

31. Hans Molisch: Ueber das Vorkommen von Indican im Chlorophyllkorn der Indicanpflanzen.

Mit Tafel XVIII.

Eingegangen am 29. Juni 1899.

Bei meinen bereits durch mehrere Jahre fortgesetzten Studien über das Indican¹⁾ vom pflanzenphysiologischen Gesichtspunkte hatte ich mehrfach Gelegenheit, darauf hinzuweisen, dass die Hauptmasse des Indicans im Laubblatte der Indigopflanzen ihren Sitz hat. Speciell in einer Arbeit, welche den Zweck hatte, die Verbreitung des Indicans im Pflanzenreiche und seine Vertheilung innerhalb der verschiedenen Organe und Gewebe festzustellen, gelangte ich zu Resultaten, welche ich in folgende Worte zusammenfasste: „Das Indican kann bei den verschiedenen Indigopflanzen in verschiedenen Organen und Geweben auftreten, doch liegt die Hauptmasse desselben wohl in der Regel in den Laubblättern, zumal in den jungen, sich noch entfaltenden. Innerhalb des Laubblattes findet sich das Glykosid gewöhnlich im chlorophyllführenden Mesophyll und in der Oberhaut. Die Wurzel enthält wenig oder kein Indican, Same und Frucht sind bei den untersuchten Arten frei davon.“²⁾

Auch bei den von mir später auf Java entdeckten Indigopflanzen (*Echites religiosa*, *Wrightia antidysenterica* und verschiedenen *Crotalaria*-Arten) stellt das chlorophyllhaltige Parenchym der Laubblätter den Hauptsitz des Indicans dar. In welchen Theilen der Zelle das erwähnte Glykosid auftritt, insbesondere über die Frage, ob nicht vielleicht die Chlorophyllkörper selbst Indican enthalten, darüber habe ich mich bisher absichtlich nicht ausgesprochen, weil ich mich mit diesem Gegenstande, bevor ich darüber bestimmte Angaben mache, eingehender beschäftigen musste, und weil die von mir vorgeschlagenen mikrochemischen Methoden des Indican-Nachweises nach verschiedenen Richtungen ausprobiert, controllirt und zu einem möglichst hohen Grad von Leistungsfähigkeit gebracht werden sollten. —

Die in dieser Richtung unternommenen Versuche haben ergeben,

1) H. MOLISCH: „Das Vorkommen und der Nachweis des Indicans in der Pflanze“ etc. Sitzungsber. der kais. Wiener Akad., 1893; ferner: „Ueber die sogen. Indigogährung und neue Indigopflanzen“, ebenda 1898, und „Ueber Pseudoindican“ etc., ebenda 1899.

2) H. MOLISCH: Das Vorkommen etc., l. c. S. 20.

dass innerhalb der grünen Zelle das Chlorophyllkorn den Hauptsitz des Indicans darstellt. (Siehe die Tafel.)

Indem ich bezüglich des makro- und mikrochemischen Nachweises von Indican auf meine früheren Abhandlungen hinweise, bemerke ich, dass für unsere Zwecke die Ueberführung des Indicans in Indigoblau innerhalb der Zelle am Besten durch Alkohol-, Ammoniak- oder Chloroformdampf gelingt. Zu diesem Zwecke werden die jungen, sich eben erst entwickelnden Blätter, welche am indicanreichsten sind, gleich nach dem Abpflücken in ein cylindrisches, mit einem eingeschliffenen Stöpsel versehenes Glasgefäss (von etwa 15 *cm* Höhe und 5 *cm* Breite) eingelegt, welches am Boden ein offenes Gläschen mit absolutem Alkohol, Ammoniak oder Chloroform enthält. Diese Flüssigkeiten erfüllen alsbald den Innenraum des Glasgefässes mit ihrem Dampf, der in die Gewebe eindringt, die Zellen tödtet und hierdurch die Umwandlung von Indican zu Indigo zum grössten Theile an Ort und Stelle ermöglicht. Die Objecte bleiben durch 24 Stunden den Dämpfen ausgesetzt und werden dann behufs der Extraction des Chlorophylls in absoluten Alkohol auf 24 Stunden eingelegt. An der Blaufärbung giebt sich dann in den nunmehr chlorophyllfreien Blättern ohne Weiteres die Anwesenheit und Vertheilung des Indigoblaus beziehungsweise des Indicans in ähnlicher Weise zu erkennen, wie die Gegenwart der Stärke bei der SACHS'schen Jodprobe.

Es muss hervorgehoben werden, dass es durchaus nicht gleichgültig ist, ob man für die Indicanprobe Alkohol, Ammoniak oder Chloroform verwendet, da die verschiedenen Indicanpflanzen darauf verschieden reagiren. Daher muss für jede Pflanzenart ausprobiert werden, womit die Indicanprobe ausgeführt werden soll. Bei *Phajus* und *Calanthe* z. B. erhielt ich die besten Resultate mit Alkohol, hingegen bei *Isatis* nicht mit Alkohol, sondern mit Ammoniak. Chloroformdampf kann zwar in ausgezeichneter Weise für die Ueberführung des Indicans zu Indigoblau im Blatte verwendet werden, allein die Spaltung findet mit Chloroform nicht immer innerhalb der Zelle an Ort und Stelle statt, da das in die Zellen eindringende Chloroform Indican und auch daraus gebildetes Indigoblau sehr leicht aufnimmt, in die Nachbarschaft befördert und daselbst wieder abscheidet. Deshalb habe ich für meine Zwecke von der Anwendung des Chloroforms ganz abgesehen.

Phajus grandifolius Lindl.

Junges, noch nicht ausgebreitetes und in Entwicklung begriffenes Blatt der „Alkoholprobe“ und hierauf der Chlorophyllextraction unterworfen, erscheint blau. Unterm Mikroskop lässt sich beobachten,

dass das Blattmesophyll blau, die Gefässbündel und die Epidermis, abgesehen von den Schliesszellen, fast farblos sind. Im Mesophyll erscheinen die Chlorophyllkörner von eingelagerten und aufgelagerten winzigen Indigokörnchen mehr minder blau. Die Chlorophyllkörner sind so reich an Indigoblau, dass es den Eindruck macht, als ob man sie mit einem blauen Farbstoff ausgefärbt hätte. (S. Fig. 1 u. 2.)

Mit dem Vorkommen des Indicans im Chlorophyllkorn steht die Thatsache im Einklang, dass die Schliesszellen der Spaltöffnungen reich an blauem Farbstoff sind im Gegensatz zu den chlorophylllosen Epidermiszellen, welche nur wenig Indigo in Form winziger Körnchen enthalten. Die spärlich vertretenen, stumpfkegelförmigen Haare führen kein oder wenig, die Gefässbündel in den lebenden Elementen des Siebtheiles nur Spuren und die Raphidenzellen gar kein Indigo.

Innerhalb der grünen Mesophyllzellen finden sich Indigokörnchen, abgesehen von den Chlorophyllkörnern, auch im übrigen Zellinhalt, aber sehr spärlich. Dass diese geringen Indigomengen liefernde Indican könnte auch aus den Chlorophyllkörnern ausgetreten und in der Nachbarschaft gespalten worden sein, oder es könnte thatsächlich schon ausserhalb der Chlorophyllkörner im Zellinhalt vorkommen. Ich bin geneigt, das letztere anzunehmen, da ja auch in den chlorophylllosen Oberhautzellen und in den gleichfalls chlorophyllfreien lebenden Elementen des Stranggewebes etwas Indican vorhanden ist.

Calanthe vestita Lindl.

Auch hier leistet die „Alkoholprobe“ Ausgezeichnetes. Die Chlorophyllkörner erscheinen dunkelblau, noch dunkler als die von *Phajus*. Im Uebrigen gilt das bei *Phajus* Gesagte im Wesentlichen auch für *Calanthe*. (S. Fig. 1 u. 2.)

Isatis tinctoria L.

Die besten Resultate lieferte die Behandlung der Blätter mit Ammoniakdampf. Junge, noch unentwickelte, etwa 3—5 cm lange Blätter eignen sich wegen ihres Indicanreichthums in ausgezeichneter Weise für die „Ammoniakprobe“, hingegen taugen ausgewachsene Blätter, da sie nur sehr wenig Indican enthalten, für unsere Zwecke nicht.

Nach Ausführung der „Ammoniakprobe“ und Entfernung des Blattgrüns erscheint das Mesophyll tiefblau und hebt sich auf dem Querschnitt von der farblosen Oberhaut scharf ab (Fig. 3). Auf den ersten Blick erkennt man, dass hier wieder die Chlorophyllkörner am meisten Indican enthalten, ihre ursprünglich grüne Farbe ist nunmehr mit einer tiefblauen vertauscht. Die Gefässbündel sind, weil sie nur Spuren von Indican führen, ziemlich farblos, desgleichen die Haare

und Epidermiszellen mit Ausnahme der Schliess- und Nebenzellen, welche in sehr jungen, sich eben aus der Knospe hervorschiebenden Blättern oft so reichen Indicangehalt bekunden, dass sie nach der Ammoniakprobe als tiefblaue Inseln hervortreten (Fig. 4).

Indigofera.

Ich hatte Gelegenheit in Klatten, dem Hauptcentrum der Indigogewinnung auf Java, Pflanzen zu untersuchen, und ausserdem solche, die ich in Prag aus Samen erzogen hatte. Diese verdanke ich der Güte der Herren J. HAZEWINDEL und Dr. VAN ROMBURGH auf Java. Beide Pflanzen stammten von einer sehr indigoreichen Rasse, die auf Java als Natal-Indigo bezeichnet wird.

Durchwegs war zu bemerken, dass die in Europa gezogenen Pflanzen auffallend viel weniger Indigo liefern, als die tropischen, ein Beweis, dass die klimatischen Bedingungen den Chemismus einer Pflanze graduell sehr beeinflussen können.¹⁾

Trotzdem ich die mikrochemischen Untersuchungen nur an den relativ indicanarmen, in Europa cultivirten Pflanzen durchgeführt habe, konnte, obwohl die Resultate nicht so prägnant waren, wie bei den anderen Indigopflanzen, dennoch kein Zweifel darüber bestehen, dass auch bei dieser Gattung die Hauptmasse des Indigos im Chlorophyllparenchym, und zwar in und auf den Chlorophyllkörnern abgeschieden wird. Innerhalb der Epidermis findet sich nur sehr wenig, in den T-Haaren mehr Indican vor. Die präzisesten Resultate erhält man bei *Indigofera* mit der Alkoholprobe.

Uebereinstimmend hat sich daher bei den verschiedenen Indicanpflanzen ergeben, dass das Chlorophyllkorn den Hauptsitz des Indicans darstellt. Gegen diesen aus meinen Beobachtungen gezogenen Schluss könnte der Einwand erhoben werden, dass das genannte Glykosid in der lebenden Zelle sich möglicher Weise gar nicht im Chlorophyllkorn, sondern ausserhalb desselben im Zellinhalt befinde, und dass es erst postmortal vom Chlorophyllkorn gespeichert und hier in Indigoblau umgewandelt werde. Um diesen Einwand zu prüfen, liess ich lebende Schnitte durch ältere, indicanfreie Blätter von *Isatis tinctoria* in einer aus jungen Waidblättern bei 31° C. gewonnenen wässerigen Indicanlösung 1—2 Tage bei reichlichem Zutritt von Sauerstoff liegen, um sie dann mikroskopisch zu untersuchen. Es zeigte sich dann, dass sich auf den Schnitten, zumal auf der Epidermis, Indigo niedergeschlagen hatte, dass aber die Chlorophyllkörner sowohl der intacten als auch der verletzten Zellen auch nicht eine Spur Indigo enthielten. Hätten die Chlorophyllkörner ein be-

1) Vergl. meine Abhandlung: „Das Vorkommen etc.“, l. c. S. 11 die Anmerkung

sonders energisches Speicherungsvermögen für das Glykosid, so wäre zu erwarten gewesen, dass die Chlorophyllkörner der Lösung Indican entzogen, gespeichert und sich bei der Indigobildung blau gefärbt hätten. Davon war aber nicht das Mindeste zu sehen.

Mit der Erkenntniss des Auftretens eines stickstoffhaltigen Glykosids in den Chlorophyllkörnern drängt sich aus nahe liegenden Gründen die Frage auf, welche Bedeutung diesem Körper zukommt.

Bereits früher hatte ich darauf aufmerksam gemacht, dass das Licht die Entstehung des Indicans beeinflussen kann. „Indican entsteht bei Indigopflanzen in gewissen Fällen (Keimlinge von *Isatis*) nur im Lichte, in anderen sowohl im Lichte als im Finstern, in den daraufhin untersuchten Fällen aber im Lichte reichlicher als im Dunkeln“. ¹⁾

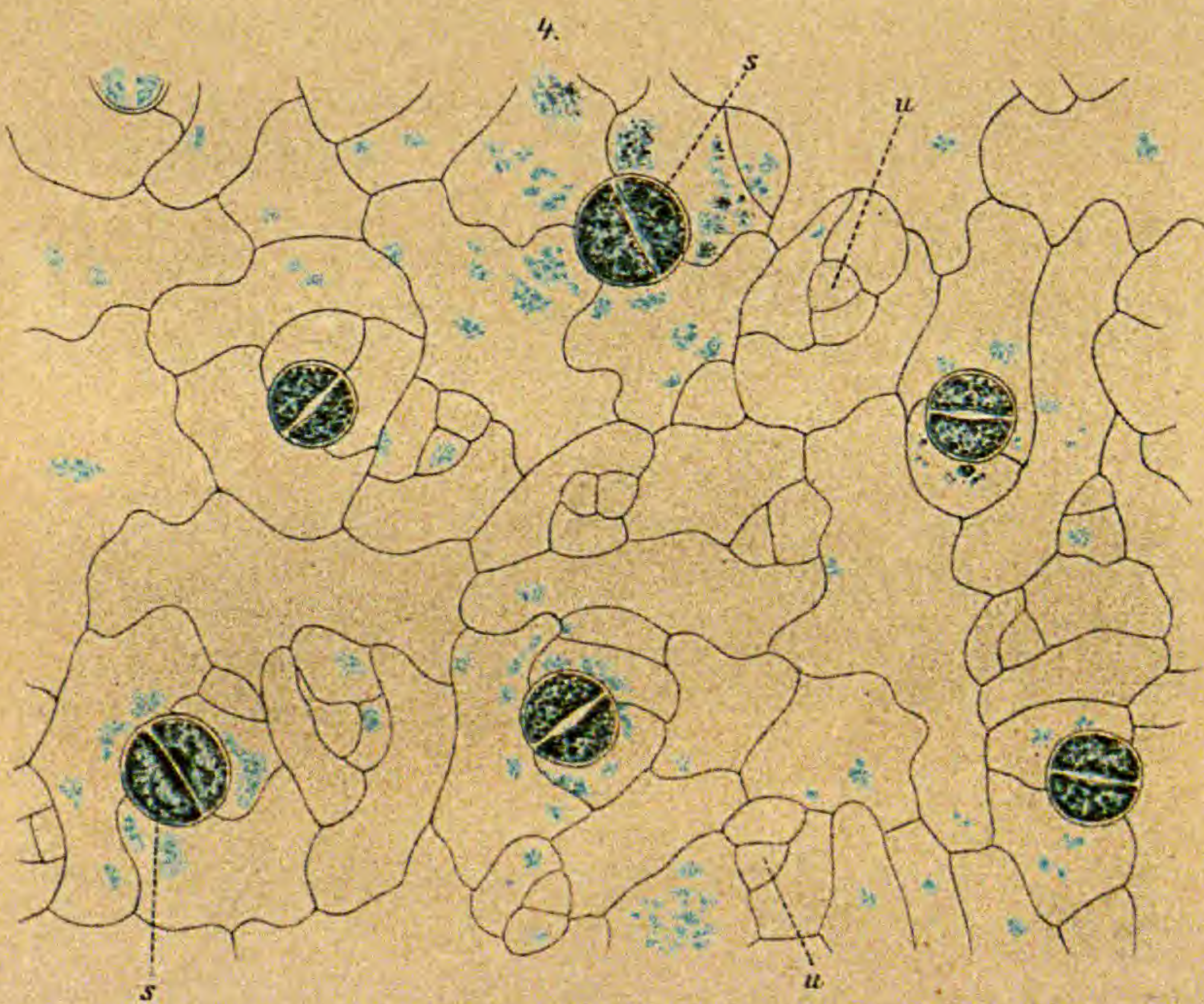
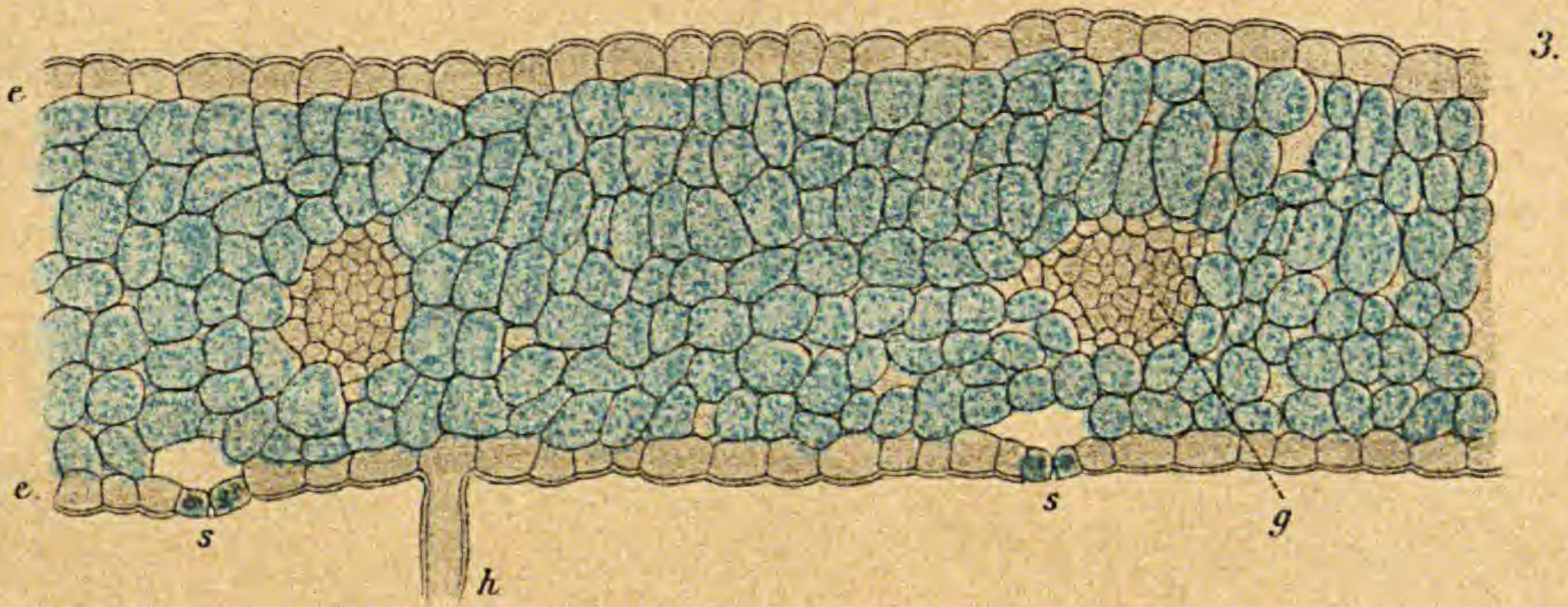
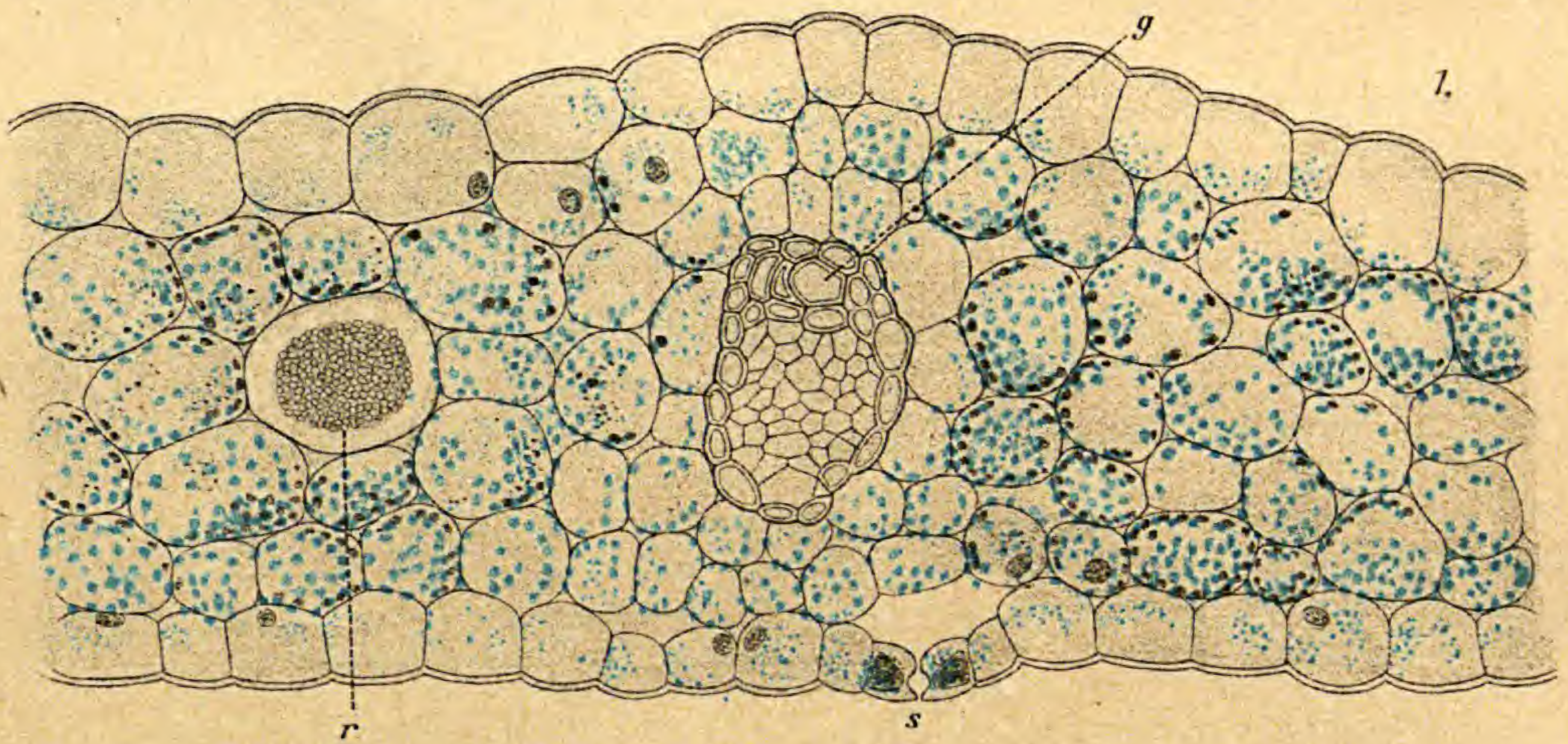
In den Chlorophyllkörnern der Indicanpflanzen (*Isatis*, *Indigofera*, *Polygonum*, *Phajus*) entsteht bei der CO₂-Assimilation reichlich Stärke. Man könnte nun zunächst daran denken, dass neben der Stärke vielleicht auch Indican gebildet wird, oder dass die gebildete Stärke alsbald schon im Chlorophyllkorn als Umwandlungsproduct unter Intervention eines stickstoffhaltigen Körpers Indican liefert. Die Möglichkeit einer solchen Entstehung ist nicht zu leugnen, allein es spricht meiner Meinung nach der Umstand gegen eine so nahe Beziehung zur Kohlensäure-Assimilation, dass das Indican vorzugsweise in den ganz jungen Chlorophyllkörnern von aus der Knospe sich hervorschiebenden Blättern am reichlichsten auftritt, in völlig ausgewachsenen, kräftig assimilirenden Blättern hingegen in viel geringeren Mengen, oft nur spurenweise gefunden wird.

Auch ist die Möglichkeit nicht abzuweisen, dass das Indican vielleicht zur Ausgestaltung der Chlorophyllkörner herangezogen wird oder im Chlorophyllkorn entsteht, von hier auswandert, um an dem Aufbau der jungen Zelle theilzunehmen. Lässt sich nach dem gegenwärtigen Zustande unserer Kenntnisse über die berührten Möglichkeiten vorläufig nichts Bestimmtes sagen, so wird es mit Rücksicht auf unsere derzeit noch so geringen Erfahrungen über die im Chlorophyllkorn sich abspielenden chemischen Prozesse gut sein, die beiden aus dieser Arbeit resultirenden Thatsachen in Zukunft im Auge zu behalten: erstens, dass die Chlorophyllkörner der Indicanpflanzen, wenn auch nicht den ausschliesslichen, so doch den Hauptsitz des Indicans darstellen, und zweitens, dass hiermit die Anwesenheit eines stickstoffhaltigen Glykosids im Chlorophyllkorn der genannten Pflanzen zum ersten Male nachgewiesen erscheint.

Prag, Pflanzenphysiolog. Institut der k. k. deutschen Universität.

Erklärung der Abbildungen.

- Fig. 1. *Calanthe vestita* Lindl. Stück eines Querschnittes von einem jungen Blatte nach Ausführung der Indicanprobe mit Alkoholdampf. In den Epidermiszellen findet sich mit Ausnahme der chlorophyllhaltigen Schliesszellen *s* sehr wenig Indigo, die Hauptmasse liegt im Chlorophyllparenchym und zwar in den Chlorophyllkörnern, welche tiefblaue kugelige Körper darstellen. Die Gefässbündel *g* enthalten sehr wenig, die Raphidenzellen *r* kein Indigoblau. Vergr. etwa 140.
- Fig. 2. *Calanthe vestita* L. Einige Mesophyllzellen stärker vergrössert, um die Localisation des Indigoblau in den tiefblau erscheinenden Chlorophyllkörnern *c* zu veranschaulichen. Vergr. etwa 300.
- Fig. 3. *Isatis tinctoria* L. Stück eines Querschnittes von einem sehr jungen Blatte nach Ausführung der Indicanprobe mit Ammoniakdampf. Epidermis *e* sammt den Haaren *h*, mit Ausnahme der Schliesszellen *s*, frei von Indigo, Mesophyllzellen reich daran. Innerhalb dieser der Indigo in den Chlorophyllkörnern gehäuft. Gefässbündel *g* führen nur sehr wenig Indigo. Vergr. etwa 210.
- Fig. 4. *Isatis tinctoria* L. Epidermis eines sehr jungen Blattes nach Ausführung der Indicanprobe mit Ammoniakdampf. In den chlorophyllhaltigen Schliesszellen *s* ist Indigo gehäuft, desgleichen, wenn auch viel schwächer, in den Nebenzellen. Die chlorophyllosen, noch unfertigen Spaltöffnungen *u* führen gewöhnlich kein Indigoblau. Vergr. etwa 250.
-



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1899

Band/Volume: [17](#)

Autor(en)/Author(s): Molisch Hans

Artikel/Article: [Ueber das Vorkommen von Indican im Chlorophyllkorn der Indicanpflanzen. 228-233](#)