

Vergleichende Untersuchungen über den Carotin- und Xanthophyllgehalt grüner und herbstlich gelber Blätter.

Von

Elisabeth Goerrig aus Essen a. d. Ruhr.

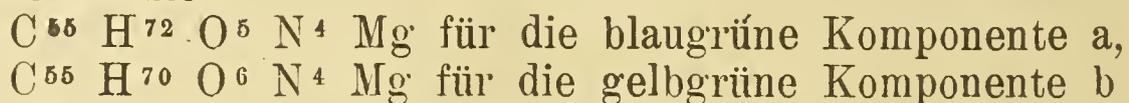
I. Einleitung.

Veranlassung und Ziel der Untersuchungen.

Vergleichende Messungen des Carotingehaltes grüner und herbstlich gelber Blätter von *Mirabilis Jalapa*, die auf Veranlassung von Geh. Rat Correns im botanischen Institut der Universität Münster ausgeführt wurden, ergaben eine Zunahme des Carotins im vergilbten Blatt. Dies Resultat steht im Widerspruch mit den herrschenden Vorstellungen über die Ursachen der herbstlichen Vergilbung und die Vorgänge, die sich während derselben im Blatte abspielen.

Ich stellte mir daher die Aufgabe, zu untersuchen, ob das für *Mirabilis Jalapa* gefundene Verhalten auch bei anderen Pflanzenarten nachzuweisen sei und in der Carotinvermehrung eine Erscheinung vorliege, die vielleicht allgemeiner die Vorgänge während der herbstlichen Umfärbung des Laubes charakterisiere.

Die Zusammensetzung des Chloroplastenfarbstoffs aus mindestens 4 nebeneinander vorhandenen Teilpigmenten darf man wohl als heute allgemein anerkannte Tatsache ansprechen. Diese 4 Farbstoffe, 2 grüne und 2 gelbe, sind von Willstaetter¹⁾ und seinen Mitarbeitern in den Jahren 1906—1913 in größeren Mengen in Reinsubstanz erhalten worden. Die Frage nach ihrer chemischen Natur konnte in diesen Untersuchungen beantwortet und dadurch manche bislang gültige Anschauung über die das Chlorophyll zusammensetzenden Elemente als irrtümlich nachgewiesen werden. Die beiden grünen Farbstoffe, Chlorophyll a und b Willstaetters wurden als komplexe Magnesiumverbindungen erkannt und die Formel



¹⁾ Willstätter, R., u. Stoll, A., Unters. über Chlorophyll. Berlin 1913.

wahrscheinlich gemacht. Die Kohlenwasserstoffnatur des Carotins, von Zeise¹⁾ und Arnaud²⁾ schon festgestellt, wurde von Willstaetter und Mieg³⁾ bestätigt, seine Formel auf Grund des jodärmsten Jodadditionsproduktes zu $C^{40} H^{56}$ verbessert. Für das zweite gelbe Pigment, das von Willstaetter und Mieg⁴⁾ zuerst kristallisiert erhalten wurde, ergab die Analyse die Zusammensetzung $C^{40} H^{56} O^2$. Tswett⁵⁾, der mit Hilfe seines Adsorptionsverfahrens zu ähnlichen Teilpigmenten des Chlorophyllgemisches gelangt, faßt das Xanthophyll allerdings nicht als einheitlichen Körper, sondern als eine Gruppe von 4 sich nahestehenden Stoffen, Xanthophyll α , α' , α'' und β auf. Willstaetter⁶⁾ hält die Richtigkeit dieser Auffassung für möglich.

Von diesen also zum mindesten in der Vierzahl vorhandenen Farbstoffen schwinden im Herbst unter dem gemeinsamen Einfluß der Temperaturabnahme und eines bestimmten Reifestadiums der Blätter die beiden grünen allmählich, und das Blatt durchläuft die für seine Art charakteristischen Farbschattierungen von grün über gelb evtl. gelbbrot zu braun bis schwarz, in seltenen Fällen hellgelb bis fast weiß. Die einzelnen, äußerlich wahrnehmbaren Phasen dieses Verlaufs und die gleichzeitigen anatomischen Vorgänge in den Zellen des Blattes sind in der Literatur mehrfach genau charakterisiert, so daß ich hier nur auf die Arbeiten von Kohl⁷⁾, Stahl⁸⁾ und Tswett⁹⁾ zu verweisen brauche. Tswett unterscheidet beim herbstlichen Vergilbungsvorgang die nekrobiotische Periode, während welcher das Blatt noch plasmolysierbar und als lebendes Organ der Pflanze anzusprechen ist, scharf von der postmortalen mit braunen bis schwarzen Farbtönen des abgestorbenen Blattes.

Unter Zugrundelegung dieser Einteilung Tswetts läßt sich die Zeit des Blattlebens, über welche sich vorliegende Arbeit erstreckt, als nekrobiotische Phase mit einem kurzen Ausdruck zeitlich genau umgrenzen.

Welches ist nun das Wesen der Vorgänge, deren äußerer Verlauf durch so auffallende Merkmale gekennzeichnet, sich während der nekrobiotischen Lebensperiode des Blattes vollzieht, oder mit anderen Worten, welchen Substanzen verdankt das Blatt seine herbstliche Pigmentierung, wie und wann werden diese Substanzen gebildet?

Einen Beitrag zur Beantwortung dieser Fragen zu liefern, wurden die nachfolgenden Untersuchungen angestellt.

¹⁾ Zeise, Über das Carotin. (Liebig's Ann. d. Chem. Bd. 62. 1847. S. 380–82.)

²⁾ Arnaud, A., Recherches s. l. compos... (Compt. rend. 1886. p. 1121.)

³⁾ ⁴⁾ Willstätter u. Mieg, Ann. d. Chem. Bd. 54. 1907. S. 1 ff.)

⁵⁾ Tswett, M., L'état actuel d. n. conn. s. l. Chim. d. l. Chl. (Rev. générale d. Sciences. p. 23.)

⁶⁾ Willstätter u. Stoll, Unters. über Chlorophyll. S. 235.

⁷⁾ Kohl, F. G., Unters. über d. Carotin. S. 94 ff.

⁸⁾ Stahl, E., Zur Biologie des Chlorophylls. S. 132 ff.

⁹⁾ Tswett, M., Über d. Verfärbung... (Ber. d. D. bot. Ges. 1908. S. 88.)

II. Theoretischer Teil.

Drei Möglichkeiten sind bei Zustandekommen der Herbstfärbung denkbar:

1. Die gelben, herbstlichen Chromogene — denn nur auf diese beziehen sich meine Untersuchungen — sind Neubildungen und erst während der Verfärbungsperiode entstanden, oder

2. die die Gelbfärbung bedingenden Pigmente sind schon im grünen Blatt vorhanden, werden aber erst sichtbar durch das Schwinden des Grün, oder endlich

3. zu den im grünen Blatt schon vorhandenen gelben Farbstoffen treten im Herbst weitere hinzu, die den bis dahin verdeckten entweder chemisch gleich oder von ihnen verschieden sein können.

Solange das Nebeneinander grünen und gelben Farbstoffs unbekannt war, konnte natürlich nur die erste Hypothese zur Erklärung der Vergilbung herangezogen werden. Man hielt dann, der von Berzelius¹⁾ begründeten Auffassung folgend, das „Xanthophyll“ für ein Umwandlungsprodukt des „Chlorophylls“, unter dem Einfluß von Kälte oder infolge eines Oxydationsvorganges aus letzterem entstanden. Aber auch, als man mit Hilfe des berühmten Krausschen Entmischungsverfahrens²⁾ das gleichzeitige Vorkommen von Blattgrün und Blattgelb erkannte, blieb die Lehre von den genetischen Beziehungen beider bestehen. Man sah wie Wiesner³⁾ im „Etiolin“ (Carotin) die Muttersubstanz des „Chlorophylls“, oder umgekehrt im Chlorophyll das Ausgangsprodukt der gelben Farbstoffe. Das Ergrünen faßten im Anschluß an Wiesner Sachsse⁴⁾ und Lindt⁵⁾ als Folge fortgesetzter Reduktionsprozesse auf, während für die Entstehung des Carotins aus dem Chlorophyll von den Vertretern dieser Anschauung entsprechende Oxydationsvorgänge verantwortlich gemacht werden. Am konsequentesten hat Schroetter von Kristelli⁶⁾ den Gedanken des chemischen Zusammenhangs von Blattgrün und Blattgelb durchgeführt. Deszendierende Metamorphosen (Reduktionsvorgänge) — so sagt er in einer Arbeit „Über ein neues Vorkommen von Carotin“ aus dem Jahre 1895 — führen vom Cholesterin zum Etiolin, Xanthophyll, Chlorophyll, ascendierende (Oxydationsvorgänge) vom Chlorophyll zum Carotin und wieder zum Cholesterin.

Experimentelle Beweise ließen sich für diese Hypothesen nicht erbringen, nur spektralanalytische und mikroskopische Beobachtungen konnten als Stützen herangezogen werden. So finden wir verschiedentlich den Hinweis auf den Chlorophyllcharakter des Carotinspektrums, dessen ganz natürlichen Grund spätere Unter-

¹⁾ Berzelius, Ann. d. Chem. Bd. 21. 1837. S. 257 ff.

²⁾ Kraus, G., Zur Kenntnis der Chlorophyllfarbstoffe und ihrer Verwandten. Stuttgart 1872. S. 88.

³⁾ Wiesner, J., Die Entstehung d. Chlorophylls. (Sitzber. d. K. Akad. d. Wiss. Wien. Bd. 69. 1877.)

⁴⁾ zit. nach Schrötter-Kristelli, Bot. Centralbl. Bd. 61. 1895. S. 42.)

⁵⁾ Schrötter-Kristelli, H., Botan. Centralbl. Bd. 61. 1895. S. 43.)

suchungen in Verunreinigung des Carotins mit Chlorophyllresten entdeckt haben. Eine Ablehnung durch die neuere Literatur erfahren auch die früheren mikroskopischen Beobachtungen des „direkten Übergangs von Chlorophyll in Xanthophyllkörner“ Weiss¹⁾ oder der „gelben Etiolinkörper in grüne Chromotophoren“.

Fr. und G. Tobler²⁾ weisen bei Besprechung der Reifeerscheinungen von *Momordica* darauf hin, daß „oberflächliche Betrachtung hier einen Zusammenhang zwischen Chlorophyll und Carotin annehmen könnte“. Genannte Forscher betonen weiterhin wiederholt, daß ein solcher Zusammenhang in Wirklichkeit nicht bestehe. Demzufolge wird neuerdings das Schwergewicht bei Erklärung der herbstlichen Verfärbung auf das Schwinden des verdeckenden Blattgrüns gelegt und — wie in der Stahlschen³⁾ Arbeit — die unter 2 angeführte Möglichkeit als in der Natur realisiert angenommen. Die Frage nach dem quantitativen Verhalten der im grünen Blatt vorhandenen gelben Farbstoffe wird dabei unberücksichtigt gelassen.

Es liegen aber auch Arbeiten vor, in denen Auffassung 3 im einen oder anderen Sinne durch quantitative Messung der Farbstoffe gestützt wird.

Ein gemeinsamer Mangel vieler dieser älteren Arbeiten ist die Beachtung nur eines gelben Farbstoffs, trotzdem Stokes⁴⁾, Sorby⁵⁾ und Borodin⁶⁾ längst mehrere, das Chlorophyll begleitende, gelbe Pigmente, ihre spektroskopischen Eigenschaften und ihr Verhalten bestimmten Lösungsmitteln gegenüber beobachtet hatten. Daß fast jeder Forscher den von ihm untersuchten Farbstoff besonders benannte, denselben aber mehr oder weniger unvollständig charakterisierte, macht es außerordentlich schwierig oder ganz unmöglich, ihn mit einem der heute sicher bekannten Farbstoffe zu identifizieren. Auch für die von Tammes⁷⁾ und Kohl⁸⁾ zusammengestellten Substanzen, die ihrer Meinung nach mit dem Carotin gleichzusetzen sind, ist nach unseren heutigen Kenntnissen der Identitätsnachweis nicht erbracht. Noch weniger sagen uns heute natürlich quantitative Bestimmungen dieser teilweise fraglichen Substanzen, und wenn Tschirch⁹⁾, Immendorff¹⁰⁾, Schroetter von Kristelli¹¹⁾ eine Zunahme des Carotins im vergilbten Blatt, Kohl¹²⁾ eine Abnahme angibt, so ist weder

1) Weiss, A., Sitzber. d. K. Akad. Wien. Bd. 49. 1864; Bd. 51. 1866.

2) Tobler, Fr. u. G., Ber. d. deutsch. Bot. Ges. 1910. S. 496 ff.; 1912, S. 33 ff.)

3) Stahl, E., Zur Biologie des Chlorophylls. 1909. S. 133.

4) Stokes, G. G., Proc. of the Roy. Soc. Vol. 13. 1864. p. 144.

5) Sorby, H. C., Proc. of the Roy. Soc. Vol. 21. 1873. p. 442.

6) Borodin, J., zit. nach Willstaetter, Unt. üb. Chlor. 1913. S. 232.

7) Tammes, T., Flora. Bd. 87. 1900. S. 210 ff.

8) Kohl, F. G., Unters. üb. Carotin. 1902. S. 157 ff.

9) Tschirch, A., Unters. ü. d. Chlorophyll. (Landw. Jahrb. Bd. 13. 1884.)

10) Immendorff, Das Carotin im Pflanzenkörper. (Landw. Jahrb. Bd. 18. 1889.)

11) Schrötter-Kristelli, Ber. d. D. bot. Ges. Bd. 59. 1895. S. 39.)

12) Kohl, Unters. ü. d. Carotin. 1902. S. 108.

der eine noch der andere Befund beweisend für das tatsächliche Verhalten des Carotins bei der Herbstfärbung des Laubes.

Dank der uns namentlich von Willstaetter¹⁾ übermittelten genaueren Kenntnisse der Natur und Eigenschaften des Carotins und außerdem des zweiten gelben Farbstoffs, des Xanthophylls, können wir uns heute die widersprechenden Resultate früherer Arbeiten teilweise erklären.

Willstaetter und Mieg²⁾ haben das Verhalten des Carotins in der viel verwendeten Krausschen Entmischung nachgeprüft und gefunden, daß es nicht möglich ist, „Carotin mit Alkohol aus Schwefelkohlenstoff (oder Petroläther und Benzol) herauszuholen“. Sehr löslich fanden sie dagegen das Xanthophyll in Alkohol. Demnach müssen wir für alle nach dem Krausschen oder einem verwandten Verfahren ausgeführten Untersuchungen annehmen, daß die als Endergebnis erhaltene gelbe Lösung nicht reines Carotin, sondern überhaupt kein Carotin oder im besten Falle mit Carotin vermisches Xanthophyll enthielt. Die sehr leichte Zersetzlichkeit beider gelben Pigmente durch Säuren muß uns außerdem höchst skeptisch machen gegen alle jene Verfahren, in denen starke oder schwache Säuren zur Anwendung gelangten.

Anders ist es mit den Carotinuntersuchungen, bei denen Petroläther als Extraktionsmittel verwendet wurde. Da dieses Lösungsmittel in der Hauptsache nur das Carotin entfernt, vom Xanthophyll aber nichts, vom grünen Anteil geringe Mengen fortnimmt, eignet es sich vorzüglich dort, wo in nicht grünen Pflanzenorganen das Carotin bestimmt werden soll. Es ist also bei Lösung der Frage nach seiner Bedeutung für die Vergilbung von Wichtigkeit.

Nun verwendete Arnaud³⁾ das Petrolätherverfahren zwar schon zu vergleichenden Carotinmessungen, bezog in diese vergilbte Blätter aber nicht ein. Auch Willstaetter und Mieg⁴⁾, die die Arnaudsche Methode weiter ausbauten und zur Gewinnung größerer Mengen Carotins benutzten, beschränkten sich, der Fragestellung ihrer Untersuchung entsprechend, auf die Verarbeitung grüner Blätter.

Die vielumstrittene Frage nach der Beteiligung des Carotins an der herbstlichen Gelbfärbung des Laubes steht also noch offen, — abgesehen von der Tswettschen Beantwortung⁵⁾, auf die ich gleich zurückkommen werde. Da heute unsere Kenntnisse der Chloroplastenfarbstoffe auf ganz neue Grundlagen gestellt und die Methode zu ihrer Isolierung wesentlich ausgebaut und verbessert ist, sind damit günstige Vorbedingungen zu ihrer Lösung gegeben.

Von diesen Gedanken ausgehend, wurden die Carotinmessungen vorliegender Arbeit ausgeführt. Wie im Einzelnen die Extrakte hergestellt und ihr Farbstoffgehalt bestimmt wurde, ist an anderer Stelle genau angegeben.

^{1) 2)} Willstätter u. Mieg, Über die gelben Begleiter d. Chlorophylls. (Ann. d. Chem. Bd. 355. 1907.)

³⁾ Arnaud, A., Compt. rend. T. 100. 1889. p. 151 ff.

⁴⁾ loc. cit. S. 12 ff.

⁵⁾ Tswett, M., Ber. d. D. bot. Ges. 26. 1908. S. 94 ff.

Leider mußten nach Fertigstellung der den ersten Teil der Arbeit bildenden Versuche diese für die Dauer fast eines Jahres unterbrochen werden, da die Beschaffung von Petroläther infolge durch den Krieg verursachter Bezugsschwierigkeiten unmöglich war. Im Herbst 1915 wurden die Untersuchungen an Blättern einer zweiten Wachstumsperiode wieder aufgenommen und als nächstliegende Ergänzung der Carotinbestimmung auch das Xanthophyll im grünen und gelben Blatt quantitativ verglichen.

Das Auftreten des Carotins als Pigment herbstlich gelber Blätter hatten — um das voraus zu nehmen — die Untersuchungen des Vorjahres in allen Fällen erwiesen. Vermehrung und Verminderung schien abhängig zu sein von der Pflanzenart. Beim größeren Teil der untersuchten Pflanzen wurde Zunahme, bei wenigen deutliche Abnahme des Carotingehaltes ihrer Blätter festgestellt. Nun ist aber schon aus dem steten gemeinsamen Auftreten von Carotin und Xanthophyll — das außer von Willstaetter¹⁾ von Monteverde²⁾, C. A. Schunck³⁾ und v. Wisselingh⁴⁾ beobachtet wurde, — zu vermuten, daß beide Farbstoffe sich auch gemeinsam an der Herbstfärbung des Laubes beteiligen. Die immer noch kräftig gelbe Farbe mit Petroläther extrahierter, vergilbter Blätter bestätigt gewissermaßen diese Vermutung. Allerdings, die Wahrscheinlichkeit, ein oder mehrere bisher noch nicht genauer bekannte Pigmente könnten diese Färbung verursachen, ist ebenso groß. Kohl⁵⁾ und Tswett⁶⁾ vertreten auch auf Grund ihrer Untersuchungen letztere Ansicht. Da beide jedoch bezüglich des Carotins von den hier gefundenen Resultaten abweichende Ergebnisse erhielten, da ihre beiderseitigen Resultate sich nicht decken und schließlich ihre Methoden von den Willstaetterschen sich unterscheiden, ist eine Wiederholung vergleichender Xanthophyllmessung unter Benutzung eben dieser Willstaetterschen Methoden⁷⁾ gerechtfertigt. Für die grünen Blätter aller von ihm untersuchten Pflanzen fand Willstaetter ein annähernd konstantes Verhältnis von Carotin zu Xanthophyll mit starkem Überwiegen des letzteren. „Auf 1 Mol Carotin treffen 1½—2 Mol Xanthophyll.“⁸⁾ Damit ist Kohls Behauptung: „Die beiden unzweifelhaft verbreitetsten und wichtigsten Pflanzenfarbstoffe sind das α -Chlorophyll und das Carotin“⁹⁾ widerlegt. Herbstblätter sind, wie erwähnt, von Willstaetter nicht untersucht.

Da ein Extraktionsmittel, das analog dem Verhalten des Petroläthers zum Carotin nur das Xanthophyll aus dem Blatt löst, nicht

¹⁾ Willstätter, R., u. Stoll, A., Unters. ü. Chlorophyll. 1913.

²⁾ Monteverde, N. A., zit. nach Willstätter u. Stoll, Unters. üb. Chl. S. 232.

³⁾ Tschirch, A., Ber. d. D. bot. Ges. Bd. 14. 1896. S. 76; Bd. 22. 1914. S. 414.

⁴⁾ v. Wisselingh, C., Flora. N. F. Bd. 6. 1915. S. 371—432.

⁵⁾ Kohl, F. G., Unters. ü. d. Carotin. 1902. S. 142 u. 158.

⁶⁾ Tswett, M., Ber. d. D. bot. Ges. Bd. 26. 1908. S. 96 ff.

⁷⁾ Willstätter u. Stoll, R., Unters. ü. Chlorophyll. 1913.

⁸⁾ daselbst. S. 116.

⁹⁾ Kohl, F. G., Unters. ü. d. Carotin. 1902. S. 158.

bekannt ist, muß zur Isolierung des Xanthophylls zunächst das Gesamtchlorophyll dem Blatt entzogen werden. Aus dieser Rohchlorophylllösung, die alle 4 Farbstoffe enthält, werden durch Verseifung die beiden grünen abgetrennt, darauf mittels einer von Willstaetter als fehlerfrei bezeichneten Methode¹⁾, welche sich an ältere Beobachtungen von Borodin anschließt, Carotin und Xanthophyll voneinander getrennt und jedes für sich gemessen. Dadurch kann eine Einsicht gewonnen werden in das Mengenverhältnis des Xanthophylls im grünen zu dem im vergilbten Blatt einerseits und in dasjenige von Carotin zum Xanthophyll im grünen sowohl wie im gelben Blatt andererseits, eine Einsicht, die der zweite Teil der Arbeit erstrebt.

Hätte damit für eine beschränkte Anzahl von Pflanzen das Problem der Herbstfärbung, soweit es Carotin und Xanthophyll umschließt, eine Lösung erfahren und die eingangs unter 2 oder 3 aufgestellte Hypothese eine teilweise Bestätigung gefunden, so bliebe immer noch zu untersuchen, ob außer Carotin und Xanthophyll im herbstlich gelben Laube neue, dem grünen Blatt fremde gelbe Pigmente auftreten.

In zwei Arbeiten fand ich solche angegeben, in der heute wohl in manchen Teilen als überholt zu betrachtenden Carotinmonographie Kohls²⁾ und in der neueren Mitteilung Tswetts „Über das Pigment des herbstlich vergilbten Laubes“.³⁾ Kohl⁴⁾ findet, „daß sich an der Herbstfärbung der Blätter gleichzeitig beteiligen Carotin, α -Xanthophyll und β -Xanthophyll, daß ferner noch geringe Mengen eines mit Chlorophyll noch nahe verwandten gelben Pigmentes auftreten.“ Inwiefern Kohls „Definition des α -Xanthophylls unsicher und unexakt ist“, hat Tswett⁵⁾ dargelegt. Ich lasse dasselbe hier unberücksichtigt, ebenso wie das nicht genau bezeichnete „mit dem Chlorophyll noch nahe verwandte, gelbe Pigment.“ Kurz berühren möchte ich indessen das β -Xanthophyll, nach Kohls⁶⁾ eigenen Angaben nur ein vorläufiger Sammelname „für alle wasserlöslichen, gelben Blüten-, Blatt-etc. Farbstoffe, welche nur Endabsorption am stark brechbaren Ende des Spektrums zeigen.“ Während an einer Stelle⁷⁾ die Angabe gemacht wird: „Soweit ich das heute übersehen kann, ist auch der Gehalt des Herbstblattes an α - und β -Xanthophyll nicht größer als der des grünen Sommerblattes“, widerspricht dem die spätere Behauptung⁸⁾: „Der normale Chloroplast enthält viel Carotin, wenig α -Xanthophyll, wenig β -Xanthophyll. Der Chloroplast des herbstlichen Blattes enthält weniger oder ebenso viel Carotin als im grünen Blatt, wenig α -Xanthophyll, viel β

1) Willstätter, A., u. Stoll, R., Unters. ü. Chlor. 1912. S. 95.

2) Kohl, F. G., Unters. ü. d. Carotin. 1902.

3) Tswett, M., Ber. d. D. bot. Ges. 26. 1908. S. 94.

4) Kohl, F. G., Unt. ü. d. Carotin. 1902. S. 107.

5) Tswett, M., Ber. d. D. bot. Ges. 26. 1902. S. 95.

6) Kohl, F. G., Unters. ü. d. Carotin. 1902. S. 158.

7) daselbst. S. 109.

8) daselbst. S. 145.

Xanthophyll.“ Ob sich diese widersprechenden Angaben auf verschiedene Pflanzen beziehen, ist leider aus der Arbeit selbst nicht ersichtlich. Jedenfalls hat Kohl einen wasserlöslichen Farbstoff erhalten, dem er neben Carotin und Xanthophyll in gewissen Fällen eine starke Beteiligung am Zustandekommen der herbstlichen Gelbfärbung zumißt.

Einen seiner Natur nach ganz anderen Farbstoff, der aber die letztgenannte Eigenschaft mit dem β -Xanthophyll Kohls teilt, gibt Tswett¹⁾ an. Tswett schreibt dieser Substanz noch ungleich wirksameren Anteil an der Herbstpigmentierung zu als Kohl seinem β -Xanthophyll, denn er macht dieses „Herbstxanthophyll — bis auf Spuren der normalen Farbstoffe des grünen Blattes — allein für die Färbung vergilbter Blätter verantwortlich. In Substanz erhalten hat Tswett diesen Farbstoff nicht, er schließt nur auf ihn, weil die aus vergilbten Blättern erhaltenen petrolätherischen oder alkoholischen Extrakte bei der Prüfung auf Carotin und Xanthophyll in der Krausschen Entmischung und der Adsorption durch CaCO_3 Eigenschaften aufwiesen, die er einerseits nur am Carotin, andererseits nur am Xanthophyll beobachtet hatte. Darum, schließt Tswett, kann dieser Farbstoff weder Carotin noch Xanthophyll sein. Er vermutet in ihm ein Zeretzungsprodukt beider oder allein der Xanthophylle. Die in Aussicht gestellte, ausführliche Veröffentlichung hierüber ist meines Wissens nicht erschienen. Von ihr dürfen wir nähere Charakterisierung dieses „Herbstxanthophylls“ erwarten. Spektroskopisch untersucht zeigte das Herbstxanthophyll 3 hinter F gelegene Adsorptionsbänder, die in ihrer Lage etwas variabel waren. Tswett schloß daraus auf Nicht-Einheitlichkeit des von ihm entdeckten Farbstoffes. Das Vorhandensein wasserlöslicher, gelber Farbstoffe im lebenden Herbstblatt streitet Tswett ab, da er bei Abkochung von Blättern mit destilliertem Wasser nie gelbe Lösungen erhielt, diese Lösungen bei Zusatz von Kalilauge aber sofort intensiv goldgelbe Farbe annahmen. Die von anderen Forschern beobachteten wasserlöslichen Farbstoffe — hierunter fiel dann auch das β -Xanthophyll Kohls — bezeichnet Tswett als Kunstprodukte. Bei der postmortalen Verfärbung des vergilbten Laubes schreibt er diesen bis dahin farblosen Stoffen die Hauptrolle zu.

Fast übereinstimmend hiermit erklärte Berzelius²⁾ 1837 „die auf das Gelb folgende braune Farbe“, die „aus einem im Blatt enthaltenen anfangs farblosen Extrakt entsteht, der nach Desorganisation der Epidermis durch Einwirkung des Sauerstoffs braun wird.“

Ich erwähne diese Tatsachen, weil ich bei meinen Untersuchungen in den Acetonauszügen gelber Blätter ebenfalls beträchtliche Mengen von Farbstoffen fand, die nicht als Carotin oder Xanthophyll anzusprechen sind. Ich muß sie aber als wasser-

1) Tswett, M., Ber. d. D. bot. Ges. Bd. 26. 1908. S. 100.

2) Berzelius, Ann. d. Chem. Bd. 21. 1837. S. 257 ff.

löslich resp. in sehr stark verdünntem Aceton löslich bezeichnen und als ohne Zusatz von Kalilauge gelb bis gelbbraun gefärbt. Da ich die Extraktion stets mit hochprozentigem Aceton ausführte, könnte der Einwand erhoben werden, die mit dem Aceton ausgewaschenen gelben Farbstoffe seien erst durch Einwirkung des Lösungsmittels auf die Chloroplastenpigmente abgespalten worden. Durch ein paar orientierende Versuche überzeugte ich mich, daß auch Leitungswasser oder destilliertes Wasser Blattmehlen, — wie ich sie im allgemeinen zu den Versuchen verwendete, — gelbe bis gelbbraune Farbstoffe zu entziehen vermögen. Ich setzte 3 gr Blattmehle gelber und grüner Blätter mit jeweils 50 ccm Leitungswasser, destilliertem Wasser oder 10% igem Aceton in der Kälte an. In jedem Falle war das Lösungsmittel nach eintägigem Stehen sehr deutlich, z. T. stark angefärbt. Die intensivste Färbung hatte die Acetonlösung. Die Extrakte mit Leitungswasser oder destilliertem Wasser waren etwas schwächer angefärbt, untereinander differierten sie in der Farbe so gut wie garnicht. Diese wasserlöslichen Pigmente wurden von mir nicht näher untersucht. Ich habe nur, wie das die Versuchsprotokolle zeigen, bei den Analysen des zweiten Teils der Arbeit ganz grob ihre jeweilige Menge bestimmt durch Angabe ihrer Farbstärke in stets gleichmäßiger Verdünnung. Was ich damit bezweckte, und was auch selbst aus diesen recht ungenauen Angaben in die Augen springt, ist der Hinweis auf die in vielen Fällen geringe Bedeutung des Carotins und Xanthophylls für die herbstliche Gelbfärbung. Allerdings habe ich, im Gegensatz zu Tswett, immer gut meßbare Mengen beider Farbstoffe in den vergilbten Blättern gefunden, Mengen, die sich nicht als nur aus den Spaltöffnungszellen stammend erklären lassen, wie Tswett das für die „Spuren“ von Carotin und Xanthophyll angibt, die er im herbstlich gelben Laube feststellte.¹⁾

III. Die Arbeitsmethoden und die Auswahl des Versuchsmaterials.

Die Arbeitsmethoden sind, wie verschiedentlich angedeutet, von Willstaetter übernommen und, soweit das die Einrichtungen des hiesigen Laboratoriums ermöglichten, genau befolgt. Ihre erheblichen Vorzüge den alten Verfahren gegenüber liegen nach verschiedenen Richtungen. Zunächst werden während des ganzen Verlaufs der Analysen Säuren und hohe Temperaturen vermieden, um Zersetzungen der Farbstoffe vorzubeugen. Dann bringt die Verarbeitung der Blätter in Form von Blattmehlen und ihre Extraktion auf der Nutsche mit wasserhaltigem Aceton eine Ersparnis an größeren Gefäßen und an Extraktionsflüssigkeit und ein schnelles und vollständiges Ausziehen der unveränderten Farbstoffe mit sich. Die Abscheidung der Chlorophylle aus vom Aceton be-

¹⁾ Tswett, M., Ber. d. D. bot. Ges. Bd. 26. 1908. S. 100.

freiter, ätherischer Lösung nach ihrer Überführung in wasserlösliche Alkalisalze und die Trennung der gereinigten, gelben Farbstoffe auf Grund ihres gegensätzlichen Verhaltens gegenüber Alkohol und Petroläther sind im Prinzip keine Neuentdeckungen Willstaetters. Die Technik dieser Verfahren aber wurde von ihm und seinen Schülern ganz genau ausgearbeitet und vervollkommenet, alle Einzelheiten derselben auf ihre Brauchbarkeit geprüft, auf Fehlerquellen aufmerksam gemacht. (Willstaetter u. Stoll: Untersuchungen über Chlorophyll, Methoden und Ergebnisse. Kapitel II bis IV.)

Bei Benutzung der Methoden, denen somit von berufener chemischer Seite gute Ergebnisse gewährleistet sind, wurde darauf geachtet, daß auch die vom botanischen Standpunkt aus zu fordernden Vorbedingungen für die Erzielung verwendbarer Resultate erfüllt waren. Um Verschiedenheit der äußeren Versuchsbedingungen und subjektive Beeinflussung des Analysenverlaufs bei Versuch und Gegenversuch auszuschalten, gelangten zusammengehörige Objekte immer gleichzeitig und nebeneinander zur Verarbeitung. Für Versuchs- und Kontrollversuchspaare konnten, da ein Zimmer mit konstanter Temperatur nicht zur Verfügung stand, keine genau gleichen, äußeren Bedingungen geschaffen werden. Ich glaube jedoch nicht, daß die im Laboratorium herrschenden Tagesschwankungen die Resultate irgendwie beeinflußt haben. Vor direktem Sonnenlicht waren Blattmehle und Lösungen natürlich immer geschützt.

Zur Erreichung eindeutiger Vergleichswerte bei Versuchspaaren müssen schon aus theoretischen Gründen neben vollständiger Gleichheit der Außenbedingungen und der Arbeitsweise vornehmlich Übereinstimmung aller Faktoren des Wachstums und Entwicklungszustandes der analysierten Blätter gefordert werden.

Mag man der von Wiesner¹⁾ begründeten und von Kraus²⁾, Pfeffer³⁾, Timiriazeff⁴⁾, Kohl⁵⁾ und Iwanowski⁶⁾ vertretenen Lehre von der ständigen Zerstörung und Neubildung des Chloroplastenfarbstoffs zustimmend oder ablehnend gegenüber stehen, eine quantitative Beeinflussung des von der lebenden Zelle gebildeten Farbstoffs durch äußere Faktoren wird jedenfalls zugestanden werden. Die Größe dieses Einflusses, soweit überhaupt Untersuchungen über die einzelnen hier in Betracht kommenden Faktoren vorliegen, wird sehr verschieden bewertet. Innerhalb der Arbeiten der letzten Jahre vertreten Willstaetter) und Marchlewski⁷⁾ die am stärksten voneinander abweichenden Ansichten.

Willstaetter findet eine „wider Erwarten große, wenngleich

1) Wiesner, J., Pogg. Ann. 1874; Flora. 1874.

2) Kraus, C., Flora. N. R. Bd. 33. 1875.

3) Pfeffer, Physiologie. S. 318.

4) Kohl, F. G., Unters. ü. d. Carotin. 1902. S. 111.

5) Timiriazeff, zit. nach Kohl, S. 129.

6) Iwanowski, Ber. d. D. bot. Ges. Bd. 31. 1913. S. 600—613.

7) Marchlewski, Biochem. Ztschr. Bd. 57. 1913. S. 323—430.

nicht genaue Konstanz der Farbstoffe bei verschiedenen Pflanzen und unter verschiedenen Wachstumsbedingungen, eine Konstanz, die im Verhältnis der beiden grünen Komponenten noch um ein Geringes deutlicher in die Erscheinung tritt als bei den zwei gelben.“ „Der Gehalt an gelben Farbstoffen, worüber noch gar keine Angaben vorliegen, bewegt sich in engen Grenzen. Er beträgt nämlich bei den geprüften Pflanzen zwischen 0,1 und 0,2 % vom Trockengewicht.“ „Die Tageszeit übt gar keinen Einfluß aus. Einzig das Licht vermag erhebliche Ausschläge im Farbstoffgehalt der Blätter hervorzurufen.“ Folgende Zahlen, die einer Tabelle von Willstaetter entnommen sind, geben ein Bild von der Größe der Schwankungen.

Gehalt der Blätter an gelben Farbstoffen:

Pflanze	Mengen in gr in 1 kg	Carotin		Xanthophyll	
		Licht- blätter	Schatten- blätter	Licht- blätter	Schatten- blätter
<i>Sambucus nigra</i>	trockener Bl.	0,52	0,38	0,95	1,18
	frischer Bl.	0,145	0,063	0,262	0,192
<i>Aesculus Hippocast.</i>	trockener Bl.	0,79	0,37	1,24	1,11
	frischer Bl.	0,298	0,093	0,466	0,279
<i>Platanus acerifolia</i>	trockener Bl.	0,43	0,51	0,92	0,15
	frischer Bl.	0,152	0,127	0,323	0,311
<i>Fagus sylvatica</i>	trockener Bl.	—	0,35	—	0,68
	frischer Bl.	0,186	0,131	0,302	0,252

Demgegenüber fanden C. A. Jacobsen und L. Marchlewski¹⁾, daß nicht nur das Licht, sondern auch die übrigen Wachstumsbedingungen, insonderheit aber die Pflanzenspezies das Verhältnis der Chlorophyllkomponenten sehr merkbar beeinflussen. Inwieweit die Unterschiede, die Marchlewski findet, in Fehlern seiner Methode, unvollständiger Extraktion usw. begründet sind, darüber kann hier kein Urteil abgegeben werden.

Mit Marchlewski beobachteten Tswett²⁾ und Sorby³⁾, daß die Zusammensetzung des grünen Blattfarbstoffes aus seinen beiden Komponenten wechselnd sei, und Kohl⁴⁾ „erkennt schon durch die mikroskopische Untersuchung, daß der Carotingehalt der chlorophyllhaltigen Zelle zwischen sehr weiten Grenzen schwankt“ eine Erkenntnis, die durch seinen kolorimetrischen Vergleich alter und junger *Ampelopsis*-Blätter mit einem Carotingehalt von

¹⁾ Marchlewski, L. u. Jacobson, C. A., Bioch. Ztschr. Bd. 39. 1912. S. 174.

²⁾ Tswett, M., Ber. d. D. bot. Ges. Bd. 25. 1907. S. 396.

³⁾ Sorby, Proc. Roy. Soc. Bd. 21. 1873. p. 480.

⁴⁾ Kohl, F. G., Unters. ü. d. Carotin. 1902. S. 148.

175:165 keine besonders kräftige Stütze findet. Auch zu Willstaetters Carotinbestimmung in Licht- und Schattenblättern stellt sich eine solche von Kohl¹⁾ in gewissen Gegensatz. Er findet in

- 1, kontinuierlich von direktem Sonnenlicht beschienenen und
- 2 nur am Morgen und Abend von direkter Sonne getroffenen Blättern ein Verhältnis von 176:186.

Künftige Feststellung des Lichtoptimums für Carotinbildung könnte diesen scheinbaren Gegensatz vielleicht aufheben.

Im übrigen geht aus der Literatur einstimmig die ungeheuer fördernde Wirkung des Lichtes auf Entstehung und Vermehrung von Carotin hervor.

Arnaud ²⁾ entzog 100 gr trockener Blätter	
von normal gewachsenen Bohnen 178,8 Milligr.	} Carotin
- im Dunkeln - - - 34,0 -	

und, wenn Elfving's³⁾ Versuchsergebnisse richtig sind, kann 6 stündige Belichtung schon eine Verdoppelung des vorherigen Carotingehaltes verursachen.

Dennoch ist das Licht unerläßliche Vorausbedingung für die Carotinbildung, eine Tatsache, deren Nachweis die eben genannten Versuche Arnauds und Elfving's an erster Stelle erbringen sollten, und die Zopf⁴⁾, Overbeck⁵⁾ und Immendorff⁶⁾ bestätigen konnten.

Von Elfving⁷⁾ liegen wohl die einzigen Versuche in dieser Richtung, Angaben über die Beziehungen zwischen Temperatur und Carotinbildung vor. Das Temperaturminimum liegt, wie das Lichtminimum, beim Carotin tiefer als beim Chlorophyll. Eine Wärmemenge von 0°—2°, bei der Chlorophyllbildung vollkommen aufgehoben wird, reicht zur Carotinvermehrung noch aus, Steigerung der Temperatur wirkt stark beschleunigend auf dieselbe ein.

Der Einfluß von Pflanzenart und Entwicklungsstadium, auch wieder mit Beschränkung auf das Carotin, geht teilweise gegensätzlich zu Willstaetter aus Arnauds⁸⁾ Untersuchungen hervor. Nach ihm können durch die verschiedenen Pflanzenspezies Schwankungen zwischen 100—200 Milligramm in 100 gr trockener Blätter bedingt sein. Hiermit sollen aber wohl nur die mittleren Unterschiede charakterisiert werden, denn die aus der beigegebenen Tabelle zu entnehmenden Werte weichen im Extrem bedeutend stärker voneinander ab. Es enthielten Blätter von:

¹⁾ Kohl, F. G., Unters. ü. d. Carotin. 1902. S. 148.

²⁾ Arnaud, A., Compt. rend. T. 100. 1889. p. 913.

³⁾ Elfving, Fr., Arb. d. bot. Inst. Würzburg. Bd. II. 1882. S. 498.

⁴⁾ Zopf, zit. nach Kohl, Unters. ü. Carotin. S. 82.

⁵⁾ Overbeck, daselbst.

⁶⁾ Immendorff, daselbst.

⁷⁾ Elfving, Arb. d. bot. Inst. Würzburg. Bd. II. 1882. S. 495.

⁸⁾ Arnaud, A., Compt. rend. T. 109. 1888. p. 912.

Cannabis sativa, gepflückt am 18. 6., 215,9 Milligr.
Hedera helix, - - 15. 6., 50,9 -

Carotin in 100 gr Trockensubstanz.

Wie der Entwicklungszustand mit dem Carotingehalt in Beziehung steht, untersuchte Arnaud¹⁾ an *Urtica dioica* und *Aesculus Hippocastanum*. Er hat seine Resultate in Form von Kurven dargestellt, die in jedem Fall steileres Ansteigen bis zum Maximum zur Blütezeit — bei *Urtica* am 2. Mai, bei *Aesculus* am 4. Juni — zeigen, dann allmähliches Absteigen — wie Arnaud es angibt — bis zum Laubfall. Es liegen jedoch für die Periode des Blattlebens, die hier am meisten interessieren würde, keine Angaben vor. Die letzte Entnahme von Blättern erfolgte bei *Urtica* am 12. Juli, bei *Aesculus* am 12. August, also immerhin 1—2 Monate vor dem Verschwinden des Chlorophylls, dem äußeren Kennzeichen der erheblichen chemischen und physiologischen Änderungen, die sich im Blatte vollziehen. Die Angabe der kontinuierlichen Carotinverminderung bis zum Laubfall entbehrt also der experimentellen Grundlage gerade für die Zeit maximaler Umbildungsprozesse.

Auf eine letzte, beim Einsammeln des Versuchsmaterials zu berücksichtigende Tatsache weist Swart²⁾ in seiner Arbeit: „Die Stoffwanderung in ablebenden Blättern“ hin, den veränderten Stoffwechselprozeß des, nach Entnahme einer größeren Anzahl von Blättern, an dem betreffenden Ast oder Zweig verbleibenden Laubes. Daß bei teilweiser Entlaubung die Transpiration der restierenden Blätter gesteigert wird, hat Sorauer³⁾ festgestellt, und daß Steigerung der Transpiration Beschleunigung der Blattentleerung an Stärke bewirkt, ist von Saposchnikoff⁴⁾ und Rywosch⁵⁾ nachgewiesen worden. Da nun, sagt Swart, „die Fortschaffung der Assimilate wiederum zurückwirkt auf den Assimilationsprozeß selbst, so kann man folgerichtig schließen, daß bei wiederholter Entlaubung die übrigbleibenden Blätter eine Beeinflussung ihres gesamten Stoffwechsels aufweisen werden.“ Ob und in welcher Art sich dieser Einfluß auch auf die Chloroplastenpigmente erstreckt, ist bisher, soweit mir bekannt, noch nicht untersucht worden.

Wenn die Berücksichtigung der angeführten Tatsachen mit mehr oder weniger großer Dringlichkeit auf die Verwendung von Blättern, die unter gleichen Außenbedingungen gewachsen und und daraus folgende Beschränkung in der ersten Blattentnahme hinweist, erfordert der sehr geringe Gehalt lebender Blätter an Carotinoiden für ihren makroskopischen Nachweis in mehreren Parallelversuchen, außerdem der im Voraus nicht zu bestimmende Prozentsatz während des Trocknens unbrauchbar werdender Blätter das Einsammeln größerer Mengen Materials. Eine strenge Durch-

¹⁾ Arnaud, A., Compt. rend. T. 109. 1889. p. 913.

²⁾ Swart, N., Die Stoffwanderung in ablebenden Blättern. Jena 1914. S. 6.

³⁾ Sorauer, Ber. d. D. bot. Ges. Bd. 21. 1903. S. 256 ff.

⁴⁾ Saposchnikoff, Ber. d. D. bot. Ges. Bd. 8. 1890. S. 233.

⁵⁾ Rywosch, Zur Stoffwanderung im Chlorophyllgewebe. (Bot. Zeitg. 1900.)

führung der Verwertung einheitlicher Blätter war darum nicht immer möglich. Vor allem bei kleineren Pflanzen mußten dieselben in verschiedenen Entwicklungsstadien und von allen Teilen der Pflanze genommen werden. Durch entsprechende Auswahl vor dem Zerkleinern der getrockneten Blätter wurde jedoch möglichst gleichartiges Material für Versuch und Gegenversuch sichergestellt, und durch Herstellung einer größeren Menge gründlich durchgeschüttelten und vermischten Blattmehls gleiches Ausgangsmaterial für alle Analysen einer Blattsorte gewährleistet.

Spezielle Angaben über die Qualität der verarbeiteten Blätter sind jedem Versuchsprotokoll vorausgeschickt. Hier sollen nur im Allgemeinen die Richtlinien angegeben werden, nach denen die Auswahl des Materials erfolgte, und die Vorsichtsmaßregeln, die beim Einsammeln berücksichtigt wurden. Wo nichts Gegenteiliges bemerkt ist, stammen grüne und gelbe Blätter stets von demselben Pflanzenindividuum. Das Einsammeln geschah in fast allen Fällen zur gleichen Tageszeit. Die Angaben über die Witterung zeigen das Bemühen, auch in dieser Hinsicht nach Möglichkeit Fehlerquellen auszuschalten resp. anzudeuten, von welchen Möglichkeiten aus vielleicht eine kausale Erklärung der stark variierenden Carotin- und Xanthophyllmengen gefunden werden könnte, die bei verschiedenen Pflanzen in einer und bei derselben Pflanze in verschiedenen Wachstumsperioden gemessen wurden.

Es wurden jeweils zweimal Blätter entnommen:

1. grüne, kurz vor bzw. bei Beginn der herbstlichen Verfärbung, d. h. sobald sich an den ersten Blättern der betreffenden Pflanze Gelbfärbung zeigte.

2. gelbe, bei denen die Verfärbung ihren Höhepunkt, kenntlich an der Reinheit und Intensität des auftretenden Farbtons, erreicht hatte.

Unmittelbar nach dem Einsammeln wurden die Blätter in dünner Schicht locker auf mit Gaze bespannten Rahmen ausgebreitet und so bei einer Temperatur bis zu 40° im Heizraum des Kellers oder über den Heizkörpern getrocknet. In den meisten Fällen waren dazu 1—2 Tage, bei sehr derben oder stark behaarten Blättern bis zur doppelten Zeit notwendig. Während des Trocknens schützte sie Verdunkelung des Zimmers oder leichtes Überdecken vor dem Einfluß des Lichtes. Die brüchig lufttrockenen Blätter wurden in Papierhüllen locker verpackt und vor Licht und Staub möglichst geschützt in einem geheizten Raum bis zur Verarbeitung aufbewahrt. Ein Nachtrocknen vor dem Zermahlen war dann nicht mehr nötig.

Bei dieser Art des möglichst schnellen Trocknens bei nicht zu hoher Temperatur sollen sich nach Willstätter¹⁾ die Blattpigmente meist nicht zersetzen. Wenn man nach dem äußeren Anschein urteilen darf, trat das bei der Mehrzahl der Blätter auch nicht ein. Sie veränderten ihre Farbe nicht bis auf das Stumpfwerden derselben infolge des Wasserverlustes. Beim Trocknen mißfarben gewordene Blätter wurden nicht verwendet. Bei *Rheum*

¹⁾ Willstätter, R., u. Stoll, A., Untersuch. ü. Chlorophyll. 1913 S. 55.

officinale gelang mir das Trocknen nicht. Selbst wenn jedes Blatt, ringsum frei, in aufsteigenden, warmen Luftstrom gehängt wurde, trocknete es nicht, sondern faulte nach etwa 2 Tagen.

Um den Einfluß von Temperatur und Licht während des Trocknungsprozesses zu untersuchen, trocknete ich Fagusblätter unter normalen und unter extremen Belichtungs- und Temperaturbedingungen. Ich wählte zu diesem Versuch Fagusblätter, weil diese bei allen Analysen die konstantesten Werte ergeben hatten. Von demselben Baume, der Herbst 1914 und 1915 das Material lieferte, wurde Mitte Juni 1916 eine größere Menge Blätter gepflückt, ein Teil derselben im Trockenschrank bei 90°, ein zweiter im Gewächshaus unter dem direkten Einfluß des Sonnenlichtes — das Wetter war allerdings während der Zeit vielfach kühl und trüb —, ein dritter in der Dunkelkammer bei 30°–40° getrocknet. Die drei Blattsorten, auf die gleiche, später genau angegebene Weise untersucht, zeigten folgendes Verhältnis des Carotin- und Xanthophyllgehaltes:

getrocknet bei	30° im Dunkeln	90° im Dunkeln	Zimmertemperatur Sonnenlicht
Carotin	33	25	17
Xanthophyll	59×2	28×2	55×2

Beide Farbstoffe haben unter dem Einfluß von Hitze und von direktem Sonnenlicht an Menge verloren. Xanthophyll erscheint gegen hohe Temperatur empfindlicher als Carotin, während, gegensätzlich zum Verhalten der isolierten Substanzen, das Xanthophyll innerhalb der Chloroplasten sich gegen die Wirkung des Lichtes bedeutend widerstandsfähiger zeigt als sein sauerstoff-freier Begleiter. Ob das Blatt das nach Extraktion aus demselben so ungeheuer lichtempfindliche Xanthophyll durch besondere Schutz-einrichtungen vor der zersetzenden Wirkung des Lichtes zu bewahren vermag, könnte erst durch weitere Untersuchungen wahrscheinlich gemacht werden. Obiger Versuch scheint darauf hinzuweisen. Daß hohe Temperatur und direktes Licht beim Trocknen zu vermeiden sind, machen diese Versuche genügend deutlich.

Die Verarbeitung der Blätter geschah nach Zerkleinerung derselben zu grobem Blattmehl. Die Vorteile dieses Verfahrens, die vor allem praktischer Natur sind, sind anfangs erwähnt. Allerdings wird die Zeitersparnis bei der Extraktion, die die Benutzung der Blattmehle bietet, bei Untersuchungen in kleinem Maßstabe und mit den technischen Hilfsmitteln eines botanischen Laboratoriums zum großen Teil wieder aufgehoben durch die etwas langwierige Herstellung derselben. Ich benutzte zum Zermahlen eine kleine Handmühle, wie sie von der Firma Hegershof, Leipzig, geliefert wird.

Um etwa 150 gr Blätter zu zerkleinern, waren 5–6 Stunden notwendig. Nach Abtrennung der Blattstiele, in manchen Fällen auch der Hauptrippen, mußte das Blattmaterial 4–7 mal zermahlen werden. Auch dann war das Mahlprodukt noch längst nicht staub-

fein. Es wurde nun in einem Satz „Nobbes Samensiebe für Klee-proben“ — engste Siebweite 0,5 mm — ausgeschüttelt und dabei Sorge getragen, daß die Rückstände bei grünen und gelben Blättern derselben Pflanze quantitativ gleich waren. Das auf einmal in größerer Menge hergestellte Mehl, in fest verschließbaren Flaschen im Dunkeln aufbewahrt, behielt monatelang seine Farbe unverändert bei. Die Extraktion des Carotins, dessen quantitatives Verhalten während der nekrobiotischen Phase der Verfärbung im I. Teil dieser Arbeit zu bestimmen versucht wurde, erfolgte mit Hilfe des Petrolätherverfahrens. Petroläther entzieht den Blättern nur das Carotin, daneben geringe Mengen von Chlorophyll, oder, im Falle daß gelbe Blätter vorliegen, geringe Mengen beim Verseifen sich braun färbender Pigmente. Ob es sich um einen Teil der von Tswett gefundenen, im lebenden Blatt farblosen, bei Einwirkung von Alkali schön gelben Substanzen handelt, habe ich bisher nicht näher untersucht.

Eine absolute Erschöpfung der Blattmehle an Carotin ließ sich in weitgehender Annäherung durch 15—16 stündige Extraktion von je 3 gr Blattpulver mit 40 ccm Petroläther erreichen. Die Extrakte standen im Dunkeln in luftdicht schließenden Glasgefäßen, die mehrmaliges Aufschütteln des Blattmehls ermöglichten. Das extrahierte Blattmehl wurde durch Filtration vom carotinhaltigen Petroläther getrennt und einige Male mit frischem Extraktionsmittel nachgewaschen, natürlich stets mit gleichen Mengen — etwa 5—10 ccm bei grünen und gelben Blättern. Im Scheidetrichter fand die Verseifung der kleinen Mengen mitgeführten Chlorophylls statt. Da ein Schüttelapparat zunächst nicht zur Verfügung stand, wurden die Extrakte aus gelben und grünen Blättern nach Zugabe von zuerst 10 ccm und dann noch zweimal je 5 ccm konzentrierter, methylalkoholischer Kalilauge eine halbe Stunde mit der Hand gleichzeitig kräftig geschüttelt. Vor Zugabe frischer Kalilauge floß das grünbraun gefärbte Verseifungsprodukt ab. Der Rest der Kalilauge wurde mit destilliertem Wasser sorgfältig ausgewaschen, indem einmal 50 und zweimal 25 ccm Wasser langsam zugegeben wurden unter leichtem Umschwenken des Scheidetrichterinhalt. Die restlose Durchführung des Verseifungsprozesses zeigte sich durch den auftretenden reingelben Farbton des Petroläthers und das Fehlen jeglicher Fluoreszenz an. Um beim Auswaschen das lästige Auftreten von Emulsionen zu vermeiden, läßt man Wasser immer allmählich an der Wand des Scheidetrichters entlang fließen und schwenkt langsam um, ohne zu schütteln.

Das dritte Waschwasser blieb meist farblos, im andern Falle wurde das Auswaschen fortgesetzt. Alle Spuren der Tswettschen durch Kalilauge gelb gefärbten Substanzen waren somit sicher entfernt. Um ihnen die letzten Wasserreste zu entziehen, flossen die Extrakte durch einen mit einem trockenen Filter belegten und einigen Gramm Natriumsulfat beschickten Trichter hindurch langsam in die Meßkölbchen. Das Natriumsulfat wurde von anheften-

dem Carotin durch Nachspülen mit frischem Petroläther gereinigt und die 50 ccm Kolben bis zur Marke aufgefüllt.

Der Farbstoffgehalt der fertigen Extrakte wurde auf colorimetrischem Wege ermittelt. Diese Methode, die zuerst von Arnaud¹⁾ zur quantitativen Bestimmung der Carotinmengen verschiedenartiger Blätter benutzt wurde, verdankt ihre hohe Brauchbarkeit dem außerordentlich starken Färbevermögen der Chloroplastenpigmente. Arnaud gibt für das von ihm benutzte Colorimeter von Duboscq einen Genauigkeitsgrad von $\frac{1}{1000000}$ gr Carotin an. Bei Untersuchungen, bei denen es wie in vorliegender Arbeit nicht auf die quantitative Bestimmung eines Stoffes im Sinne einer chemischen Analyse, sondern nur auf relative Vergleichswerte ankommt, vereinfacht die Verwendung des Colorimeters die Arbeit insofern erheblich, als sie eine Reindarstellung der zu messenden Substanz erübrigt und nur ihre vollständige Trennung von allen gefärbten Beimischungen voraussetzt. Auf das Carotin und Xanthophyll angewandt, bedeutet das: Unberücksichtigtlassen der verhältnismäßig großen Mengen von farblosen Fetten, Ölen, Schleimen etc., die bei der Extraktion vom Extraktionsmittel mit fortgeführt werden und deren letzte Spuren nur äußerst schwierig zu entfernen sind. Die Trennung von gefärbten Begleitstoffen dagegen muß sehr sorgfältig und gründlich sein. Schon minimale Verschiedenheit in der Farbnuance der zu vergleichenden Flüssigkeiten erschwert die genaue Einstellung sehr, resp. macht sie vollkommen illusorisch. Das zeigte sich namentlich bei einigen Xanthophylllösungen in lästiger Weise. Lösungen, die dem bloßen Auge vollkommen reingelb erschienen, ließen erst bei der colorimetrischen Messung eine wohl auf unvollkommene Verseifung der Chlorophylle zurückzuführende Grünstichigkeit erkennen und waren daher nicht meßbar. In der Mehrzahl dieser Fälle — jedoch nicht immer — konnte durch Wiederholung der Verseifung mit methylalkoholischer Kalilauge ein rein gelber Farbton erreicht werden.

Eine noch nicht ganz gelöste Schwierigkeit bei der Benutzung des Colorimeters zur quantitativen Vergleichung der Carotinoide bietet die Herstellung einer Vergleichslösung. Ganz einwandfrei wäre natürlich die Verwendung einer Carotin- bzw. Xanthophylllösung von bestimmtem Gehalt, ganz einwandfrei — und darin liegt die praktische Schwierigkeit — wenn sie täglich frisch hergestellt würde. Beide Lösungen sind nämlich höchst unbeständig und werden durch das Licht sowohl als den Sauerstoff der Luft geschwächt, das Carotin langsamer, das Xanthophyll schneller — nach 2 Tagen um 5%, nach 3 Wochen um 60% (Willstaetter²⁾). Die Reindarstellung dieser Substanzen, für den Chemiker schon mit erheblichem Zeitaufwand verknüpft, bietet dem Nichtchemiker so große Schwierigkeiten, daß von ihrer Benutzung abgesehen und statt dessen die von Willstaetter vorgeschlagene 2^{0/00} Kalium-

¹⁾ Arnaud, A., Compt. rend. T. 109. 1889

²⁾ Willstätter, R. u. Stoll, A., Unters. ü. Chlorophyll. 1913. S. 105.

bichromatlösung für Carotin und Xanthophyll benutzt wurde. Da das Colorimeter sehr geringe Unterschiede in der Stärke der Lösungen zu erkennen gestattet, ist der Farbintensitätsbereich einer Normallösung entsprechend gering, und nur Lösungen, die durch ein mäßiges Mehr oder Weniger der Farbstärke von ihr abweichen, können genau gemessen werden. Es ist daher erforderlich, die Carotin- und Xanthophylllösungen in einer Konzentration herzustellen, die für den Durchschnitt der untersuchten Blätter der 4‰ Kaliumbichromatlösung nahezu gleichwertig ist. Dazu bedurfte der Carotinextrakt einer Verdünnung auf 50 ccm, der des Xanthophylls auf 100 ccm. Beide Lösungen standen dadurch in von vornherein festgelegten und bei allen Versuchen — mit einigen noch zu besprechenden Ausnahmen — gleich großen Mengen zur Verfügung. Das bedingte die Art der Messung: Einstellung der Carotin- resp. Xanthophylllösung in mittlerer Schichthöhe von 50 mm und Messung des Farbstoffgehaltes dieser Flüssigkeitssäule durch eine gleich farbstarke Kaliumbichromatschicht. Der Farbstoffgehalt der Blattpigmentlösungen wird daher in den Tabellen durch entsprechende Kaliumbichromatwerte ausgedrückt.

Beim Xanthophyll — II. Teil der Arbeit — ist dieser Wert in Form zweier Faktoren wiedergegeben, von denen der erste die Schichthöhe der Kaliumbichromatlösung bedeutet, die 50 mm Schichthöhe der Xanthophylllösung entspricht, während der zweite angibt, wieviel mal 50 ccm der gemessenen Lösung vorhanden waren. Die beiden Faktoren durch ihr Produkt zu ersetzen, ist deshalb nicht angängig, weil die Farbintensität nicht im gleichen Verhältnis wie die Schichtdicke steigt und fällt, sondern das Verhältnis „sowohl bei gleicher Schichtdicke in verschiedenen Lösungsmitteln wie auch bei verschiedener Schichtdicke im gleichen Lösungsmittel variiert. (Willstätter.¹⁾)

Ich fand, daß bei

Verdünnung einer Xanthophylllösung auf 100 ccm	
50 mm Schichthöhe d. Xanth.-Lsg.	82 mm $K_2Cr_2O_7$ -Lsg.
Verdünnung einer Xanthophylllösung auf 200 ccm	
50 mm Schichthöhe d. Xanth.-Lsg.	28 mm $K_2Cr_2O_7$ -Lsg.

entsprechen.

Wenn es beispielsweise in der Tabelle heißt: Xanth. Gehalt der grünen Blätter von *Aesculus Hipp.* zu $K_2Cr_2O_7$ Lösung = 50:44 · 2, so soll das sagen, daß der Farbwert einer 50 mm Schicht Xanthophylllösung dem von 44 mm der $K_2Cr_2O_7$ Lösung entspricht und daß aus den 5 gr Blattmehl 2 · 50 also 100 ccm der gemessenen Xanthophylllösung extrahiert wurden.

Willstätter²⁾ hat den Farbwert einer Carotin- und Xanthophylllösung von bestimmtem Gehalt — $5 \cdot 10^5$ Mol in einem Liter

d. i. 0,0134 g Carotin in $\frac{1}{2}$ Liter Petroläther
0,0142 g Xanthophyll in $\frac{1}{2}$ Liter Äther

¹⁾ Willstätter, R., u. Stoll, A., Unters. ü. Chlorophyll. 1913. S. 105

²⁾ daselbst. S. 107.

mit einer 2 ‰ $K_2Cr_2O_7$ -Lösung verglichen und folgende Werte gefunden:

100 mm Carotin-Lsg.	entsprechen	101 mm $K_2Cr_2O_7$ -Lsg.
50 " " " "		41 " "
25 " " " "		19 " "
100 " Xanthophyll-Lsg.		72 " "
50 " " " "		27 " "
25 " " " "		14 " "

Die Xanthophylllösung ist, wie man aus dieser Tabelle ersieht, in jeder Schichtdicke deutlich farbschwächer als Carotin, in mittlerer — 50 mm — am relativ schwächsten.

Das verwendete Colorimeter war von der Firma Fuess, Hamburg, geliefert. Es wurde vor der Benutzung auf seine Genauigkeit geprüft durch wiederholtes Umstellen der Meßzylinder und erneutes Ablesen. Da sich dabei eine wenn auch geringe Ungenauigkeit ergab, erfolgte die Benutzung in allen Fällen gleichmäßig, d. h. es wurde die $K_2Cr_2O_7$ -Lösung stets an der rechten Seite des Apparates, die Carotin- oder Xanthophylllösung stets an der linken abgelesen. Der geringe Fehler sprach dadurch bei allen Ablesungen im gleichen Sinne mit. Das Colorimeter gestattete eine Ablesung bis auf Teile eines Millimeters genau. Als Lichtquelle diente direktes Tageslicht an einem nach Nord gelegenen Fenster.

IV. Die Einzelversuche.

1. Versuche des Herbstes 1914.

Bestimmung des Carotingehaltes grüner und herbstlich gelber Blätter nach dem Petrolätherverfahren.

I. Versuch: *Aesculus Hippocastanum*.

Alter und Standort: Etwa 80 jähriger, kräftig entwickelter Baum, in lockerem Verband mit anderen gleichhohen Bäumen stehend.

Entnahme der Blätter: Von den untersten Zweigen der S. SW. und SO. Seite, die nur bei hohem Sonnenstand direktes Licht genießen.

Zeit des Einsammelns:

der grünen Bl.:

Anfang Oktober 14, 12 - 1 h p. m.

der gelben Bl.:

Ende Oktober 14, 12 - 1 h p. m.

Beschaffenheit:

der grünen Bl.:

voll entwickelte, kräftige, dunkelgrüne Lichtblätter, die sich fast ohne Farbänderung trocknen lassen.

der gelben Bl.:

ebenfalls ausgewachsene Lichtblätter, die in frischem Zustand intensiv goldgelbe Farbe zeigen, beim Trocknen aber z. T. stark ausbleichen oder sich teilweise bräunen. Zur Analyse werden nur wenig verfärbte Blätter verwendet.

Colorimetrische Messung:

Höhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters:			
Versuch	grün : $K_2Cr_2O_7$	gelb : $K_2Cr_2O_7$	grün : gelb
I	50 : 28,5	50 : 53	28,5 : 53
II	50 : 28,5	50 : 50	28,5 : 53
III	50 : 16,5	50 : 36	16,5 : 36

Die Zahlen geben die Schichthöhe — gemessen in Millimetern — der carotinhaltigen Petrolaetherlösung grüner und gelber Blätter (grün, gelb) und einer gleichfarbstarken Kaliumbichromatlösung ($K_2Cr_2O_7$) von 2⁰/₁₀₀ an. Für die letzte Tabelle (grün : gelb) sind die Petrolaetherextrakte grüner und gelber Blätter miteinander colorimetrisch verglichen worden.

Bei Versuch I wurde das Blattmehl mit 50 ccm Petrolaether extrahiert, bei II und III mit nur 40 ccm. Die Lösungen des Versuches II blieben auch nach dem Verseifen und Auswaschen trübe und grünstichig. Eine einigermaßen genaue colorimetrische Messung war infolgedessen nicht möglich.

Aus Versuch I und III geht übereinstimmend eine Zunahme des Carotins im vergilbten Blatt auf fast die doppelte Menge des im grünen vorhandenen hervor.

II. Versuch: *Acer platanoides*.

Alter und Standort: 5—10 jährige, etwa mannshohe Sämlinge. nach N. freiliegend, von allen anderen Seiten von der Stammpflanze beschattet.

Entnahme der Blätter: Aus den Spitzen und mittleren Partien der Pflanzen.

Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.:

gegen Ende Oktober, 4—6 h. p. m.

der gelben Bl.:

Anfang November, 4—6 h. p. m.

Beschaffenheit

der grünen Bl.:

ausgewachsene, gleichmäßig rein grüne Blätter, die sich rasch und ohne jede Farbänderung trocknen lassen.

der gelben Bl.:

ausgewachsene, gleichmäßig leuchtend gelbe Blätter. Beim Trocknen nirgendwo Ausbleichen oder Bräunung.

Colorimetrische Messung:

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters			
Versuch	grün : $K_2Cr_2O_7$	gelb : $K_2Cr_2O_7$	grün : gelb
I	50 : 38	50 : 73	38 : 73
II	—	—	38 : 73

Nach dem Vergleich der Extrakte grüner und gelber Blätter des Versuches II mit einander wurde versehentlich ein Teil der Lösung verschüttet, so daß die Messungen zwischen Carotin- und Bichromatlösung nicht ausgeführt werden konnten.

Während der Gelbfärbung hat das Carotin eine Vermehrung auf fast die doppelte Menge erfahren.

III. Versuch: *Fagus silvatica*.

Alter und Standort: Kräftiger, gleichmäßig entwickelter Baum, ca. 50 Jahre alt. Im Verband mit anderen etwa gleichhohen Bäumen stehend.

Entnahme der Blätter: Von den peripheren Teilen tiefhängender Zweige der S., O.- und W.-Seite.

Zeit des Einsammelns:

der grünen Bl.:

der gelben Bl.:

Anfang November, 9—10 h a. m.

gegen Mitte November, 9—11 h a. m.

Beschaffenheit

der grünen Bl.:

der gelben Bl.:

ausgewachsene, rein grüne Blätter

ausgewachsene, ungleichmäßig grün-gelb-braun fleckige Blätter.

Colorimetrische Messung:

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters			
Versuch	grün : $K_2Cr_2O_7$	gelb : $K_2Cr_2O_7$	grün : gelb
I	50 : 16,5	50 : 30,5	16,5 : 30
II	50 : 16,5	50 : 30	16,5 : 30

Die Carotinmenge der vergilbten Blätter ist annähernd doppelt so groß, wie die der grünen.

Die Herbstfärbung tritt bei *Fagus* erst sehr spät in der Jahreszeit auf, wenn die Mehrzahl der übrigen Pflanzen ihr Laub schon abgeworfen hat. Die Dauer der nekrobiotischen Phase für Teile des einzelnen Blattes ist außerordentlich kurz, ihr Auftreten unregelmäßig über das Blatt verteilt. Die Vergilbung geht weder, wie Stahl¹⁾ das für die Mehrzahl der dikotylen Pflanzen angibt, von den Parenchyminseln zwischen den Gefäßbündelendigungen aus und schreitet von dort über die feinsten Blattnerven zu immer größeren fort, noch schließt sie sich dem Typus vieler monokotyle Blätter an — Vorrücken in umgekehrten Reihenfolge von den Blattnerven zu den Interkostalfeldern, — sondern sie tritt in scheinbar regellos über die Blattfläche verteilten Partien auf, dauert jeweils nur kurze Zeit und macht dann der postmortalen Phase Platz. An einem Blatt finden sich infolgedessen grüne, gelbe und braune Flecken neben einander. Rein gelbe Blätter vorausgesetzt, müssen wir eine noch schärfere Betonung der Differenz zwischen grünem und vergilbtem Blatt erwarten, im vorliegenden Fall also noch stärkere Carotinzunahme im letzteren.

4. Versuch: *Platanus orientalis*.

Alter und Standort: 80—100jähriger, gleichmäßig entwickelter, mächtiger Baum, an der S., SW. und W.-Seite, woher das Blattmaterial genommen wurde, voll belichtet.

Entnahme der Blätter: Von den untersten, tief herabhängenden Zweigen.

Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.:

der gelben Bl.:

Mitte Oktober, 10—11 h a. m.

Ende Oktober, 10—11 h a. m.

¹⁾ Stahl, E., Zur Biologie des Chlorophylls. S. 134 ff.

Beschaffenheit

der grünen Bl.:
ausgewachsene, derbe, lichtgrüne,
vereinzelt schon etwas gelbstichige
Blätter.

der gelben Bl.:
ausgewachsene, gelb-grün-braun
gefleckte Blätter.

Colorimetrische Messung:

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters			
Versuch	grün : $K_2Cr_2O_7$	gelb : $C_2Cr_2O_7$	grün : gelb
I	50 : 9	50 : 15	9 : 15
II	50 : 7,5	50 : 12,5	7,5 : 12,5

Auffallend ist die geringe Carotinmenge beider Blattsorten, im Vergleich mit der der bisher untersuchten Pflanzen. Die Carotinvermehrung im vergilbten Blatt ist unverkennbar, wenn auch relativ nicht so groß, wie sie bisher beobachtet wurde.

Umfärbung und Absterben des Laubes verläuft analog den bei *Fagus* angegebenen Erscheinungen. Die Verfärbung setzt aber ungefähr einen Monat früher ein als dort und die einzelnen Blattteile, ebenso selbständig der herbstlichen Verfärbung gegenüber, durchlaufen dessen verschiedene Stadien langsamer.

5. Versuch: *Parrotia persica*.

Alt er und Standort: Über 2 m hoher, strauchartiger, ca. 25 jähriger Baum mit einseitig entwickelter Krone. Nach O., S. und W. direktem Sonnenlicht ausgesetzt, nach N. durch benachbarte Pflanzen im Wachstum gehemmt.
Entnahme der Blätter: Bei Beginn dieser Arbeit hatte die Verfärbung namentlich aller Lichtblätter schon eingesetzt. Gelbe und grüne Blätter wurden daher kurz nacheinander, die letzteren von tiefliegenden Adventivsprossen des Stammes, erstere von den mehr peripheren Teilen der Zweige gepflückt. Alle Blätter stammen von der SO., S. und SW.-Seite der Pflanze.

Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.:

In der zweiten Hälfte des Oktober.

der gelben Bl.:

Einige Tage nach den grünen.

Beschaffenheit

der grünen Bl.:

Ausgewachsene, rein grüne, mäßig derbe bis zarte Schattenblätter, die sich ohne Farbänderung trocknen lassen.

der gelben Bl.:

Ausgewachsene, mäßig derbe bis derbe Blätter, vornehmlich aus den mittleren Teilen der Krone. Die derberen Sonnenblätter sind anthocyanhaltig, die zarteren mehr rein gelb gefärbt. Sie behalten ihre Farbe während des Trocknens bei.

Colorimetrische Messung:

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters			
Versuch	grün : $K_2Cr_2O_7$	gelb : $K_2Cr_2O_7$	grün : gelb
I	50 : 18	50 : 30,5	18 : 30
II	50 : 18	50 : 30	18 : 30

Das zahlenmäßige Übergewicht des Carotins im vergilbten Blatt ist in diesem Versuch nicht ohne weiteres gleichbedeutend mit Carotinzunahme während der herbstlichen Vorgänge. Mit größerer Wahrscheinlichkeit sogar — nach zahlreichen im theoretischen Teil dieser Arbeit besprochenen Beobachtungen — müssen wir den stärkeren Lichtgenuß der gelben Blätter als Ursache für ihren Mehrgehalt an Carotin heranziehen. In der Literatur habe ich keine Angabe über den Carotingehalt der Licht- und Schattenblätter von *Parrotia persica* finden können, und leider mangelte mir das nötige Material zu einem orientierenden Versuch Herbst 1914 sowohl wie Herbst 1915, wo vorzeitiger Frost das Ausreifen des Vergilbungsprozesses hinderte. Bis zur Ausführung dieses Versuches und Anbringung der aus ihm sich ergebenden Korrektur, bleiben die gefundenen Zahlenwerte für die hier behandelte Frage bedeutungslos.

6. Versuch: *Vitis coignetiae*.

Alter und Standort: Gut entwickelte, ca. 20jährige, nach allen Seiten freistehende, vollbelichtete Pflanze.

Entnahme der Blätter: Möglichst gleichmäßig von allen Teilen der Pflanze.

Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.:

gegen Mitte Oktober, 4—6 h p. m.

der gelben Bl.:

Ende Oktober, 4—6 h p. m.

Beschaffenheit

der grünen Bl.:

sehr derbe Blätter von verschiedenem Alter, mittel- bis hellgrün gefärbt, auf der Unterseite dicht behaart. Das Trocknen nimmt 1—2 Tage länger in Anspruch als gewöhnlich. Die Blätter bräunen sich dabei partienweise.

der gelben Bl.:

ebenfalls Blätter verschiedenen Alters und verschiedener Größe. Reichlicher Anthocyangehalt verdeckt in einigen Blättern die gelben Pigmente fast vollkommen. Trocknungserscheinungen wie bei den grünen Blättern.

Vor dem Zermahlen wurden die Blätter zerschnitten und die gebräunten Teile entfernt. Die starke Behaarung erschwerte die Zerkleinerung und das Ausschütteln, da sich die Haare als kleine, locker zusammengeballte Massen auf die Sieböffnungen legten.

Colorimetrische Messung:

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters.			
Versuch	grün : $K_2Cr_2O_7$	gelb : $K_2Cr_2O_7$	grün : gelb
I	50 : 15	50 : 31	15 : 31
II	50 : 16	50 : 34	16 : 34

Bei Versuch I zeigte der gelbe Auszug einen schwach grünlichen Ton, der die Messung ungenau machte. Bei in späteren Versuchen sich einstellender, ähnlicher Schwierigkeit wurde die Verseifung wiederholt. Dabei ergab sich stets eine Farbverstärkung, so daß man auch für diesen Fall einen dem Versuch II mehr angenäherten Wert der Carotinslösung I aus gelben Blättern annehmen darf, als die Tabelle ihn angibt.

Der Carotingehalt der gelben Blätter ist reichlich doppelt so groß wie der der grünen.

7. Versuch: *Polygonum sacchalineuse*.

Alter und Standort: Kräftig entwickelte, 20—25 jährige Pflanze nach allen Seiten freistehend.

Entnahme der Blätter: Von den peripheren Teilen der O.- und N.-Seite.

Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.:

In der zweiten Oktoberhälfte.

der gelben Bl.:

Gegen Ende Oktober.

Beschaffenheit

der grünen Bl.

voll ausgewachsene, gleichmäßig tief dunkelgrüne Sonnenblätter. Die Farbe wird beim Trocknen etwas stumpf graugrün.

der gelben Bl.:

voll ausgewachsene Sonnenblätter von gleichmäßigem dunklen Gelb. Schon während des Vergilbungsprozesses beginnen kleine randliche Partien des Blattes abzusterben, was sich durch ein Ausbleichen und Transparentwerden kenntlich macht. In geringer Menge wurden auch solche, teilweise abgestorbenen Blätter verarbeitet. Beim Trocknen keine Farbänderung.

Colorimetrische Messung.

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern der Colorimeters.			
Versuch	grün : $K_2Cr_2O_7$	gelb : $K_2Cr_2O_7$	grün : gelb
I	50 : 23	50 : 34	23 : 34
II	50 : 23	50 : 34	23 : 34
III	50 : 23	50 : 30	23 ; 30

Der etwas geringere Carotingehalt der gelben Blätter bei Versuch III, zu dem das Mehl neu hergestellt wurde, ist vielleicht auf geringere Qualität des noch vorhandenen Blattmaterials zurückzuführen.

Die Carotinmengen des vergilbten Blattes übertreffen die des grünen sehr merkbar, aber nicht so stark wie bei den bisher untersuchten Pflanzen. Diese Tatsache in Verbindung mit der dunkelgelben Herbstfarbe zwingt zu dem Schluß, daß sich bei *Polygonum sacchalineuse* außer dem Carotin andere gelbe Pigmente an der herbstlichen Vergilbung stark beteiligen.

8. Versuch: *Salix babylonica*.

Alter und Standort: Sehr voll und gleichmäßig entwickelter Baum, nach N., W. und O. freistehend.

Entnahme der Blätter: Von den tiefhängenden Zweigen der NO.-Seite.

Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.:

In der zweiten Oktoberhälfte,

4—6 h p. m.

der gelben Bl.:

Anfang November, 4—6 h p. m.

Beschaffenheit

der grünen Bl.:
ausgewachsene, ziemlich hellgrüne
Blätter.

der gelben Bl.:
die Vergilbung tritt verhältnis-
mäßig spät im Herbst auf und
kommt vor dem Laubfall nicht
zur Vollendung. Die Menge an
rein gelben Blättern ist so gering,
daß grünfleckige mit verarbeitet
werden müssen.

Colorimetrische Messung:

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters			
Versuch	grün : $K_2Cr_2O_7$	gelb : $K_2Cr_2O_7$	grün : gelb
I	50 : 18,3	50 : 9,8	18,3 : 9,8
II	50 : 17,4	50 : 8,7	17,5 : 8,8

In ausgesprochenem Gegensatz zu allen bisher untersuchten Pflanzen zeigt *Salix babylonica* eine beträchtliche Carotinverminderung im vergilbten Blatt auf etwa die Hälfte der Carotinmenge des grünen. Von ausschließlich reingelben Blättern würde ein noch schärferes Hervortreten dieser Abnahme zu erwarten sein.

9. Versuch: *Broussonetia papyrifera*.

Alter und Standort: Etwa 20 jähriger, mittelgroßer, etwas kümmerlich entwickelter Baum, vor hohen Bäumen angepflanzt, die ihn am vollen Lichtgenuß hindern, nur nach O. ziemlich frei.

Eutnahme der Bl.: Gleichmäßig von der ganzen Pflanze.

Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.:
In der zweiten Oktoberhälfte,
4–5 h p. m.

der gelben Bl.:
Anfang November, 4–5 h p. m.

Beschaffenheit

der grünen Bl.:
überwiegend gut ausgewachsene,
nicht sehr tiefgrüne, zarte Blätter,
die sich gut trocknen lassen.

der gelben Bl.:
lebhaft tiefgelbe Blätter, die im
übrigen wie die grünen beschaffen
sind. Ein Teil der Blätter stammt
nicht direkt von den Zweigen,
sondern ist vom Boden aufge-
lesen. Auch diese Blätter
sind vollständig frisch und tur-
geszent.

Der Vergilbungsprozeß stellt sich spät in der Jahreszeit ein. Da *Broussonetia papyrifera* empfindlich gegen Kälte ist, gelangt selbst in dem günstigen, bis in den November frostfreien Herbst 1915 der Vergilbungsverlauf nicht zum Abschluß. Vielleicht ein Viertel der Blätter wird noch grün abgeworfen.

Colorimetrische Messung.

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters.			
Versuch	grün : $K_2Cr_2O_7$	gelb : $K_2Cr_2O_7$	grün : gelb
I	50 : 47,5	50 : 20	47 : 20
II	50 : 45	50 : 16	45 : 16
III	50 : 45	50 : 20	44 : 20
IV	50 : 48	50 : 20	48 : 20

Trotz intensiver Gelbfärbung weisen die Herbstblätter kaum die Hälfte des Carotingehaltes der grünen auf, ein weiterer Beleg dafür, daß Intensität der Gelbfärbung und Carotingehalt einander nicht entsprechen.

Versuch II hat vom 11. XII. 1914, da er angesetzt, bis zum 14. XII., da er weiter verarbeitet und colorimetrisch gemessen wurde, gestanden, zwar im Dunkeln, aber in Berührung mit der überstehenden Luft im Extraktionsgefäß. Doch glaube ich nicht, daß der geringere Carotingehalt sich aus dieser Tatsache erklären läßt. Ich kann allerdings auch nichts anderes als Ursache dafür angeben.

10. Versuch: *Machura aurantiaca*.

Alter und Standort: Mittelgroßer, einseitig entwickelter Baum, in direkter Nachbarschaft von *Broussonetia papyrifera* und unter denselben äußeren Bedingungen gewachsen, mit Ausnahme etwas größeren Lichtgenusses.

Entnahme der Blätter: Von den unteren und mittleren Teilen der O.-Seite.
Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.:

Gegen Ende Oktober, 12—1 h p. m.

der gelben Bl.:

Anfang Oktober, 12—1 h p. m.

Beschaffenheit

der grünen Bl.:

ausgewachsene, ziemlich derbe
Blätter von mittlerem Grün.

der gelben Bl.:

Blätter mit sehr intensiver Gelbfärbung, die teilweise in eigenartiger Form auftritt. Es zeigen sich zunächst nadelkopfgroße, leuchtend gelbrote Flecken in den randlichen Blatteilen, dann färbt sich allmählich die ganze Lamina gleichmäßig um.

Der Vergilbungsprozeß beginnt spät, breitet sich sehr langsam von den derben peripheren Blättern gegen die mehr nach innen gelegenen aus. Trotz geringerer Frostempfindlichkeit als *Broussonetia papyrifera* wird ein beträchtlicher Teil des Laubes des sehr zögernden Schwindens des Blattgrüns wegen vor beendeter Gelbfärbung abgeworfen.

Colorimetrische Messung:

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters			
Versuch	grün : $K_2Cr_2O_7$	gelb : $K_2Cr_2O_7$	grün : gelb
I	50 : 27	50 : 12	27 : 12
II	50 : 28	50 : 12	28 : 12

Für *Maclura* gilt in verstärktem Maße, was für *Broussonetia* gesagt wurde, denn hier ist die Gelbfärbung der Blätter noch tiefer, ihr Carotingehalt sowohl absolut genommen, wie auch verglichen mit dem der grünen Blätter noch geringer als bei der zuerst untersuchten Moracee. Es wäre von Interesse gewesen, festzustellen, ob Carotinvermehrung oder Verminderung gelegentlich als Familieneigentümlichkeit aufträte. Eine in diesem Sinne beabsichtigte Untersuchung der Blätter von *Morus alba* und *Morus nigra* konnte nicht zur Ausführung kommen, da beide Pflanzen nach einer frühzeitig auftretenden Frostnacht im Oktober 1915 ihr Laub vor der Vergilbung vollständig abwarfen.

11. Versuch: *Taxodium distichum*.

Alter und Standort: Hoher, kräftiger, alter Baum, am Teich des botanischen Gartens, nach N. und O. freistehend.

Entnahme der Blätter: Von den unteren Zweigen der teilweise beschatteten S.-Seite.

Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.:

Mitte Oktober, 10 h a. m.

der gelben Bl.:

Ende Oktober, 10–12 h a. m.

Beschaffenheit

der grünen Bl.:

rein grüne Nadeln.

der gelben Bl.:

abgestorbene, braune Nadeln, bis fast zu $\frac{1}{4}$ untermischt mit ganz oder teilweise grünen.

Die herbstlichen Vorgänge bei *Taxodium distichum* sind von der Vergilbung angiospermer Pflanzen wesentlich verschieden. Am auffallendsten ist das gänzliche Ausbleiben gelber Farbtöne. Jede Nadel stirbt als vollkommen grünes Gebilde an der Spitze beginnend langsam nach der Basis zu ab. Sie färbt sich dabei dunkel rötlichbraun und vertrocknet. Um einer Zerstörung der im Moment des Absterbens vorhandenen Pigmente durch die Atmosphären vorzubeugen, sind die Nadeln gleich nach der Bräunung entnommen, wobei es sich nicht vermeiden läßt, gleichzeitig mit vollständig abgestorbenen ganz oder halbgrüne zu pflücken.

Colorimetrische Messung:

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters			
Versuch	grün : $K_2Cr_2O_7$	gelb : $K_2Cr_2O_7$	gelb : grün
I	50 : 26,5	50 : 26,5	26,5 : 26,5
II	50 : 26,5	50 : 26,5	26,5 : 26,5

Beim Absterben der Nadeln verändert sich der Carotingehalt nicht.

Zusammenstellung der Resultate aus den Untersuchungen grüner und gelber Blätter des Herbstes 1914.

Carotingehalt der Petrolätherextrakte			
von	grüner Blätter	gelber Blätter	abgerundetes Verhältnis von grün : gelb
<i>Aesculus Hippocast.</i>	28,5	53	1 : 2
<i>Acer platanoides</i>	38	73	1 : 2
<i>Fagus silvatica</i>	16,5	30,5	1 : 2
<i>Platanus orientalis</i>	9	15	3 : 5
<i>Parrotia persica</i>	18	30	3 : 5
<i>Vitis coignetiae</i>	16	34	1 : 2
<i>Polggonum sacchal.</i>	23	34	2 : 3
<i>Salix babylonica</i>	18	9,5	2 : 1
<i>Broussonetia papyr.</i>	48	20	5 : 2
<i>Maclura aurant.</i>	28	12	7 : 3
<i>Taxodium dist.</i>	26,5	26,5	1 : 1

Um Gesetzmäßigkeiten in den Beziehungen von Carotin und Herbstfärbung abzuleiten, ist die Zahl der untersuchten Pflanzen natürlich viel zu klein. Der Vergleich der Einzelergebnisse legt es überdies nahe, das Bestehen solcher Gesetzmäßigkeiten in Abrede zu stellen und Neubildung oder Zerstörung des Carotins während der nekrobiotischen Phase des Blattlebens als Vorgänge aufzufassen, die selbständig neben dem Schwinden des grünen Chlorophyllanteils einhergehen. Auch das Zusammentreffen von Carotinverminderung und später Vergilbung braucht nicht im Sinne eines kausalen Zusammenhanges beider Erscheinungen gedeutet zu werden. Näher liegend scheint es mir, namentlich in Verbindung mit den Resultaten der zweiten Hälfte der Blattanalysen, eine Abhängigkeit von Carotinmenge und Witterungsverhältnissen, modifiziert durch die jeweilige Pflanzenspezies, anzunehmen.

Eine Tatsache aber können wir wohl als feststehend auch aus diesen wenigen Versuchen schon erkennen, die, daß Intensität der herbstlichen Gelbfärbung nicht durch den Carotingehalt, weder den des grünen, noch den vermehrten oder verminderten des gelben Blattes allein oder nur zum größeren Teil bestimmt wird. *Maclura aurantiaca* mit kräftiger, goldgelber Herbstfarbe enthält nur wenig mehr Carotin als *Salix babylonica* mit mattgelben Herbstblättern, und nur ein Sechstel der Carotinmenge von *Acer platanoides*, dessen gelbe Blätter in der Farbintensität *Maclura*-Blättern sehr ähnlich sind.

Diese Erkenntnis weist als Nächstliegendes auf eine Bestimmung des Xanthophyllgehaltes der vergilbten Blätter hin. Das

Xanthophyll tritt ja im grünen Chloroplasten stets gemeinsam mit dem Carotin auf. Es übertrifft letztgenanntes Pigment, von dem es in der Farbe kaum zu unterscheiden ist, der Menge nach in fast konstantem Verhältnis von 1 : 1,5—2.

Darum ist anzunehmen, daß sich aus Xanthophyll mehr oder weniger der Anteil an gelbem Farbstoff zusammensetzt, der nicht als Carotin zu identifizieren ist. Einheitlichkeit oder Nichteinheitlichkeit des Xanthophylls kommt bei dieser Untersuchung nicht in Betracht, wenigstens so lange die in Substanz noch nicht erhaltenen Körper Xanthophyll α , α' α'' und β als sehr nahe verwandt und in ihrem Vorkommen im Blatt und ihrem Verhalten gegenüber den bei der Untersuchung verwendeten Reagenzien als so gut wie identisch aufgefaßt werden dürfen. Dementsprechend wird im folgenden II. Teil der Untersuchungen, der vornehmlich über die Anteilnahme dieser vielleicht vorhandenen Gruppe isomerer und isomorpher Substanzen bei der Herbstfärbung orientieren soll, immer nur von „dem“ Xanthophyll gesprochen.

Die einfache chemische Beziehung dieses Xanthophylls zu dem Carotin — Xanthophyll als Oxyd des letzteren aufgefaßt — und beider stets gemeinsames Vorkommen lassen vermuten, daß auch ihre Genese und physiologische Funktion enge Berührungspunkte haben werden.

Einer experimentellen Stütze entbehrt diese Vermutung bisher allerdings. Es liegen nur einige Beobachtungen vor, die sich auf gegenseitige Beziehungen von Carotin und Xanthophyll richten. Sie deuten zum Teil auf die Möglichkeit des Übergangs von ersterem in letzteres hin. So die Untersuchungen von Tschirch und Ottenberg¹⁾ mit Hilfe des Quarzspektrographen und der Capillaranalyse, aus denen hervorgehen soll: „daß das Xanthocarin (Carotin) durch Behandlung mit Reagenzien in Xanthophyll übergeführt wird.“ Willstaetter und Stoll²⁾ haben neuerdings das Verhalten des Chlorophylls im Assimilationsvorgang geprüft. Bei Bestimmung des Verhältnisses seiner Komponenten vor und nach Perioden starker Assimilation unter natürlichen und unter künstlichen Bedingungen beobachteten sie häufig die Anreicherung von Xanthophyll auf Kosten von Carotin. Hieraus könnte man auf eine der von Tschirch und Ottenberg experimentell herbeigeführten analoge Umwandlung unter natürlichen Bedingungen vermuten. Willstätter und Mieg, die das Sauerstoffabsorptionsvermögen von Carotin und Xanthophyll prüften und dasselbe zahlenmäßig festlegten, kamen bei diesen Untersuchungen jedoch zum gegenteiligen Schluß. Sie geben an, daß bei ihren Versuchsbedingungen die Oxydation des Carotins wohl nicht über Xanthophyll hinweg geführt habe.

Beweisendes über die physiologischen Zusammenhänge beider Farbstoffe wissen wir jedenfalls nicht. Auch ihre fundamentalen

¹⁾ Tschirch u. Ottenberg, Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 22. 1904. S. 414.

²⁾ Willstaetter u. Stoll, Sitz.-Ber. d. Kgl. preuß. Akad. d. Wiss. 1915. S. 322.

Funktionen sind nicht aufgedeckt, weder die des Carotins noch die des neuerdings erst mehr beachteten Xanthophylls, obgleich speziell dem Carotin fast alle erdenklichen Aufgaben zugeschoben sind:

Beteiligung am Assimilationsvorgang, Beteiligung bei der Atmung, Wärmeapparat, Chlorophylllichtschutz, Speicherstoff, Zeretzungsprodukt, Transpirationsschutz, Schutz vor Schneckenfraß, Lockfarbe.

Jedoch, wenn auch der strikte Beweis für die Umwandlung des Carotins in Xanthophyll heute noch fehlt, die zugestandene Möglichkeit eines solchen Vorganges beeinträchtigt die Bedeutung ausschließlicher Carotinbestimmung im grünen und vergilbten Blatt sehr. Darum wurde versucht, im Blattmaterial des Herbstes 1915 den Gehalt an beiden Farbstoffen nebeneinander zu messen.

2. Versuche des Herbstes 1915.

Versuchsmaterial und Arbeitsmethoden.

Das Blattmaterial 1915 — das muß besonders hervorgehoben werden, — unterschied sich quantitativ ganz erheblich von dem des Vorjahres, eine Folge der großen Witterungsverschiedenheiten beider Jahre.

Der Herbst 1914 war im ganzen sonnig, warm und bis in den November hinein frostfrei. 1915 war die Witterung anfangs ebenso günstig, vielleicht noch etwas wärmer, dann trat plötzlich am 25. Oktober, ein starker Nachtfrost von 6° ein. Eine Anzahl der Pflanzen, von denen grüne Blätter gesammelt waren, warf das Laub grün ab, so *Machura aurantiaca*, *Broussonetia papyrifera*, *Salix babylonica*, *Morus nigra*, *Morus alba*, *Ducaisnea fragersi*, *Apium graveolens*. Bei anderen traten statt rein gelber Herbstfarben schmutzig gelbgrüne Farbtöne auf, — *Acer platanoides*, — oder die schon fast vergilbten Blätter wurden durch den Frost getötet, — *Polygonum sachalinense*, *Parrotia persica*.

Alle Pflanzen, die im Herbst 1914 eine Abnahme des Carotiningehaltes im vergilbten Blatt gezeigt hatten, schieden dadurch aus der Untersuchung aus. Als Ersatz für *Salix babylonica* benutzte ich *Salix caprea*, die teilweise noch grüne Blätter besaß, als die erstgenannte Salixart das Laub in größerer Menge schon abgeworfen hatte. Die Herbstfärbung von *Salix caprea* unterscheidet sich durch ihr tief dunkles Gelb wesentlich von dem matten Gelb der *Salix babylonica*.

Die Einwirkung der Witterung auf die herbstliche Verfärbung, die sich so sehr auffallend in dem Blattmaterial der beiden aufeinander folgenden Jahre verriet, ist von Hoffmann ¹⁾ und von Ziegler ²⁾ näher untersucht worden. Hoffmann legt das Ergebnis seiner Beobachtungen mit nicht sehr klaren Worten in folgendem Satz nieder: „Im Großen und Ganzen besteht eine befriedi-

¹⁾ Hoffmann, H., Über die Blätterverfärbung. (Centralbl. f. d. ges. Forstwes. 1878; zit. n. Just, 1878. S. 1155.)

²⁾ Ziegler, ebenda.

gende Kongruenz zwischen den Tagen der Laubverfärbung und der Insolationssumme. — Summe der täglichen Maxima über 0° an einem der Sonne allseits frei ausgesetzten Thermometer, vom 1. I. bis zur Laubverfärbung, (wenn $\frac{1}{2}$ der Blätter gelb ist.)“ — Ziegler untersuchte den Witterungseinfluß der letzten 30 Tage vor der Verfärbung auf die Blätter. Sein Resultat widerspricht dem allgemeinen Satze Hoffmanns insofern, als es zeigt, daß das, was Hoffmann für die Insolationssumme des ganzen Jahres und ihre Bedeutung für die herbstliche Verfärbung gefunden hat, für den der Verfärbung unmittelbar vorausgehenden Zeitraum keine Gültigkeit besitzt. Denn „die Insolationssumme der letzten 30 Tage vor der Verfärbung ist umgekehrt proportional mit dem Datum der Laubverfärbung.“ „Je trüber der Herbst, je geringer die Insolationssumme des letzten Monates — erläutert Ziegler seine nicht sehr glücklich in Form einer mathematischen Gleichung ausgesprochenen Resultate — desto länger bleiben die Blätter grün. Das beweisen sonnig stehende Exemplare, die sich schneller ausleben als Schattenpflanzen.“ Dieser Temperaturfaktor kommt aber erst in zweiter Linie in Betracht neben dem Hauptfaktor, der auf innerster Natur und Akkomodation der Pflanze an das Klima begründet ist. Je vollkommener diese Akkomodation, desto mehr ist das Zustandekommen und Ausreifen der Verfärbung gesichert. Das zeigte sich am deutlichsten bei den nicht einheimischen Moraceen einerseits, bei *Fagus silvatica* andererseits. Erstere entlaubten sich nach dem Frost vollständig, die Umfärbung hatte überhaupt noch nicht eingesetzt; auch bei *Fagus silvatica* war das beim Frosteintritt nicht der Fall, doch trat bei dieser in unserm Klima heimischen Pflanze nach dem Frost noch ganz normale Vergilbung ein.

Bestimmung des Carotin- und Xanthophyllgehaltes nach dem Acetonextraktionsverfahren.

Ein Verfahren, Carotin und Xanthophyll gleichzeitig und quantitativ zu bestimmen, ist zum ersten Mal von Willstaetter¹⁾ genau angegeben. Seine Bedeutung liegt in der raschen und vollständigen Extraktion des Blattmehls durch wasserhaltiges Aceton und der quantitativen Trennung von Carotin und Xanthophyll auf Grund ihres Verhaltens gegenüber Petroläther, der den sauerstofffreien und Methylalkohol, der den sauerstoffhaltigen Farbstoff restlos aufnimmt. Über seine Methode schreibt Willstaetter: „Bei unseren Bestimmungen sind die Fehler auf wenige Prozente der gefundenen Verhältniszahl der Chlorophyllkomponenten herabgemindert worden . . . wenn also größere Abweichungen zwischen mehreren Analysen vorkommen, so kann es jetzt als sicher gestellt gelten, daß sie nicht mehr durch das Verfahren der Bestimmung verursacht sind, sondern daß sie natürlichen Schwankungen entsprechen. Wir halten es bei Berücksichtigung der

¹⁾ Willstätter, R., u. Stoll, A., Unters. ü. Chlorophyll. 1913. S. 237.

Fehlerquellen unserer Methode auch für unwahrscheinlich, daß sie noch erhebliche Fehler mit sich bringt, die nach ein und derselben Richtung wirken und daher nicht in Differenzen bei Doppelversuchen zutage treten.“ Jene Sicherstellung der Untersuchungsergebnisse, die durch Gleichheit der Resultate bei zwei oder mehreren Parallelversuchen gewährleistet wird, liegt in allen in dieser Arbeit ausgeführten Untersuchungen vor. Nur bei *Ginkgo biloba* konnte bei mehr als zehnfacher Wiederholung der Versuche keine Übereinstimmung in den Resultaten erreicht werden. Vielleicht liegt der Grund dafür im Objekte selbst, vielleicht in der Handhabung der Willstaetter'schen Methoden, deren Ausführung dem in den chemischen Arbeitsweisen weniger Geübten zuweilen unerwartete Schwierigkeiten bietet — dieselben sind weiter unten des Näheren angegeben. Da *Ginkgo* als einziger derartiger Fall vorliegt, ist erstere Annahme einigermaßen gerechtfertigt.

Das Untersuchungsmaterial

lieferten im Allgemeinen die Pflanzen, denen im vorhergehenden Jahre Blätter entnommen worden waren. Die Vorarbeiten, Einsammeln, Trocknen, Aufbewahren, Zerkleinern wurden in der gleichen Weise ausgeführt. Die Ungleichmäßigkeit der zur Verfügung stehenden Herbstblätter erforderte es noch dringlicher, das Blattmehl für alle Versuche und Kontrollversuche einer Pflanze auf einmal herzustellen. Die Verwendung einer Excelsiormühle mit elektrischem Antriebe erleichterte dabei die sonst recht zeitraubende Arbeit des Zerkleinerns. Nach 6—10 maligem Durchgang durch die Mühle konnte das Mehl bis auf einen durch die Behaarung und die sklerenchymatischen Elemente des Blattes bestimmten Rest in den Sieben ausgeschüttelt werden.

Die Herstellung der Carotin- und Xanthophyllösungen.

Zu den Versuchen dienten jedesmal 5 g des lufttrocknen, groben Blattpulvers. Auf einem Nutschentrichter mit einer lichten Weite von 4,5 cm fand die Extraktion statt. Das Mehl wurde mit der Pumpe erst angesaugt und dann portionsweise mit 50 ccm 85 prozentigem und darauf mit ebensoviel 90 prozentigem Aceton übergossen. Vor dem Nachgießen mußte der Blattbrei aufgelockert und gewendet werden, um die zunächst noch stark gefärbten, dem Boden direkt aufliegenden Partien mit dem reinen Extraktionsmittel in Berührung zu bringen. Die Schnelligkeit des Durchsickerns wurde durch verschiedentliches Ansaugen des Mehles zwischen den einzelnen Phasen der Extraktion reguliert. Schwierigkeiten bereiteten jene Versuche, zu denen frische Blätter verwendet wurden. Die von Willstätter empfohlene Vorextraktion mit wenig prozentigem Aceton war infolge des Schleimgehaltes der Blätter meist ganz unmöglich. Das verdünnte Aceton ließ sich bei stärkstem, mehr als 12stündigem Saugen der Pumpe von dem fast gummiartig zäh werdenden Blattbrei nicht trennen. Erst

Zugabe unverdünnten Acetons ermöglichte nach und nach das Absaugen. Damit war dann aber der Zweck der Vorextraktion, Beseitigung farbloser Extraktstoffe ohne Fortführung irgend welcher Chloroplastenpigmente, hinfällig. Daher wurde meist von einer Vorextraktion abgesehen. Ohne diese betrug die Extraktionsdauer 1 bis 1 $\frac{1}{2}$ Stunde. Wenn frische Blätter verwendet wurden — ihre besondere Art der Zerkleinerung ist später angegeben — blieb das Gemisch von Blattsubstanz und Sand vollständig entfärbt, als grauweiße Masse zurück. Das extrahierte Mehl getrockneter Blätter, besonders das der gelben, behielt einen Teil nicht extrahierbarer, farbiger Stoffe. Genaue Angaben über die Farbe der extrahierten Mehle folgen im speziellen Teil, wo sie mit den entsprechenden Nummern des „Code des Couleurs“ von Klincksick und Valette angeführt sind.

Nach Beendigung der Extraktion wurde das Aceton recht fest von der Nutsche abgesaugt, dann an der Wand entlang vorsichtig in einen 100 ccm Äther haltenden, geräumigen Scheidetrichter eingegossen, ebenso vorsichtig 200 ccm Wasser zugesetzt und langsam umgeschwenkt — nicht geschüttelt. Carotin und Xanthophyll wanderten dabei in den Äther. Das abfließende gelbbraunrote, starkverdünnte Aceton wurde in einem größeren Gefäß aufgefangen, der Äther noch 4 mal mit je 100 ccm Wasser nachgewaschen und alle Waschwässer — das letzte war meist farblos — mit dem Aceton vereinigt. Der Farbgehalt dieses Gemisches ist unter der Bezeichnung „Farbe des Aceton-Wassers“ in den Versuchsprotokollen angegeben. Die Aceton-Wässer wurden auf eine Gesamtmenge von 600 ccm gebracht, ein Teil hiervon in eine parallelwandige Glascuvette gegossen und so in einer Schichtdicke von 2,9 cm seine Farbe im durchfallenden Licht mit den daneben gehaltenen Farbtäfelchen des Code des couleurs verglichen. Colorimeter und Lichtquelle, — eine 100-kerzige Wotanlampe mit vorgestelltem Schirm aus transparentem Papier — hatten feststehenden Abstand.

Diese recht rohe Art der Messung mußte benutzt werden, weil die stark variierende Farbtönung und gelegentliche Trübung des Aceton-Wassers eine Messung im Colorimeter unausführbar machte. In ein oder zwei Fällen wäre allerdings der Vergleich mit einer 5-prozentigen Eisenchloridlösung möglich gewesen, doch da nicht durchgängig anwendbar, kam diese Art der Farbbestimmung nicht in Betracht.

Vergleicht man die angegebene Farbe des extrahierten Mehles und des Waschwassers mit der der Mehle vor der Extraktion, so erhält man eine annähernde Vorstellung von der häufig geringen Bedeutung des Carotins und Xanthophylls für die herbstliche Blattpigmentierung.

Nachdem die ätherische Lösung der grünen und gelben Chlorophyllfarbstoffe in der besprochenen Weise vom Aceton gründlich befreit war, blieb sie kurze Zeit ruhig stehen, damit das an den Wänden haftende Wasser sich unten im Scheidetrichter sammeln und entfernt werden konnte. Dann floß der Äther, um ihm

die letzten Reste des Wassers zu entziehen, durch einen mit Natriumsulfat beschickten Trichter in die Schüttelflaschen. Er wurde mit 5 ccm konzentrierter, methylalkoholischer Kalilauge vermischt, einige Zeit mit der Hand, hierauf auf der Schüttelmaschine $\frac{1}{2}$ —1 Std. kräftig geschüttelt. Bei dieser Verseifung ging das Chlorophyll — darunter seien hier die beiden grünen Anteile verstanden — in wasserlösliche Chlorophyllinsalze über. Waren diese, die mit der methylalkoholischen Kalilauge eine dickflüssige, sich unter absetzende Substanz bildeten, vom Äther getrennt, und durch mehrmaliges Waschen ihre letzten Spuren entfernt, so blieb der Äther — vollständige Verseifung vorausgesetzt — rein gelb und klar zurück. Er zeigte keine Fluoreszenz mehr. Traf das nicht zu, so wurde die Verseifung wiederholt. Der abgelassenen, chlorophyllgrünen, methylalkoholischen Kalilauge entzogen 30 ccm Äther bei kräftigem Schütteln und allmählichem Wasserzusatz etwa mitgeführtes Xanthophyll, das der Hauptmenge des Äthers zugefügt wurde.

Willstaetter nimmt die Bildung eines „leicht dissoziierbaren Additionsproduktes“ an, wenn man „ätherische Xanthophylllösung mit konzentrierter methylalkoholischer Kalilauge versetzt.“ „Bei Wasserzusatz geht das Xanthophyll sofort in den Äther über, ohne irgend eine Veränderung erlitten zu haben.“ Bei manchen meiner Versuche konnte ich von dieser Bindung nichts bemerken, wenigstens ließ sich der holzgeistigen Kalilauge beim Ausäthern und Wasserzusatz kein Xanthophyll entziehen. Es erfolgte aber zuweilen ein Grünlichwerden des Äthers — nicht grünstichiges Gelbwerden infolge geringen Xanthophyllgehaltes — das nicht rückgängig zu machen war.

Die vereinigten Ätherlösungen wurden bis zum klaren Abfließen desselben und ausbleibender alkalischer Reaktion mit Wasser ausgewaschen und nach Zusammenfließen und Entfernen der Wasserreste im Vacuum bei $20-25^{\circ}$ auf wenige ccm eingedampft. Hierzu füllte ich die Ätherlösung in eine Flasche, in die von oben luftdicht eine fein ausgezogene, bis fast auf den Boden reichende Glaskapillare eingeführt wurde. Seitlich war diese Flasche luftdicht mit einer zweiten verbunden, — die als Kondensgefäß für die Ätherdämpfe diente — und vermittels dieser stand sie mit der Luftpumpe in Verbindung. Die stark eingeengte, nun tief rotgelbe Lösung wurde nach und nach mit 80 ccm Petroläther und 100 ccm 85prozentigem Holzgeist vollständig in einen Scheidetrichter übertragen. Es trennte sich hierbei der xanthophyllhaltige Methylalkohol vom carotinhaltigen Petroläther scharf ab. Diese einmalige Entmischung genügte aber nicht, um dem Petroläther alles Xanthophyll zu entziehen. Das wurde quantitativ erreicht durch Wiederholung der Entmischung mit 100 ccm 90prozentigem und 2 mal 50 ccm 92prozentigem Methylalkohol, in einigen Fällen war sogar ein 3. und 4. Auswaschen mit dem hochprozentigen Holzgeist notwendig. Farblosbleiben des letzteren zeigte die quantitative Trennung der beiden Farbstoffe an.

Das Carotin in Petrolätherlösung war nach 2 maligem Aus-

waschen mit Wasser, um den Holzgeist restlos zu entfernen, für die colorimetrische Messung fertig. Es lief zum Trocknen des Petroläthers durch einen Trichter mit etwas Natriumsulfat in das 50 ccm Meßkölbchen, das bis zur Marke aufgefüllt wurde.

Das Xanthophyll mußte für die colorimetrische Messung aus dem Methylalkohol wieder in Äther überführt werden. Diese Überführung erwies sich als praktisch schwierigster Teil des gesamten Extraktions- und Trennungsverfahrens und gelang mir häufig erst nach langwierigem Arbeiten. Einige bis zu diesem Schlußstadium durchgeführte Versuche mußten aufgegeben werden, weil die Trennung in eine gänzlich entfärbte wässerig-methylalkoholische und eine die Gesamtmenge des Xanthophylls enthaltende ätherische Schicht nicht möglich war. Willstaetter und Stoll geben über die Art dieses Überführens Folgendes an: „Die holzgeistigen Xanthophyllauszüge sind frei von Carotin; wir vermischen sie mit 130 ccm Äther und führen den Farbstoff durch langsamen Zusatz von Wasser in Äther über.“ Bei diesem Wasserzusatz — auch bei beliebig langer Fortsetzung — schob sich häufig eine ziemlich stark gefärbte Schicht zwischen Äther und Holzgeist, und auch letzterer wurde nicht farblos. Nur sehr oft wiederholtes Ausäthern kleinerer Anteile des verdünnten Holzgeistes mit reinem Äther ermöglichte nach und nach das Sammeln des Xanthophylls im Äther, der dann auf die gewünschte Menge — 100 ccm — eingedampft werden mußte. Bei späteren Versuchen arbeitete ich — auch nicht immer mit Erfolg — so, daß ich den Methylalkohol in Mengen von 100 ccm, wie er bei der Entmischung erhalten wurde, jedesmal in reinen Äther einfließen ließ, die ersten am stärksten gefärbten in 70—80 ccm Äther, die zweiten in 50—60 ccm, den Rest in etwa 50 ccm Äther, und dann portionsweise die Überführung durch Wasserzusatz ausführte. Verschiedentlich ließ sich der Farbstoff dem 90 prozentigen Holzgeist am schwersten entziehen.

Die Ätherlösung des Xanthophylls wurde wie die Carotinlösung gewaschen und getrocknet, wegen des größeren Xanthophyllgehaltes der Blätter für den colorimetrischen Vergleich aber auf 100 ccm aufgefüllt. Die Carotinlösung erforderte eine Verdünnung auf nur 50 ccm.

Die colorimetrische Messung erfolgte wie im Vorjahre, nur nicht unter Benutzung von Tageslicht, sondern da die Versuche mindestens einen Tag in Anspruch nahmen, und die Messungen daher gegen Abend stattfanden, bei einer künstlichen, gleichmäßigen, feststehenden Lichtquelle mit vorgestelltem Schirm aus transparentem Papier.

Die Einzelversuche.

1. Versuch: *Aesculus Hippocastanum*.

Pflanze und Ort der Blattentnahme wie Herbst 1914.

Zeit des Einsammelns:

der grünen Blätter:

6. Okt. 1915, 12 h bis 12³⁰ p. m.

der gelben Blätter:

15. Okt. 1915, 12 h mittags.

Witterung: hell, sonnig.

hell, kühl.

Beschaffenheit:

der grünen Bl.:

Blätter mittlerer Größe von tief dunklem Grün, das sich beim Trocknen nicht wesentlich verändert.

der gelben Bl.:

Blätter gleichen Alters wie die grünen, von gleichmäßigem, reinem, intensivem Goldgelb. Beim Trocknen sich auffallend verändernde Blätter werden nicht verwendet.

Verlauf der Untersuchung.

Das extrahierte Blattmehl erschien noch deutlich gefärbt und das ausgewaschene Aceton enthielt eine Menge dunkelgelber Pigmente bei herbstlichen Blättern. Bei Verdünnung auf 600 ccm erschien das Aceton-Wasser dunkelorange-farbig bei gelben, hell bernsteinfarbig bei grünen Blättern.

Der Farbton der Carotin-Xanthophyll-Ätherlösung wich stark vom Gelb der Blätter ab. Nach dem Verseifen war 3 maliges Nachwaschen mit 1 prozentiger methylalkoholischer Kalilauge nötig, ehe das Waschwasser farblos ablief. Trotzdem nun eine weitere Verseifung von Chlorophyll nicht gelang, blieb bei Versuch I die Ätherlösung der grünen Blätter im Vergleich mit der der gelben etwas grünstichig. Erst bei der Carotin-Xanthophylltrennung wurde sie reingelb.

Colorimetrische Messung:

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters					
Extraktionsmittel	Versuch	Carotin der		Xanthophyll der	
		grünen Bl. : $K_2Cr_2O_7$	gelben Bl. : $K_2Cr_2O_7$	grünen Bl. : $K_2Cr_2O_7$	gelben Bl. : $K_2Cr_2O_7$
Aceton	I	50 : 28	50 : 27	50 : 44 × 2	50 : 34 × 2
	II	50 : 27	50 : 25	50 : 43 × 2	50 : 33 × 2
Petroläther	III 1915	50 : 26	50 : 28	—	—
	IV 1914	50 : 28,5	50 : 53	—	—

Während im Herbst 1914 der Carotingehalt der Blätter während der Vergilbung stark zugenommen hat, geht aus allen Untersuchungen des folgenden Jahres Konstanz desselben hervor. Der Xanthophyllgehalt hat sich während des Vergilbungsprozesses vermindert.

Die sehr intensive Gelbfärbung von *Aesculus Hippocastanum* ist nur zum kleineren Teil dem Carotin- und Xanthophyllgehalt zuzuschreiben.

2. Versuch: *Acer platanoides*.

Alter und Standort: 3—4 m hoher, kümmerlich entwickelter Baum, im Schatten hoher Bäume gewachsen, mit schwächtiger, einseitig entwickelter Krone. Nur von NO. stärker, aber auch nicht voll belichtet.

Entnahme der Blätter: Gleichmäßig von der ganzen Pflanze.

Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.:

8. Okt. 1915, 11—12 h. a. m.

Witterung: wolkig, kühl.

Beschaffenheit:

rein dunkelgrüne, ausgewachsene Blätter.

der gelben Bl.:

29. Okt. 1915, 12—1 h. a. m.

regnerisch, kalt.

stark mißfarbene, schmutzig gelbbraun-grüne Blätter. Trotzdem der Vergilbungsprozeß noch nicht vollendet ist, beginnen die Blätter stellenweise schon abzusterben. Ein Teil der Blätter ist nach dem Abfallen vom Boden aufgelesen. Diese Blätter unterscheiden sich von den gepflückten in nichts als der vielleicht etwas reineren Gelbfärbung.

Verlauf der Untersuchung.

Es gelingt nicht, die Blattmehle vollständig zu extrahieren. Sie erscheinen nach der Extraktion noch etwas grüngrau, resp. gelbgrau. Im Übrigen normaler Verlauf.

Farbe des Blattmehles	der grünen Bl.	der gelben Bl.
vor der Extraktion:	rein dunkelgrün	grünlich braungelb
nach „ „	hell graugrün	hell graubraun
Farbe des Acetonwassers:	hellgrünlich gelb, klar	dunkel rotbraun, klar

Colorimetrische Messung:

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters					
Extraktionsmittel	Versuch	Carotin der		Xanthophyll der	
		grünen Bl. : $K_2Cr_2O_7$	gelben Bl. : $K_2Cr_2O_7$	grünen Bl. : $K_2Cr_2O_7$	gelben Bl. : $K_2Cr_2O_7$
Aceton	I	50 : 66,5	50 : 85	50 : 105 × 2	50 : 84 × 2
	II	50 : 67	50 : 90	50 : 105 × 2	50 : 80 × 2
Petroläther	III 1914	50 : 38	50 : 73	—	—

Während der Vergilbung hat der Carotingehalt zugenommen, der Xanthophyllgehalt abgenommen.

Die Analysenzahlen der Versuche von 1914 und 1915 können nicht in Parallele gesetzt werden, da das Blattmaterial von verschiedenen Pflanzenindividuen und Pflanzenteilen stammt, von Säm-

lingen im einen, aus der Krone einer jüngeren Kümmerpflanze im anderen Falle.

Letztere hat den bedeutend höheren Carotingehalt. Gemeinsam ist beiden die Carotinzunahme im Herbst, die allerdings im bei ungünstiger Witterung nur unvollkommen vergilbten Blatt des Jahres 1915 weit geringer ist, absolut genommen sowohl, wie namentlich im Verhältnis zum grünen Blatt.

Unterschiede im Carotingehalt von Blättern, die von verschiedenen Teilen einer Pflanze stammen, hat schon Willstaetter ¹⁾ gemessen. Aus 1 kg frischer Ulmenblätter von Stockausschlägen erhielt er 0,53 gr Carotin, aus der gleichen Menge Blätter vom Rande der Krone 0,97 gr Carotin.

3. Versuch: *Fagus silvatica*.

Pflanze und Blattentnahme wie 1914.

Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.

6. Okt. 1915, 9³⁰ h. a. m.

Witterung: hell, wenn auch nicht sonnig, frisch.

Beschaffenheit:

rein grüne fehlerlose Blätter, welche beim Trocknen unverändert bleiben.

der gelben Bl.:

4. Nov. 1915, 9³⁰ h. a. m.

nebelig, nicht kalt.

zum kleineren Teil reingelbe, in der Mehrzahl gelbgrünbraune Blätter, die sich ohne Farbänderung trocknen lassen.

Verlauf der Untersuchung:

Die die verseiften Chlorophylline haltende, methylalkoholische Kalilauge gibt beim Ausäthern zunächst keinen Farbstoff ab, bei Wasserzusatz färbt sich der Äther grünlich an. —

85prozentiger Holzgeist gibt bei beiden Blattsorten seinen Xanthophyllgehalt nur sehr zögernd, 90- und 92prozentiger gibt ihn leichter an Äther ab.

Farbe des Blattmehles	der grünen Bl.	der gelben Bl.
vor der Extraktion	288—284	142—138
nach „ „	172	128 D
Farbe des Acetonwassers	161	156
	schwach trübe	schwach trübe

Colorimetrische Messung.

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters

Extraktionsmittel	Versuch	Carotin der		Xanthophyll der	
		grünen Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	gelben Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	grünen Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	gelben Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇
Aceton	I	50 : 17	50 : 10	50 : 34 × 2	50 : 12 × 2
	II	50 : 17	50 : 10	50 : 34 × 2	50 : 11,5 × 2
Petroläther	III 1915	50 : 17	50 : 10		
	IV 1914	50 : 17	50 : 30		

¹⁾ Willstaetter u. Stoll, Unters. ü. Chlorophyll. 1913. S. 113.

Im Gegensatz zum Herbst 1914 hat der Carotingehalt 1915 ziemlich erheblich abgenommen, noch stärker ist der Xanthophyllverlust.

4. Versuch: *Platanus orientalis*.

Pflanze und Blattentnahme wie 1914.

Zeit des Einsammelns:

der grünen Bl.:

3. Okt. 1915, 10 h a. m.

der gelben Bl.:

18. Okt. 1915, 10 h a. m.

Witterung:

sonnig

bedeckt, kühl

Beschaffenheit:

alte derbe und jüngere zarte Blätter, an beiden gelbliche Flecken, im übrigen lichtgrüne Farbe.

ebenfalls Blätter verschiedenen Alters mit grünen, gelben und bräunlichen Partien am gleichen Blatt.

Verlauf der Untersuchung:

Die Blattmehle lassen sich schnell und vollständig extrahieren. Versuch I und II wurden gleich nacheinander ausgeführt. Da bei II die Verseifung nicht glatt verlief und die Überführung des Xanthophylls grüner Blätter aus Holzgeist in Äther besondere Schwierigkeiten machte, wurde einen Monat später Versuch III angestellt, der in der Art seines Verlaufes mit I gut übereinstimmte. Bei II wurde die Ätherlösung der grünen Blätter 2 mal verseift, ohne reine Gelbfärbung zu ergeben. Die grünliche Beimischung wanderte bei der Carotin-Xanthophyll-Trennung mit letzterem in den Methylalkohol und weiter mit in den Äther. Nochmalige Verseifung dieses Äthers ermöglichte zum Schluß annähernd genaue colorimetrische Messung.

Farbe des Blattmehls	der grünen Bl.	der gelben Bl.
vor der Extraktion	188—193	128 D—137
nach der Extraktion	178 D	153 D
Farbe des Aceton-Wassers	171	heller als 166

Colorimetrische Messung.

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters					
Extraktionsmittel	Versuch	Carotin der		Xanthophyll der	
		grünen Bl. : $K_2Cr_2O_7$	gelben Bl. : $K_2Cr_2O_7$	grünen Bl. : $K_2Cr_2O_7$	gelben Bl. : $K_2Cr_2O_7$
Aceton	I	50 : 12	50 : 9	50 : 17 × 2	50 : 14 × 2
	II	50 : 11	50 : 9	50 : 12 × 2	50 : 14 × 2
	III	50 : 11	50 : 9	50 : 17 × 2	50 : 14 × 2
Petroläther	IV 1915	50 : 11	50 : 9	—	—
	V 1914	50 : 9	50 : 15	—	—

Aus der Tabelle ist wiederum deutlich entgegengesetztes Verhalten des Carotins in den beiden aufeinander folgenden Jahren zu erkennen, 1914 Zunahme, 1915 allerdings nur geringe Abnahme. Beim Xanthophyll ist der Verlust im vergilbten Blatt um ein geringes größer als beim Carotin.

5. Versuch: *Parrotia persica*.

Pflanze wie 1914.

Blattentnahme: Lichtblätter von allen Teilen der S.- und SW.-Seite, die volles Licht empfängt.

Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.:

3. Okt. 1915, 11—12 h a. m.

der gelben Bl.:

26. Okt. 1915, 10 h a. m.

Witterung: hell, sonnig

wolkig, Frost

Beschaffenheit:

ausgewachsene, derbe, reingrüne Blätter, die beim Trocknen unverändert bleiben.

ebenfalls ausgewachsene, aber noch nicht vollständig vergilbte Blätter, da Frosteintritt vorzeitige Abnahme derselben verlangt. Die Blätter sind beim Pflücken mit einer dünnen Eisschicht bedeckt, aber noch turgeszent. Die meisten enthalten reichlich Anthocyan.

Verlauf der Untersuchung:

Das extrahierte Blattmehl ist nicht ganz entfärbt, aber bei allen Versuchen gleichmäßig graugrünlich oder graugelblich. Die Xanthophylllösung der grünen Blätter des Versuches I läßt beim colorimetrischen Vergleich geringe Grünstichigkeit erkennen. Bei Versuch III kann bei 3 maliger Verseifung der gemischten ätherischen Carotin-Xanthophyll-Lösung und einer 4. Wiederholung dieses Prozesses bei der isolierten Xanthophylllösung kein reingelber Farbton derselben erreicht werden.

Farbe des Blattmehls	der grünen Bl.:	der gelben Bl.:
vor der Extraktion	209—213	142
nach der Extraktion	197—172	128 D—162
Farbe des Acetonwassers	171	156

Colorimetrische Messung:

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters

Extraktionsmittel	Versuch	Carotin der		Xanthophyll der	
		grünen Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	gelben Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	grünen Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	gelben Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇
Aceton	I	50 : 14	50 : 9	50 : 12 × 2	50 : 12 × 2
	II	50 : 14	50 : 10	50 : 14 × 2	50 : 12 × 2
	III	50 : 14	50 : 10	50 : 14 × 2	50 : 12 × 2
Petroläther	IV 1915	50 : 15	50 : 15		
	V 1914	50 : 18	50 : 30		

Für den Petrolätherauszug 1915 mußte Blattmehl neu hergestellt werden. Die veränderte Qualität dieses Mehles für den Unterschied der Resultate bei Aceton- und Petrolätherextrakt verantwortlich zu machen, scheint mir nicht gerechtfertigt.

Die Petrolätherextrakte von 1915 und 1914 lassen sich nicht vergleichen, da 1915 nur Lichtblätter, 1914 als grüne Blätter Schattenblätter verwendet wurden.

Der Carotin- und Xanthophyllgehalt der Blätter des Herbstes 1915 hat während der Vergilbung eine schwache Abnahme erfahren.

6. Versuch: *Vitis coignetiae*.

Pflanze und Entnahme der Blätter wie 1914.

Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.:

3. Okt. 1915, 11 h a. m.

der gelben Bl.:

26. Okt. 1915, 10³⁰ h. a. m.

Witterung: sonnig, klar.

kalt, klar.

Beschaffenheit:

Blätter verschiedenen Alters von etwas blassem Grün, das teilweise durch Anthocyan verdeckt wird.

nicht vollständig vergilbte Blätter verschiedenen Alters, nach vorhergehender Frostnacht gepflückt, teilweise von einer dünnen Eisschicht überzogen. Starker Anthocyangehalt, der fleckenweise über das Blatt verteilt ist.

In beiden Blattsorten zersetzten sich die Farbstoffe während des Trocknens in Teilen der Lamina. Diese Teile werden vor dem Zerkleinern herausgeschnitten.

Verlauf der Untersuchung:

Die Menge der wasserlöslichen Pigmente ist so groß, daß der Äther vor der Verseifung 6 mal ausgewaschen werden muß. Die Überführung des Xanthophylls aus dem 90prozentigen Methylalkohol bereitet außergewöhnliche Schwierigkeit.

Farbe des Blattmehls	der grünen Bl.:	der gelben Bl.:
vor der Extraktion	228	108—113
nach der Extraktion	hell gelblich-grau	142—128
Farbe des Acetonwassers	171	86, trübe

Colorimetrische Messung.

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters					
Extraktionsmittel	Versuch	Carotin der		Xanthophyll der	
		grünen Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	gelben Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	grünen Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	gelben Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇
Aceton	I	50 : 23	50 : 12	50 : 52 × 5	50 : 24 × 2
	II	50 : 23	50 : 12	50 : 48 × 2	50 : 23 × 2
Petroläther	III 1915	50 : 82	50 : 40		
	IV 1914	50 : 16	50 : 34		

einer deutlichen Zunahme des Carotins im Jahre vorher. Die gelben Blätter waren allerdings vom Frost getötet und ihre Farbe ziemlich dunkel braungelb. Es ist immerhin möglich, daß durch den Frost indirekt bewirkte Zersetzungen der gelben Pigmente stattgefunden haben. Temperaturen unter 0° zersetzen an und für sich das Carotin nicht.

8. Versuch: *Salix caprea*.

Alter und Standort: Mittelgroßer, innerhalb eines Verbandes anderer etwa gleichhoher Salicaceen wachsender Strauch. Alter ca. 25 Jahre. Von der S.- und O.-Seite her in geringem Maße beschattet.

Entnahme der Blätter: Gleichmäßig von der ganzen Pflanze.

Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.:

8. Nov. 1915, 12 h mittags

der gelben Bl.:

10. Nov. 1915, 5 h p. m.

Witterung: feucht, trübe, kalt.

feucht, trübe, kalt.

Beschaffenheit:

ausgewachsene, kräftig grüne Blätter mit vereinzelt hellen, vergilbenden Flecken.

ausgewachsene, kräftig dunkelgelbe Blätter, die sich an kleinen Stellen schon postmortal gebräunt haben.

Verlauf der Untersuchung:

Bei Überführung des Xanthophylls aus 95 prozentigem Holzgeist in Äther läuft ersterer stark gefärbt ab, erst 3 maliges, weiteres Ausäthern macht ihn praktisch xanthophyllfrei. 90 und 92-prozentiger Methylalkohol geben ihren Xanthophyllgehalt bei Wasserzusatz gleich vollständig ab.

Farbe des Blattmehls	der grünen Bl.	der gelben Bl.
vor der Extraktion	204	dunkler als 153D
nach der Extraktion	197	147—128D
Farbe des Acetonwassers	153 C—171	166—161

Colorimetrische Messung.

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters					
Extraktionsmittel	Versuch	Carotin der		Xanthophyll der	
		grünen Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	gelben Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	grünen Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	gelben Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇
Aceton	I	50 : 20	50 : 11,5	50 : 28 × 2	50 : 28 × 2
	II	50 : 20	50 : 11,5	50 : 28 × 2	50 : 28 × 2
Petroläther	III 1915	50 : 37	50 : 23		
	IV 1915	50 : 37	50 : 20		
	V 1914	50 : 18	50 : 9		

Die Abnahme des Carotingehaltes geht aus beiden Versuchsarten gleichsinnig hervor. Das Verhältnis des Carotingehaltes gel-

ber und grüner Blätter darf man — im Großen und Ganzen genommen — ebenfalls als gleich bezeichnen, und es stimmt auch mit dem der 1914 gesammelten Blätter von *Salix babylonica* überein.

Auffallend ist die Konstanz des Xanthophylls vor der Verfärbung. In den bisher untersuchten gelben Blättern hatte das Xanthophyll stets eine stärkere Verminderung als das Carotin erkennen lassen.

9. Versuch: *Taxodium distichum*.

Alter und Standort: Fast hundertjähriger, ringsum freistehender, sehr gleichmäßig entwickelter Baum vom N.-Ufer des Teiches im bot. Garten.

Entnahme der Blätter: NW.- und O.-Seite und zwar deren periphere Teile.

Zeit des Einsammelns

der grünen Nadeln

8. Okt. 1915, 4³⁰ p. m.

der braunen Nadeln

13. Nov. 1915, 4–6 h p. m.

Witterung: wolkig, trübe

kalt, leicht bedeckter Himmel

Beschaffenheit:

rein grüne Nadeln, die sich beim Trocknen nicht verändern.

braune, tote Nadeln. bis zu $\frac{1}{4}$ mit ganz oder teilweise grünen untermischt.

Verlauf der Untersuchung.

Nach 5 stündiger Vorextraktion mit ca. 25 prozentigem Aceton ist dieser deutlich grün resp. braun gefärbt und fadenziehend schleimig. Er läßt sich erst nach $\frac{1}{2}$ tägigem, stärksten Saugen der Pumpe vom Blattmehl trennen. Sein Farbstoffgehalt geht bei längerem Stehen nicht in den übergeschichteten Äther. Nach dem Verseifen fällt die intensiv rot-orange farbige Ätherlösung der braunen und die im Vergleich damit grünlich-braune der grünen Nadeln auf. Durch weiteres Verseifen oder Auswaschen kann aber kein Farbstoff mehr entfernt werden. Nach Übertragung des isolierten Xanthophylls in Äther, der im Colórimeter grünstichig erscheint, reinigt nochmaliges Verseifen denselben bis zum rein gelben eine Messung ermöglichenden Farbton. 85 prozentiger Holzgeist gibt das Xanthophyll erst nach nochmaligem Ausäthern vollständig ab. Der bei Versuch III zur Extraktion verwendete Petroläther hat kleine Mengen eines roten Farbstoffs mit entzogen, der beim Filtrieren der Carotinlösung — nach Verseifen und Auswaschen der grünen Pigmente — auf dem mit Natriumsulfat belegten Filter zurückbleibt. Beides ist deutlich lichtrosa gefärbt.

Farbe des Blattmehls	der grünen Nadeln	der braunen Nadeln
vor der Extraktion	229	153
nach der Extraktion	222	128
Farbe des Acetonwassers		
der Vorextraktion	182—187	131—132
Farbe des Acetonwassers		
	heller als 253 a—278 a	153 B

Colorimetrische Messung.

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters					
Extraktionsmittel	Versuch	Carotin der		Xanthophyll der	
		grünen Bl. : $K_2Cr_2O_7$	gelben Bl. : $K_2Cr_2O_7$	grünen Bl. : $K_2Cr_2O_7$	gelben Bl. : $K_2Cr_2O_7$
Aceton	I	50 : 12	50 : 18	50 : 37 × 2	50 : 38 × 8
	II	50 : 13	50 : 18	50 : 37 × 2	50 : 38 × 8
Petroläther	III 1915	50 : 12	50 : 18		
	IV 1914	50 : 26,5	50 : 26,5		

Auffallend ist die Vermehrung beider Farbstoffe in den abgestorbenen Nadeln, namentlich die ungeheure Xanthophyllzunahme, während alle anderen Pflanzen im Herbst 1915 eine Verminderung ihrer gelben Pigmente gezeigt hatten.

Auffallend ist diese Zunahme auch verglichen mit der Konstanz des Carotingehaltes — allerdings nicht desselben Exemplars — von *Taxodium* im Vorjahre. Bei den Petrolätherextrakten sind wahrscheinlich Farbstoffe von nicht Carotinnatur mit in die Lösungen gelangt.

10. Versuch: *Ginkgo biloba*.

Alter und Standort: Mittelgroßer, etwa 70 Jahre alter freistehender Baum mit gleichmäßig entwickelter Krone.

Entnahme der Blätter: Von den unteren Ästen der S.- und SW.-Seite.

Zeit des Einsammelns

der grünen Bl.

2. Okt. 1915, 10h a. m.

der gelben Bl.

25. Okt. 1915, 10 h a. m.

Witterung: hell, zeitweise sonnig.

sonnig, kalt.

Beschaffenheit:

voll ausgewachsene, rein grüne Blätter. Beim Trocknen verfärben sie sich namentlich unterseits teilweise oder auch ganz zu graugelblich grünen Farbtönen.

ebenfalls voll ausgewachsene, kräftige Blätter. Ihre außerordentlich reines, gleichmäßiges, intensives Herbstgelb veranlaßte ihre Wahl als Versuchsobjekt. Die Farbe bleicht beim Trocknen in manchen Blättern stark aus.

Da wegen des ungleichen Ausfalls der Resultate ungewöhnlich viele Versuche angestellt wurden, war das Blattmehl in verschiedenen Mahlprozessen hergestellt, und daher bei späteren Versuchen minderwertiger als bei früheren.

Verlauf der Untersuchung:

Schwierigkeiten bereitet in allen Versuchen die Überführung des Xanthophylls in Äther, bei einigen Versuchen VII und VIII und in hohem Maße bei Versuch IX kommt dazu unvollständige

Verseifung und dadurch bedingte Ungenauigkeit der colorimetrischen Messung.

Farbe des Blattmehls	der grünen Bl.	der gelben Bl.
vor der Extraktion	204—184	177
nach der Extraktion	153 C	172
Farbe des Acetonwassers	253 A	153 A
des A.-W. der Vorextraktion	171—166	156—161

Colorimetrische Messung.

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters					
Versuch		Carotin der		Xanthophyll der	
		grünen Bl. : $K_2Cr_2O_7$	gelben Bl. : $K_2Cr_2O_7$	grünen Bl. : $K_2Cr_2O_7$	gelben Bl. : $K_2Cr_2O_7$
Nov. 1915	I	50 : 15	50 : 10	50 : 26 × 2	50 : 12 × 2
Nov. 1915	II	50 : 14,5	50 : 15	50 : 38 × 2	50 : 20 × 2
Dez. 1915	III	50 : 30	50 : 27	50 : 21 × 2	50 : 21 × 2
Dez. 1915	IV	50 : 27	50 : 18,5	50 : 43 × 2	50 : 70 × 2
März 1916	V	50 : 22,5	50 : 13	50 : 72 × 2	50 : 75 × 2
März 1916	VI	50 : 27	50 : 27	50 : 23 × 2	50 : 31 × 2
März 1916	VII	50 : 20	50 : 27	50 : 23 × 2	50 : 33 × 2
März 1916	VIII	50 : 11	50 : 14	50 : 12 × 2	50 : 18 × 2
Juni 1916	IX	50 : 25	50 : 48	50 : 36 × 2	50 : 28,5 × 2
Juni 1916	X	50 : 25	50 : 25	50 : 36 × 2	50 : 36 × 2

Carotinbestimmungen mit Hilfe des Petrolätherverfahrens wurden nicht ausgeführt. Zu Versuch I und II wurden je 4, zu allen anderen je 5 gr Blattmehl verwendet. Bei Versuch IX u. X hat eine 4-stündige Vorextraktion mit 125 ccm 25 prozentigem Aceton stattgefunden. Der Schleimgehalt machte das Absaugen dieses Acetons auf der Nutsche unmöglich. Deswegen wurde durch Glaswolle filtriert. Das Filtrat war bei gelben und grünen Blättern fast gleichmäßig gelb gefärbt, gab aber an Äther keinen Farbstoff ab.

Versuch IX und X wurden gleichzeitig, nebeneinander ausgeführt. Sie zeigten keine Unterschiede bis zur Trennung von Carotin und Xanthophyll der gelben Blätter. Da die Resultate beider Versuche für die grünen Blätter gut übereinstimmten, vermutete ich, daß in Versuch IX vielleicht eine Reduktion des Xanthophylls zu Carotin eingetreten sei. Um eine eventuelle, wenn auch schwache Bestätigung für diese Vermutung zu erlangen, vereinigte ich die Carotin- und Xanthophylllösung jedes Versuches, und konnte dann colorimetrisch den gleichen Farbwert der Gesamtmenge gelber Farbstoffe in beiden Versuchen feststellen.

Trotzdem sagen auch diese letzten Versuche nichts Sicheres

über das Verhalten von Carotin und Xanthophyll bei der Herbstfärbung von *Ginkgo* aus. Am wahrscheinlichsten ist es wohl, daß beide Farbstoffe dabei quantitativ unverändert bleiben.

11. Versuch: *Lepidium Draba*.

Ein in der ersten Hälfte des April gepflückter als Herbarpflanze eingelegter Sproß von *Lepidium Draba* hatte sich nach einigen Tagen, bevor er lufttrocken war, ganz gleichmäßig kräftig dottergelb gefärbt. Um zu untersuchen, wie sich während dieser vorzeitigen Herbstfärbung, die unter Lichtabschluß an einem noch noch nicht blühreifen, langsam vertrocknenden Sproß zustande gekommen war, Carotin und Xanthophyll verhielten, wurde an dem betreffenden Standort alles vorhandene Material gesammelt. Es wuchs am Rande eines zum Teil mit Schutt angefahrenen Weges in der Nähe von Münster, vollständig unbeschattet.

Die Blätter wurden diesmal nicht am Sproß belassen — weil es bei der Ungleichmäßigkeit der Stengel dann nicht möglich gewesen wäre, von gleichen Gewichtsmengen der Blätter auszugehen — sondern abgepflückt und von den Stielen befreit. Von den frischen Blättern wurden 6 mal 20 gr abgewogen, davon 3 Portionen getrennt zwischen Fließpapier gelegt, der Rest in 3 Parallelversuchen sofort verarbeitet. Eine Nacht lang standen diese Blätter zur Vorextraktion mit je 100 ccm 30 prozentigem Aceton in festschließenden Flaschen im Dunkeln. Die Zerkleinerung erfolgte durch Zerreiben mit je 50 gr Sand in einer innen rauhen Reibschale. Der entstandene Blattbrei wurde auf der Nutsche abgesaugt, darauf noch zweimal mit 100 ccm 30 prozentigem Aceton maceriert, wieder abgesaugt und dann die eigentliche Extraktion mit 100 ccm 90 prozentigem Aceton vorgenommen. Das zur Vorextraktion benutzte Aceton hatte einen geringen Teil der grünen Pigmente mitgeführt, es wurde deshalb so oft mit Äther überschüttet, bis derselbe sich auch bei längerem Stehen nicht mehr anfärbte. Auch dann war das Aceton noch deutlich grünlich.

Die farbstoffhaltigen Äthermengen wurden vereinigt und verseift. Dieser Prozeß vollzog sich beim ersten Schütteln auf der Maschine vollständig. Der Methylalkohol aller 3 Fraktionen gab das Xanthophyll bei Wasserzusatz restlos an den Äther ab. Nach 14tägigem Lagern im Herbar wurde die inzwischen lufttrockene zweite Hälfte der Blätter verarbeitet. Diese hatten ihre Farbe verhältnismäßig wenig verändert. Die älteren Blätter waren etwas heller gelblich-grün, einige jüngere mattgelb geworden. Keines der Blätter erinnerte im Farbton auch nur entfernt an das kräftige, harte Gelb, das der die Untersuchung veranlassende beblätterte Sproß während 8 tägigen Lagerns im Herbarium angenommen hat.

Die Verarbeitung der getrockneten Blätter erfolgte wie bei den grünen. Im Analysenverlauf der gelben und grünen Blätter — wie ich sie kurz bezeichnen will — zeigten sich keine nennenswerten Unterschiede.

Farbe des Acetonwassers

	der grünen Bl.	der gelben Bl.
bei der Vorextraktion	253	216
bei der Hauptextraktion	heller als 222	heller als 222

Colorimetrische Messung.

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters					
Extraktionsmittel	Versuch	Carotin der		Xanthophyll der	
		grünen Bl. : $K_2Cr_2O_7$	gelben Bl. : $K_2Cr_2O_7$	grünen Bl. : $K_2Cr_2O_7$	gelben Bl. : $K_2Cr_2O_7$
	I u. III	50 : 15	50 : 27	50 : 21 × 2	50 : 20 × 2
	II u. IV	50 : 15	50 : 27	50 : 21 × 2	50 : 20 × 2

Die unter Lichtabschluß langsam abgestorbenen Blätter haben einen größeren Carotingehalt als die grünen, das Xanthophyll dagegen ist während dieses Vorganges so gut wie unverändert geblieben.

Dieser Versuch könnte als weiterer Beweis für die schon lange bekannte Möglichkeit der Carotinbildung unter Lichtabschluß aufgefaßt werden.

Es wäre von Interesse gewesen, festzustellen, ob die auffallend kräftige Gelbfärbung der am Sproß getrockneten Blätter und dieses Sprosses selbst auch auf Carotinbildung im Dunkeln zurückgeführt werden muß. Daß die vom Grün bis dahin verdeckten gelben Farbstoffe diese starke Pigmentierung verursacht haben könnten, ist wenig glaubhaft, wenn man die matte, helle Grünfärbung von *Lepidium Draba* in Betracht zieht. Leider war es mir bisher unmöglich, mir das zur Entscheidung dieser Frage nötige Material zu beschaffen.

Eine Deutung der Vorgänge bei der Herbstfärbung in Verbindung mit diesem vereinzelt Versuch ist in keiner Weise gerechtfertigt.

Folgende 2 Versuche galten einem Vergleich des Carotins und Xanthophylls in grünen und weißen Blatteilen panachierter Blätter, bezw. in vollkommen weißen und grünen Schattenblättern derselben Pflanze.

12. Versuch: *Aesculus Hippocastanum*,

derselbe Baum, der zu früheren Versuchen grüne und gelbe Lichtblätter geliefert hat. An seinem unteren und mittleren Stammteil treiben alljährlich zahlreiche Schößlinge von geringer Dicke gelblich bis grünlich-weiße, zarte Blätter. Neben und zwischen diesen Sprossen treten vereinzelt Zweige mit grünem Laube auf. Die weißen Blätter erreichen weder die Größe noch die Dicke normaler Blätter und sind von erheblich kürzerer Lebensdauer.

Solche weiße und in ihrer Nachbarschaft wachsende grüne Schattenblätter wurden gegen Mitte Mai 1916, 12 Uhr mittags, bei sonnigem, warmem Wetter gepflückt und im Dunkeln bei 30° getrocknet. Von den weißen Blättern bräunte sich dabei ein großer Teil, der nicht verwendet werden konnte. Die grünen Blätter waren, namentlich mit Bezug auf die Gefäßbündelstränge, erheblich derber als die weißen. Darum wurden aus beiden Blattsorten vor dem Zermahlen alle gröberen Blattnerven entfernt. Das Blattmehl war weniger fein als sonst bei gleicher Herstellungsweise. Die Extraktion vollzog sich infolgedessen langsamer. Als nach 4-stündiger Behandlung auf der Nutsche immer noch gröbere, gefärbte Teilchen zu erkennen waren, wurde die Extraktion weitere 4 Stunden in einer Standflasche fortgesetzt und die gesammelten Acetonextrakte nach und nach in eine entsprechend größere Menge Äther eingegossen. Bis zum farblosen Abfließen des Waschwassers war 6 maliges Auswaschen nötig.

Das Verseifungsprodukt der weißen Blätter färbte sich dunkelbraun. Die Überführung des Xanthophylls der grünen Blätter verlief glatt, von den holzgeistigen Entmischungen des Xanthophylls der gelben Blätter gab keine ihren Farbstoffgehalt gleich vollständig ab an den Äther. Der Holzgeist blieb nach Wasserzusatz gelblich gefärbt und weißlich trübe. Nach 3 maligem Ausäthern war Farbstoff und Trübe vom Äther aufgenommen. Dieselbe Trübung schied sich auch in der Petrolätherlösung des Carotins aus beim Auswaschen derselben. Sie konnte durch Filtration entfernt werden.

Der starke Xanthophyllgehalt erforderte 6 malige Fraktionierung des Petroläthers mit Holzgeist und eine Verdünnung auf 200 ccm, ehe der geeignete Farbton erreicht war.

Farbe des Blattmehls	der grünen Bl.	der weißen Bl.
vor der Extraktion	283—279	etw. dunkler als 178 D
nach der Extraktion	153 D	157—153 D
Farbe des Acetonwassers	278 D	0221

Colorimetrische Messung.

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters					
Extraktionsmittel	Versuch	Carotin der		Xanthophyll der	
		grünen Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	gelben Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	grünen Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	gelben Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇
Aceton	I u. III	50 : 75	50 : 8	50 : 72 × 4	50 : 9 × 2
	II u. IV	50 : 75	50 : 8	50 : 72 × 4	50 : 9 × 2

13. Versuch: *Ulmus campestris*.

Alter und Standort: Etwa 4 m hoher, kümmerlicher Baum, innerhalb einer Reihe alter hoher Ulmen und von diesen im Lichtgenuß stark beeinträchtigt. Die Krone ist spärlich und ungleichmäßig entwickelt. Die

Blätter sind ziemlich großfleckig dunkelgrün, hellgrün und weiß, einige vollständig grün oder weiß. An den weißen Flecken ist das Palisaden- und das Schwammparenchym dünner als an den grünen. In den hellgrünen Partien führt nur das Schwammparenchym Chlorophyll.

Entnahme der Blätter: Von den unteren Zweigen der W.-Seite.

Zeit des Einsammelns: 24. Juni 1916, 10—11 h a. m.

Witterung: hell und sonnig.

Verlauf der Untersuchung.

Aus den Blättern wurden gleich nach dem Einsammeln 40 g weiße und 40 gr grüne — dunkelgrüne — Stückchen herausgeschnitten, davon jedesmal die eine Hälfte gleich verarbeitet, die andere Hälfte unter einer Glasglocke in einem dunklen, kühlen Kellerraum aufbewahrt. Das Zerkleinern geschah, wie bei *Lepidium*, durch Zerreiben mit Sand. Vorextraktion war wegen des hohen Schleimgehaltes der grünen Blatteile nicht möglich. Bei Versuch I und III mußte das zur Vorextraktion dienende 30 prozentige Aceton von der Nutsche wieder abgegossen und durch Zugabe wasserfreien Acetons der Schleim fortgelöst werden, damit der Blattbrei wieder durchlässig wurde. Das Xanthophyll der weißen Blatteile ließ sich mühelos, das der grünen erst nach mehrmaligem Ausäthern dem Holzgeist entziehen.

Farbe des Blatt-Sand-Gemisches

	der grünen Bl.-Teile	der weißen Bl.-Teile
nach der Extraktion	103 D	103 B
Farbe des Acetonwassers	166	153 B—178 B

Colorimetrische Messung.

Schichthöhe der Lösungen in den Meßzylindern des Colorimeters

Extraktionsmittel	Versuch	Carotin der		Xanthophyll der	
		grünen Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	gelben Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	grünen Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇	gelben Bl. : K ₂ Cr ₂ O ₇
Aceton	I u. III	50 : 49 × 2	50 : 7	50 : 64 × 4	50 : 8 × 2
	II u. IV	50 : 49 × 2	50 : 8	50 : 67 × 4	50 : 10 × 2

Der colorimetrisch gemessene Chlorophyllgehalt der grünen und weißen Blatteile verhielt sich ungefähr wie 16 : 1.

Das zu den Versuchen II und IV verwendete Material, das eine geringe Vermehrung der gelben Farbstoffe zeigte, hatte 3 Tage kühl und dunkel gelagert.

Aus den Versuchen 12 und 13 ist zu erkennen, daß in farblosen Zellen panachierter oder ganz weißer Blätter alle 4 Chloroplastenpigmente fehlen. Die geringen Mengen Carotin und Xanthophyll, die aus den farblosen Blatteilen extrahiert wurden, dürften aus den Schließzellen und sonstigen, vereinzelt, grünen Zellen der makroskopisch farblos erscheinenden Blattstücke stammen.

Zusammenstellung der Resultate aus den Untersuchungen grüner und gelber Blätter des Herbstes 1915.

Pflanze	Extraktionsmittel	Carotingehalt der		Xanthophyllgeh. der		
		grünen Bl.	gelben Bl.	grünen Bl.	gelben Bl.	
<i>Aesculus Hippocast.</i>	Acet.	28	27	44 × 2	34 × 2	
	P.-Ä.	26	28			
<i>Acer platanoides</i>	Acet.	66,5	85	105 × 2	84 × 2	
	P.-Ä.	—	—			
<i>Fagus silvatica</i>	Acet.	17	10	34 × 2	12 × 2	
	P.-Ä.	17	10			
<i>Platanus orientalis</i>	Acet.	11	9	17 × 2	14 × 2	
	P.-Ä.	11	9			
<i>Parrotia persica</i>	Acet.	14	10	14 × 2	12 × 2	
	P.-Ä.	15	15			
<i>Vitis coignetiae</i>	Acet.	23	12	52 × 2	24 × 2	
	P.-Ä.	82	40			
<i>Polygonum sacchalinense</i>	Acet.	28	10	52 × 2	11 × 2	
	P.-Ä.	—	—			
<i>Salix caprea</i>	Acet.	20	11,5	28 × 2	28 × 2	
	P.-Ä.	37	23			
<i>Taxodium distichum</i>	Acet.	12	18	37 × 2	38 × 8	
	P.-Ä.	12	18			
<i>Gingko biloba</i>	Acet.	25	25	36 × 2	36 × 2	
	P.-Ä.	—	—			
<i>Lepidium Draba</i>	Acet.	15	27	21 × 2	20 × 2	
	P.-Ä.					
Sommerblätter	<i>Aesculus Hippoc.</i>		grüne Bl.	weiße Bl.	grüne Bl.	weiße Bl.
		Acet.	75	8	72 × 4	9 × 2
	<i>Ulmus camp.</i>	Acet.	49 × 2	7	64 × 4	8 × 2
<i>Fagus silvatica</i>			grüne Sommerblätter getrocknet bei			
			30° i. D.	90° i. D.	Sonnenl. Zimmertmp.	
	Carot.	33	25		17	
	Xanth.	59 × 2	28 × 2		55 × 2	

In allen aus dem frühzeitig kalten, feuchten Herbst 1915 stammenden Blättern ist, mit Ausnahme von *Taxodium distichum* und *Acer platanoides*, der Gehalt der gelben Blätter an Carotin und Xanthophyll geringer, als der der grünen. Die herbstlichen Vorgänge bei *Taxodium* sind wahrscheinlich ihrem Wesen nach von denen der blattwerfenden Laubpflanzen verschieden und deshalb für sich gesondert zu betrachten. So bleibt von allen Pflanzen nur *Acer platanoides* — ein unter anomalen Bedingungen gewachsenes Kümmerexemplar — als Beispiel für Vermehrung des Carotins. Das Xanthophyll hat bei *Acer*, wie Carotin und Xanthophyll bei allen anderen untersuchten Pflanzen, abgenommen.

Ein gegenteiliges Resultat hatten die Versuche des vorhergehenden Jahres mit mildem, lange frostfreiem Herbst. Das Carotin hatte sich bei der Mehrzahl der Pflanzen stark vermehrt, nur bei *Salix babylonica*, *Broussonetia papyrifera*, *Maclura aurantiaca*, Pflanzen mit spät einsetzender Verfärbung, besaßen die gelben Blätter geringere Carotinmenge als die grünen. Augenscheinlich sind daher Carotin-, vielleicht auch Carotin- und Xanthophyllvermehrung oder Verminderung der Blätter im Herbst von äußeren Bedingungen abhängig.

Ein Vergleich der Carotinmenge grüner Herbst- und Sommerblätter von *Aesculus Hippocastanum* und *Fagus sylvatica* zeigt aber, daß schon vor dem Beginn der äußerlich sichtbaren, herbstlichen Vorgänge im Blatte Änderungen sich vollziehen, die die gelben Pigmente stark beeinflussen. Willstätter gibt für grüne Blätter ganz im Allgemeinen annähernde Konstanz der gelben und grünen Chloroplastenfarbstoffe an. Es wäre daher nachzuprüfen, von welcher Lebensperiode der Blätter an diese Konstanz gestört wird und die den Laubfall vorbereitende Umgestaltung der normalen Lebensvorgänge beginnt.

Vielleicht würde sich zeigen, daß herbstliche Farbänderung und Beginn der nekrobiotischen Phase nicht zusammenfallen, sondern die sich unserm Auge so deutlich bemerkbar machende herbstliche Verfärbung ein späteres Stadium dieser Phase charakterisiert.

Als weitere Tatsache läßt sich aus dem Vergleich der Analysenzahlen erkennen, daß Aceton und Petroläther in Bezug auf Extraktion ungleichwertig sind. Bei *Parrotia persica* — gelbe Blätter — bei *Vitis coignetiae* und *Salix caprea* — grüne und gelbe Blätter — zeigen die Petrolätherextrakte einen beträchtlich größeren Gehalt an Carotin an als die Acetonextrakte.

Das Maximum der Unterschiede findet sich bei *Vitis coignetiae*. Ich kann mir diese Tatsache vorläufig nur so erklären, daß Petroläther neben Carotin einen Farbstoff extrahiert, der sich durch Verseifung mit methylalkoholischer Kalilauge und Auswaschen mit Wasser nicht von ihm trennen läßt. Nur bei den teilweise rot gefärbten Blättern und bei *Salix caprea* mit sehr dunkelgelber Herbstfarbe findet sich dieser Unterschied. Daß Petroläther tatsächlich einen roten Farbstoff mit aufnimmt, der durch die weiteren Isolierungsprozesse nicht vollständig entfernt wird, war deutlich zu erkennen bei einem Petrolätherextrakt von *Taxodium distichum*. Dieser ließ nach seiner Fertigstellung beim Einfließen in den Meßkolben auf dem Filter eine kleine Menge roten Farbstoffs zurück, der Filter und Natriumsulfat deutlich hellrosa anfärbte.

Bei Pflanzen mit reingelben Herbstblättern geben Aceton- und Petrolätherextrakte gleiche Resultate, bei den übrigen immerhin gleichsinnige.

V. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Als Resultate der vorläufigen Untersuchungen, die nach verschiedenen Richtungen einer Ergänzung bedürfen, läßt sich über

die Bedeutung des Carotins und Xanthophylls für die Herbstfärbung Folgendes aussagen:

1. Carotin und Xanthophyll beteiligen sich an der herbstlichen Blattpigmentierung während der nekrobiotischen Phase, wobei Xanthophyll das Carotin mindestens um das Doppelte übertrifft.

2. Für den im Herbstblatt auftretenden Farbton sind neben den gelben Chloroplastenpigmenten andere in Wasser, bezw. stark verdünntem Aceton lösliche, gelbe bis gelbbraune Farbstoffe verantwortlich zu machen.

3. Die Menge von Carotin und Xanthophyll im Herbstblatt, verglichen mit der des grünen Blattes kurz vor der Vergilbung, wechselt je nach der Pflanzenart. Sie ist außerdem stark abhängig von äußerem Wachstumsbedingungen.

4. Quantitative, genetische Beziehungen zwischen den grünen und gelben Farbstoffen des Chloroplasten scheinen nicht zu bestehen, vielmehr ist es wahrscheinlich, daß das Schwinden der grünen Pigmente und die Vermehrung oder Verminderung der gelben Prozesse sind, die unabhängig von einander verlaufen. Wenn im Herbst das Blattgrün sich zersetzt und der Stickstoffgehalt des Blattes bis auf kleine Mengen schwindet, vermindert sich bei ungünstiger Witterung auch der Gehalt an Carotin und Xanthophyll, bei günstigen äußeren Bedingungen dagegen kann er eine nicht unbeträchtliche Vermehrung erfahren.

5. In den farblosen Teilen panachierter Blätter fehlen alle 4 Chloroplastenpigmente.

6. Carotin und Xanthophyll sind verschieden empfindlich gegen Licht und hohe Temperatur. Während nach den Angaben der Literatur extrahiertes Xanthophyll leichter zersetzlich durch das Licht ist als Carotin, scheinen die beiden Pigmente im lebenden Blatt ihre Eigenschaften zu tauschen.

Gegen hohe Temperatur ist allem Anschein nach Xanthophyll empfindlicher als Carotin.

7. Aus anthocyanführenden Blättern wird durch Petroläther mit dem Carotin ein Farbstoff extrahiert, der sich beim Verseifen und Auswaschen nicht restlos vom Carotin trennt. Zur Bestimmung des Carotingehaltes in Anthocyan führenden Blättern dürfte sich daher das Petrolätherverfahren nicht eignen.

Die Untersuchungen dieser Arbeit wurden im botanischen Institut der westfälischen Wilhelms-Universität Münster ausgeführt, das von Herbst 1914 bis Ostern 1917 unter der vertretungsweisen Leitung des Herrn Privatdozenten Dr. A. Heilbronn stand. Ihm fühle ich mich zu aufrichtigem Dank verpflichtet für die Anregung zu dieser Arbeit, sein in lebenswürdiger Weise erzeugtes Interesse an derselben und seine wertvollen Ratschläge.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Botanisches Centralblatt](#)

Jahr/Year: 1918

Band/Volume: [BH_35_1](#)

Autor(en)/Author(s): Goerrig Elisabeth

Artikel/Article: [Vergleichende Untersuchungen über den . Carotin- und Xanthophyllgehalt grüner und herbstlich gelber Blätter 342-394](#)