuführen. Die Anthocyanbildung der DNP-Kulturen blieb um 50% hinter derjenigen der Kontrollen zurück.

Tabelle 11. Wirkung von 10^{-3} mol DNP auf den O_2 -Verbrauch von *Saxifraga*-Blattstücken ($mm^3 O_2$ je $6 cm^2$ Blattfläche je Stunde). (Das Material wurde bei $22^{\circ} C$ im Dauerlicht gehalten; Atmungsmessungen bei $24^{\circ} C$ im Dunkeln, 1. Messung vor, 2. Messung nach der Infiltration. Die Blattstücke lagen während der Versuchsdauer auf den angegebenen Lösungen. Versuch vom 11.—15. 3.)

Tag	H ₂ O	Zucker	DNP + H ₂ O	DNP + Zucker
1 vor Inf.	35	38	31	36
1 nach Inf.	51	59	120	88
2	47	77	122	138
3	53	89	97	141
4	48	98	81	106
5	48	98	69	77

Tabelle 12. Wirkung verschiedener DNP-Konzentrationen auf den Sauerstoffverbrauch von *Saxifraga*-Blattstücken ($mm^3 O_2$ je $10 cm^2$ Blattfläche je Stunde. Versuch vom 11. 6.)

DNP-Konzentration (molar)	Vor Infiltration	Nach Infiltration	Steigerung %
—	88,4	110,6	25
1×10^{-5}	88,4	109,3	23,6
3×10^{-5}	89,4	117,2	31,1
6×10^{-5}	86,6	131,4	51,8
1×10^{-4}	95,4	141,2	48,1
3×10^{-4}	101,4	167,0	64,6
6×10^{-4}	91,4	150,4	64,6
1×10^{-3}	98,4	120,3	22,3

Bei *Saxifraga*-Blattstücken blieb zunächst die erwartete Atmungssteigerung aus, wenn die Blätter auf DNP (10^{-3} , 10^{-5} mol) oder auf Zucker und DNP gelegt wurden. Bei Karottenstückchen, die in 10^{-3} mol

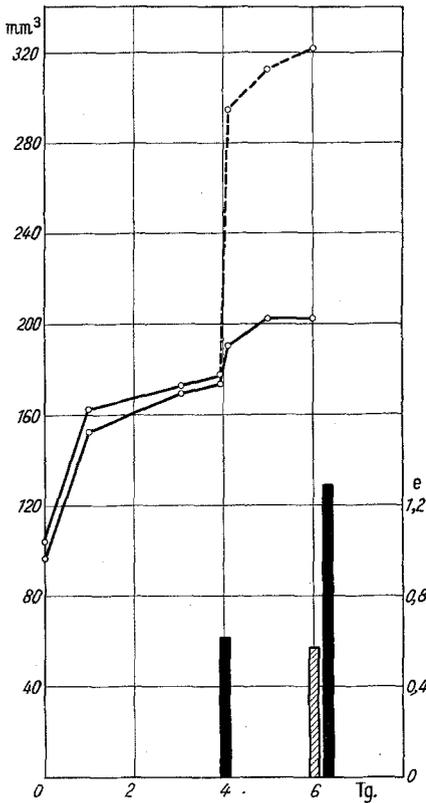


Abb. 15. Wirkung von 3×10^{-4} mol DNP auf Atmung und Anthocyanbildung von *Saxifraga*-Blattstücken (27. 6.—3. 7.). Bis zum 4. Tag gleiche Behandlung auf $0,1$ mol Rohrzuckerlösung bei 24° C im Dauerlicht, danach Infiltration mit Zuckerlösung + DNP bzw. mit Zuckerlösung. Ordinate links: O₂-Verbrauch je 10 cm² Blattfläche und Stunde. —○— auf Zucker. - - - - -○ auf Zucker + DNP. Ordinate rechts: Anthocyan aus 20 Blattstücken; Schwarze Säulen = auf Zucker, schraffierte Säule = nach dem 4. Tag auf DNP + Zucker.

DNP eingelegt waren, führte die Behandlung sofort zur Atmungsintensivierung. Erst die Infiltration von DNP (10^{-3} mol) hatte bei *Saxifraga* den erwarteten Anstieg zur Folge (Tabelle 11).

Rötung trat nur mit Zucker allein auf. Die DNP-behandelten Stücke zeigten gegen Ende des Versuches Schädigungen (Bräunung). Da demnach DNP von dem Material über längere Zeitspannen nicht vertragen wurde, lag es nahe, die Methode anzuwenden, die sich bei Jodessigsäure bewährt hatte. Die Blattstücke wurden jedoch in diesem Falle auch nach der Vergiftung auf dem Substrat belassen, weil die Atmungssteigerung bei einmaliger Infiltration von DNP nach einiger Zeit abklingt, während sie bei Infiltration mit anschließendem Auflegen auf DNP-Lösung länger andauert.

Als schwächste, noch erheblich atmungssteigernde Konzentration wurde 3×10^{-4} mol festgestellt (Tabelle 12). DNP ist also in der gleichen Konzentration bei *Saxifraga*-Blättern wirksam, in der es auch die oxydative Phosphorylierung bei *Phaseolus*-Mitochondrien unterdrückt (BONNER und MILLERD 1953). Bei *Saxifraga crassifolia* hängt die wirksame Konzentration vom Entwicklungszustand des Blattes ab. So war

bei alten, vorjährigen Blättern eine Konzentration von 10^{-3} mol noch atmungssteigernd (Tabelle 11), während bei jungen Blättern mit 10^{-3} mol der wirksame Konzentrationsbereich schon überschritten zu sein scheint.

Abb. 15 zeigt die Ergebnisse eines Versuches, bei dem die Behandlung mit DNP erst einsetzte, nachdem schon eine gewisse Menge Anthocyan

gebildet worden war (4. Tag). Die Untersuchung der weiteren Farbstoffzunahme zeigt, daß unter dem Einfluß von DNP kein Anthocyan mehr gebildet wird. Der oxydative Stoffumsatz ist verstärkt. Die Blattstücke waren am Ende des Versuches turgeszent und ohne Anzeichen von Schädigungen.

10. Die Wirkung von Jodessigsäure und von 2,4-Dinitrophenol auf die Anthocyanbildung in Geweben von Keimlingen.

Zur Ergänzung der an Blattgeweben gewonnenen Resultate wurden auch an Keimlingen Versuche mit spezifischen Hemmstoffen vorgenommen. Die Applikation von Stoffwechselgiften ist zwar bei Keimlingen schwieriger als bei Blattstücken, aber die rasche Anthocyanbildung in den verhältnismäßig widerstandsfähigen Keimlingen von *Fagopyrum esculentum* MOENCH ließ die Buchweizenkeimlinge für solche Versuche geeignet erscheinen.

In etiolierten Buchweizenkeimlingen tritt Anthocyan erst nach Belichtung auf. Es entwickelt sich dann jedoch innerhalb weniger Stunden im Dunkeln. Die Bedingungen für die Anthocyanbildung bei *Fagopyrum*-Keimlingen sind besonders von KUILMAN (1930) und von KARSTENS (1939) eingehend untersucht worden. Diese Autoren verwendeten immer ganze Keimlinge. Man kann aber auch in den abgeschnittenen Hypokotylen, ja selbst in sehr kurzen Hypokotylstücken durch Belichtung eine Rötung erzielen. Solche Hypokotylstücke lassen sich leicht mit Lösungen infiltrieren. Wenn man Hypokotylstücke etiolierter Keimlinge mit Wasser infiltriert und nach dem Ausdunsten der Interzellularen einige Stunden belichtet, so wird Anthocyan ausgebildet. Bei Infiltration mit 10^{-3} mol Jodessigsäure bzw. mit 3×10^{-4} mol DNP ist die Farbstoffbildung stark herabgesetzt oder unterbleibt vollständig.

11. Die Wirkung von 1-Amino-2-naphthol-4-sulfosäure (ANS) auf Atmung und Anthocyanbildung von Saxifraga-Blättern.

Es konnte damit gerechnet werden, daß die Infiltration von Carboxylasegiften (vgl. EBERHARDT 1952) zu einer Anhäufung von Intermediärprodukten führt, die eine Farbstoffsynthese begünstigen könnten. Die Anwendung von ANS¹ in Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-2} mol bei Blattstücken von *Saxifraga crassifolia* hatte jedoch weder einen Effekt auf die Atmung noch auf die Anthocyanbildung. Der RQ blieb unverändert.

¹ Die saure Lösung von ANS wurde mit verdünnter KOH auf einen p_H -Wert von etwa 6 gebracht. Die Infiltration erfolgte bei Beginn der Rötung, nachdem die Blattstücke 2 Tage lang auf 0,1 mol Rohrzuckerlösung gelegen hatten.

V. Diskussion.

Die Untersuchungen des Gaswechsels und der Anthocyanbildung haben gezeigt, daß die Farbstoffproduktion an eine erhöhte Stoffwechselintensität geknüpft ist. Dabei ist es belanglos, ob Kohlenhydrate oder Fette zum Umsatz kommen. Bei Rotkohlkeimlingen fällt die Phase der stärksten Anthocyanproduktion mit dem Abbau der Samenfette zusammen, bei Blättern von *Saxifraga crassifolia* führt der Umsatz von künstlich zugeleiteten Kohlenhydraten zur Bildung von Anthocyan. Auch die Pigmentierung während der Fruchtreifung ist mit einer Stoffwechselaktivierung verbunden, bei der wahrscheinlich noch andere Substrate, z. B. organische Säuren, umgesetzt werden. Die wesentliche Voraussetzung für die Anthocyan synthese ist also nicht eine Zuckeranhäufung (OVERTON 1899) oder Zuckerstauung (KLEIN u. a. 1953) in den Geweben, sondern ein verstärkter Umsatz der Substrate. Dafür spricht auch das Auftreten einer Atmungssteigerung bei der herbstlichen Blattrötung und das häufige Vorkommen von Anthocyan in stark wachsenden Organen, z. B. in kriechenden Sprossen von *Fragaria*- und *Potentilla*-Arten, und in Geweben von Pflanzengallen, wo ebenfalls mit einer erhöhten Atmungsintensität gerechnet werden kann (vgl. KLEIN 1952).

Wenn Kohlenhydrate erst auf dem Wege ihres Umsatzes die Anthocyanbildung fördern, so verliert damit die Ansicht ROBINSONS (1937), nach der jeder Kern des Anthocyanmoleküls von einer Hexose herkommen soll, an Wahrscheinlichkeit. Dasselbe trifft für die Hypothese zu, daß Glucose über Glucose-6-phosphat und m-Inosit-phosphat zu phenolischen Verbindungen führt (H. O. L. FISCHER 1945, zit. bei THIMANN, EDMONDSON und RADNER 1951). Obwohl meso-Inosit in den *Spirodela*-Versuchen einen geringen fördernden Einfluß auf die Anthocyanbildung zeigte, weisen THIMANN, EDMONDSON und RADNER dem cyclischen Alkohol doch nicht die Rolle eines Intermediärproduktes bei der Farbstoffsynthese zu.

Auf welche Weise kann nun der intensivierte Stoffwechsel die Synthese von Anthocyanen beeinflussen? Wenn wir von der Möglichkeit absehen, daß die Stoffwechselsteigerung lediglich eine Umfärbung von Anthocyanvorstufen bedingt, so kann damit gerechnet werden, daß der umgesetzte Zucker bzw. andere umgesetzte Reservestoffe synthetisches Material für die Farbstoffbildung liefern. Der Fettumsatz wird dann 2-C-Bruchstücke für die Anthocyan synthese zur Verfügung stellen. Im Falle der Kohlenhydratveratmung werden die verwendeten Bausteine nach dem Umsatzschritt 3-Phosphoglycerinaldehyd \rightarrow 3-Phosphoglycerinsäure abgezweigt. Dafür spricht die Hemmung der Farbstoffsynthese durch Jodessigsäure, vorausgesetzt, daß man nicht die Beteiligung von jodacetat-empfindlichen Enzymen am weiteren Anthocyan-

aufbau annehmen will, wofür keine Anhaltspunkte vorliegen. Bei Blattstücken von *Zea mays* begünstigen zwar Glycerinaldehyd und Glycerinsäure die Anthocyanbildung (STADLER 1942), bei *Spirodela* hatten jedoch verschiedene Zwischenprodukte des glykolytischen Abbaues bzw. Verbindungen, die ihnen chemisch nahestehen, keine fördernde Wirkung. Deshalb vertreten THIMANN, EDMONDSON und RADNER die Auffassung, daß die Umwandlung von Zuckern zum Farbstoff nicht auf dem Wege des normalen Kohlenhydratabbaues erfolgt. Die meisten der gefütterten Verbindungen hemmten jedoch das Wachstum der Kulturen (z. B. Glycerin, Glycerinphosphorsäure, Pyruvat). Auf Grund dieser Wachstumshemmungen muß damit gerechnet werden, daß die Verbindungen gar nicht in physiologischer Weise in den Umsatz einbezogen worden sind. Daß die Anthocyansynthese durch die genannten Substanzen nicht gefördert wurde, ist also bei Berücksichtigung der Begleiterscheinungen nicht überraschend und spricht nicht entscheidend gegen die Auffassung, daß Spaltprodukte des Kohlenhydratabbaues in die Anthocyansynthese eingehen.

Durch die Hemmung des glykolytischen Abbaues mit Hilfe von Jodessigsäure wird gleichzeitig die Bildung energiereicher Phosphatbindungen verhindert. Es kann also auch ein Mangel an solchen Bindungen für das Ausbleiben der Farbstoffbildung verantwortlich sein. Daß die Bedeutung der Jodessigsäurehemmung für die Anthocyan-synthese in einer Unterbrechung des Energienachschubes zu suchen ist, wird durch die Wirkung von DNP unterstrichen. Bei *Saxifraga* ist die Anthocyanbildung ebenso wie bei Mais und bei *Spirodela* unter der Wirkung von DNP gehemmt. Für THIMANN, EDMONDSON und RADNER ist DNP in erster Linie ein Mittel, das den Zuckergehalt in den *Spirodela*-Geweben auf dem Wege einer verstärkten Oxydation herabsetzt. Von diesem Gesichtspunkt aus kann die DNP-Wirkung so verstanden werden, als sei die Anthocyanbildung gehemmt, weil die Konzentration an Kohlenhydraten durch DNP stark herabgesetzt wird. Bei Berücksichtigung der Tatsache, daß nicht Zuckergehalt, sondern Zuckerumsatz für die Anthocyanbildung entscheidend ist, muß aber die Bedeutung von DNP für die Farbstoffproduktion nicht in der Verminderung des Zuckergehaltes, sondern in einer Störung der Energieversorgung gesehen werden. Wie aus der Atmungssteigerung hervorgeht, vollzieht sich zwar während der DNP-Vergiftung ein verstärkter Kohlenhydratumsatz, der jedoch wegen der Unterdrückung der Energieverwertung für die Anthocyansynthese bedeutungslos bleibt.

Die Wirkung des Stoffumsatzes auf die Anthocyanbildung beruht mindestens zum Teil darauf, einen Überschuß an energiereichen Bindungen zu schaffen, der für energieverbrauchende Synthesen verwendet werden kann. Es darf damit gerechnet werden, daß die Energie

Phosphatbindungen entnommen wird, obwohl THIMANN, EDMONDSON und RADNER durch Veränderung der Phosphatkonzentration im Medium einen Phosphatbedarf für die Anthocyansynthese nicht nachweisen konnten.

Im Licht sind sowohl Stoffwechsel wie Anthocyanbildung verstärkt. In der vorliegenden Untersuchung ist der Lichteinfluß auf die Anthocyan-synthese nur studiert worden, um ihn als weiteres Kriterium für die Parallelität von Atmung und Farbstoffbildung heranziehen zu können. Die Lichtwirkung als solche ist dadurch nicht erklärt worden. Dennoch kann die Beobachtung, daß künstlich zugeführtes Kohlenhydratsubstrat im Licht schneller umgesetzt wird als im Dunkeln, einen neuen Gesichtspunkt in dieser Frage ergeben. Eine Erklärungsmöglichkeit bietet sich an, wenn man mit KANDLER (1950) einen unmittelbaren Einfluß der Photosynthese auf den Phosphathaushalt annimmt. Dabei soll nicht an die CO_2 -Reduktion, sondern nur an den photochemischen Vorgang gedacht werden. KANDLER hat bei *Chlorella pyrenoidosa* gefunden, daß ein Teil der bei der photochemischen Reaktion aufgenommenen Lichtenergie unmittelbar auf dem Wege über energiereiches Phosphat in chemische Energie umgewandelt wird. Wenn wir für Gewebe höherer Pflanzen ähnliche Annahmen machen und wenn im vorliegenden Fall die Anhäufung von Assimilaten bei dem Überschuß von Zucker im Medium für die Veratmung eine untergeordnete Rolle spielt, so käme man zu folgender hypothetischen Deutung:

„Mit dem Einsetzen der Belichtung wird in engem Zusammenhang mit der photochemischen Reaktion zusätzlich energiereiches Phosphat gebildet“ (KANDLER), das dann dazu dienen kann, den gebotenen unphosphorylierten Zucker unter Phosphorylierung in den Umsatz einzubeziehen. Die Dunkelproben müssen mit ihrem geringeren Vorrat an energiereichem Phosphat diesen Vorgang durchführen. KANDLER selbst schlägt vor, bei der Beurteilung des Lichteinflusses auf die Farbstoffbildung solche energiereichen Photoprodukte ins Auge zu fassen. Eine derartige Erklärung würde dann auch die Lichtwirkung auf andere Synthesen, z. B. die des Arbutins, umfassen.

Die Tatsache, daß die Anthocyanbildung mit einem erhöhten Stoffumsatz verbunden ist, der die synthetische Energie liefert, läßt es möglich erscheinen, daß eine ähnliche Beziehung auch bei dem Aufbau anderer aromatischer Verbindungen besteht. Die Bedingungen für die Bildung von Arbutin sind denen für die Anthocyansynthese ähnlich. Die Erkenntnis der Polyflavanonstruktur des Lignins rückt auch diese Substanz in die Nähe des Problems der Anthocyanogenese. PAECH (1950, S. 154) faßt allgemein für die Biogenese der aromatischen Pflanzenstoffe die Beteiligung der „synthesebegünstigenden Phosphorsäure“ ins Auge. Diese Vorstellung wird durch die DNP-Versuche — wenigstens

für den Fall des Anthocyans — gestützt. Durch oxydative Phosphorylierung gebildetes ATP steht für die verschiedensten energieverbrauchenden Prozesse in der Pflanze zur Verfügung (BONNER und MILLERD 1953). Physiologische Vorgänge wie Wachstum, Wasseraufnahme und Anhäufung von Nährsalzen werden ebenso wie die Anthocyansynthese durch DNP unterdrückt. Bei einer durchschnittlichen Energieversorgung wird der Vorrat an energiereichen Phosphatbindungen bevorzugt den erstgenannten Prozessen zufließen. Ist das Energieangebot hoch, dann können auch für die Anthocyansynthese energiereiche Phosphatbindungen verfügbar werden.

Die Anthocyane sind also „Zeugen eines besonders intensivierten Stoffwechsels und nicht einfach einer erhöhten Stoffansammlung“ (PAECH 1950). Damit ist auch der Gedanke von FREY-WYSSLING und BLANK, daß ein Zusammenhang von Zucker und Anthocyan nur „sekundärer Natur“ sein könne — etwa: künstliche Zuckerezufuhr → gesteigerter Stoffwechsel → vermehrte Anthocyanbildung — durch das Experiment bestätigt und durch die Eingriffe in den Umsatz etwas näher bestimmt worden.

Zusammenfassung.

1. In Rotkohlkeimlingen vollzieht sich die Anthocyansynthese (bei 23° C) hauptsächlich zwischen dem 3. und 5. Keimungstag. In dieser Zeit erreicht auch die Atmungsintensität den größten Wert.

2. In Rotkohlkeimlingen ist die Farbstoffbildung dann am stärksten, wenn der respiratorische Quotient die geringsten Werte aufweist. Die Anthocyanproduktion fällt zeitlich mit dem Abbau der Reservefette zusammen.

3. Die Belichtung etiolierter Rotkohlkeimlinge hat sowohl einen Anstieg der Atmung als auch der Anthocyanbildung zur Folge.

4. Temperatureinflüsse machen sich besonders in den ersten Keimungstagen auf die Anthocyanproduktion bemerkbar, d. h. in den frühen Phasen der Mobilisierung von Reservefetten.

5. Bei herbstroten Blättern von *Saxifraga crassifolia* und von *Parthenocissus vitacea* ist die Atmungsintensität roter Teile größer als diejenige grüner Teile.

6. Die Anthocyanbildung in Holunderfrüchten fällt mit einer Atmungsintensivierung zusammen.

7. Die durch Zuckerfütterung bei *Saxifraga crassifolia* induzierte Anthocyanbildung ist von einer erhöhten Atmungsintensität begleitet.

8. Auf Zuckerlösung gelegte Blätter von *Saxifraga crassifolia* bilden im Licht mehr Anthocyan und die Atmung steigt im Licht rascher an als im Dunkeln.

9. In *Saxifraga*-Blättern werden Atmung und Anthocyansynthese durch 2×10^{-3} mol Jodessigsäure gehemmt.

10. 2,4-Dinitrophenol (3×10^{-4} mol) steigert die Atmung und hemmt gleichzeitig die Anthocyanbildung von *Saxifraga*-Blättern. Aus der DNP-Wirkung wird auf die Beteiligung von energiereichen Bindungen an der Anthocyansynthese geschlossen.

Herrn Prof. Dr. KARL PAECH danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für wertvolle Ratschläge, durch die er die Untersuchung förderte.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft bin ich für die Bereitstellung einer Warburg-Apparatur zu Dank verpflichtet.

Literatur.

- BLANK, F.: The anthocyanin pigments of plants. Bot. Review **13**, 241—317 (1947). — Über den Einfluß von Zuckerlösungen auf die Anthocyanbildung in Rotkohlkeimlingen. Ber. schweiz. bot. Ges. **61**, 49—51 (1951). — BONNER, J.: Plant Biochemistry. New York 1950. — BONNER, J., and A. MILLERD: Oxidative phosphorylation by plant mitochondria. Arch. of Biochem. **42**, 135—148 (1953). — DANNER, H.: Zur Physiologie des Arbutins. Bot. Archiv **41**, 169—202 (1940). — EBERHARDT, F.: Enzymgifte. Z. Bot. **40**, 332—339 (1952). — EDDY, B. P., and L. W. MAPSON: Some factors affecting anthocyanin synthesis in cress seedlings. Biochemic. J. **49**, 694—699 (1951). — FREY-WYSSLING, A., u. F. BLANK: Untersuchungen über die Physiologie des Anthocyans in Keimlingen von *Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *rubra* (L.). Ber. schweiz. bot. Ges. A **53**, 550—578 (1943). — GEISSMAN, T. A., and E. HINREINER: Theories of the biogenesis of flavonoid compounds. Bot. Review **18**, 77—244 (1952). — GOODWIN, T. W.: Fungal carotenoids. Bot. Review **18**, 291—316 (1952). — HOLZER, H.: Acetyl-Coenzym A und andere S-Acyl-Verbindungen bei der Energieausnutzung in der lebenden Zelle. Angew. Chem. **64**, 248—253 (1952). — HOLZER, H., u. E. HOLZER: Zum Reaktionsmechanismus der Triosephosphatdehydrierung. Hoppe-Seylers Z. **291**, 67—86 (1952). — KANDLER, O.: Über den Einfluß von 2,4-Dinitrophenol auf Atmung und Wachstum in vitro kultivierter Maiswurzeln. Z. Naturforsch. **5b**, 338—344 (1950). — Über die Beziehungen zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese. I. Z. Naturforsch. **5b**, 423—437 (1950). — KARSTENS, W. K. H.: Anthocyanin and anthocyanin formation in seedlings of *Fagopyrum esculentum* MOENCH. Rec. Trav. bot. néerl. **36**, 85—179 (1939). — KATIC, D.: Beitrag zur Kenntnis der Bildung des roten Farbstoffs (Anthocyan) in vegetativen Organen der Phanerogamen. Diss. Phil. Fakultät Halle a. d. S. 1905. — KENDA, G., I. THALER und F. WEBER: Panaschierung und herbstliche Anthocyanbildung. Phyton **4**, 319—321 (1953). — KESSLER, W.: Über die inneren Ursachen der Kälteresistenz der Pflanzen. Planta (Berl.) **24**, 312—352 (1935). — KIDD, F., and C. WEST: Reports of the Food Investigation Board London. 1921. — KLEIN, R. M.: Nitrogen and phosphorus fractions, respiration, and structure of normal and crown gall tissues of tomato. Plant Physiol. **27**, 335—354 (1952). — KLINKER, E. J.: A modification of the Warburg respirometer to measure the respiration rate of tomato leaf discs. Plant Physiol. **25**, 354—355 (1950). — KULLMAN, L. W.: Physiologische Untersuchungen über die Anthocyane. Rec. Trav. bot. néerl. **27**, 287—416 (1930). — LIPMANN, F., and N. O. KAPLAN: Intermediary metabolism of phosphorus compounds. Ann. Rev. Biochem. **18**, 267—298 (1949). — LYNEN, F., L. WESSELY, O. WIRLAND u. L. RUEFF: Zur β -Oxydation der Fettsäuren. Angew. Chem. **64**, 687 (1952). — OVERTON, E.: Beobachtungen und Versuche über das Auftreten von rotem Zellsaft bei Pflanzen. Jb. wiss. Bot. **33**, 171—231 (1899). —

PAECH, K.: Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1950. — Biologische Grundlagen der Frischhaltung pflanzlicher Lebensmittel. In Handbuch der Kältetechnik, Bd. 9, S. 223—310. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1952. — PAECH, K., u. F. EBERHARDT: Untersuchungen zur Biosynthese der Anthocyane. Z. Naturforsch. **7b**, 664—670 (1952). — ROBINSON, R.: Formation of anthocyanins in plants. Nature (Lond.) **137**, 172—173 (1937). — STADLER, L. J.: Gene action in anthocyanin synthesis in maize. Amer. J. Bot. **29**, 17 (abstract) (1942). — TURNER, C.: 2,4-Dinitrophenol in the study of pathways of pyruvate metabolism in lactating mammary. Biochemic. J. **47**, Proc., XLIX—L (1950). — THIMANN, K. V., and Y. H. EDMONDSON: The biogenesis of the anthocyanins. I. General nutritional conditions leading to anthocyanin formation. Arch. of Biochem. **22**, 33—53 (1949). — THIMANN, K. V., Y. H. EDMONDSON and B. S. RADNER: The biogenesis of the anthocyanins. III. The rôle of sugars in anthocyanin formation. Arch. of Biochem. **34**, 305—323 (1951). — UOTA, M.: Temperature studies on the development of anthocyanin in McIntosh apples. Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci. **59**, 231—237 (1952). — WOLF, J.: Über den Gasstoffwechsel reifender Vogelbeeren. Planta (Berl.) **28**, 716—720 (1938).

FRANK EBERHARDT, Botanisches Institut Tübingen.