

Über den Einfluß verschiedener mineralischer Ernährung auf den Blattpigmentgehalt (II)

Von

Franz BUKATSCH

Mit 1 Abbildung

(Aus dem Botanischen Institut der Universität München)

Eingelangt am 15. Mai 1951

In einer 1942 erschienenen, ähnlich betitelten Arbeit untersuchte ich den Einfluß von Ca, Mg, P und S einerseits, den der Spurenelemente B und Mn andererseits auf den Chlorophyllapparat und die photosynthetische Leistung junger Getreidepflanzen. Damals wurden die Blattgrünkomponenten a und b noch nicht von mir getrennt. Inzwischen habe ich auf Grund der wohl heute überholten Polemik über den Vorzug der Zucker- bzw. Stärkechromatographie¹⁾ die Kapillaranalyse der Blattfarbstoffe an Stärke verfeinert und die Gleichwertigkeit beider Methoden durch Vergleich am selben Material dargetan (BUKATSCH 1942).

In den Jahren 1942—49, über die Band 12 der „Fortschritte der Botanik“ berichtet, sind einige Arbeiten über den Einfluß mineralischer Ernährung auf das Verhältnis der beiden Blattgrünkomponenten (EICKE 1943), sowie auf den Karotingehalt erschienen (WYND u. NOGGLE 1945, 1946); es konnten dabei aber keine einheitlichen und deutlichen Beziehungen in der hier wesentlichen Richtung herausgestellt werden.

Nach langer Unterbrechung durch den Krieg und seine Folgen konnten nun meine Arbeiten fortgesetzt werden: zunächst galt es, die Chlorophyll a—b-Trennung an Stärke durch geeignete Entwicklung ohne Verlust an Schärfe zu vereinfachen und für Serienanalysen handlicher zu gestalten und zugleich die verlustfreie Erfassung aller Pigmentanteile zu erweisen. Inzwischen hat auch die Erfassung des Karotingehaltes im Hinblick auf neue ernährungsphysiologisch-medizinische Probleme an Interesse wesentlich gewonnen (HAUBOLD, LACKNER u. BUKATSCH 1951). Auch darauf soll im vorliegenden Bericht kurz eingegangen werden, zunächst sei aber mit der Beschreibung der neu ausgearbeiteten Methoden und ihrer Anwendbarkeit begonnen.

¹⁾ Vgl. A. SEYBOLD, 1950: ... „Hie Zucker — hie Stärke! erscheint mir ein überflüssiger Streit... Wer die Chromatographie beherrscht, ... wird mit beiden Chlorophyll a und b quantitativ trennen können.“

M e t h o d i k

a) Feldmäßige Karotin-Schnellbestimmung:

Um an Ort und Stelle eine rasche Orientierung über das bei Weidepflanzen auftretende Karotin (als Vorläufer des Vitamin-A-Gehaltes von Milcherzeugnissen) unter einfachen Bedingungen ohne Anwendung der Chromatographie zu ermöglichen, wurde ein Ausschüttelverfahren in Abänderung der bekannten „Kraus'schen Pigmenttrennung“ mit anschließender Verseifung der grünen Farbstoffanteile ausgearbeitet.

0,5—1 g frisch gewogenen, vorzerkleinerten Blattmaterials werden mit etwas Sand, einigen Tropfen Methanol und portionenweiser Zugabe von insgesamt etwa 100 cm³ Benzin erschöpfend unter Zerreiben im Mörser extrahiert. Der klare grüne Auszug wird nun etwa dreimal mit der gleichen Menge 90% Methanol geschüttelt, bis das Xanthophyll restlos entfernt ist (letzte Alkoholfraktion höchstens ganz blaß gelblich!). Etwa vorhandenes, als Provitamin A teilweise wirksames Kryptoxanthin wird dabei etwa zur Hälfte entfernt; die veresterten Xanthophylle bleiben zunächst im Benzin, werden aber durch die folgende Verseifung praktisch entfernt).

Die grüne Benzinphase wird mit 10—15 cm³ konzent. methanolischer Kalilauge 5 Minuten anhaltend geschüttelt und dabei durch Verseifung die Chlorophylle vollständig aus der Benzinschicht entfernt, so daß diese — nun goldgelb — nur noch das Karotin enthält. Die Benzinphase wird mehrfach zur restlosen Entfernung des Chlorophyllkaliums mit Wasser gewaschen, bis sie rein gelb und vollkommen klar ist, und kann dann unmittelbar gegen den von KUHN und BROCKMANN angegebenen Azobenzolstandard kolorimetriert werden. Zu diesem Zwecke werden 14,5 mg reines Azobenzol in 96% Äthanol gelöst, auf 100 cm³ aufgefüllt; diese Standardlösung ist farbgleich mit einer Benzinlösung, die in 1 cm³ 0,00235 mg Karotin (bzw. 0,00252 mg Xanthophyll) enthält.

Dieser insgesamt etwa 15—20 Minuten beanspruchende Vorgang wurde in mehreren hundert Feldversuchen an verschiedenen Weidepflanzen erprobt, worüber an anderer Stelle berichtet wird; seine Brauchbarkeit wird am Vergleich mit Ergebnissen der kapillaranalytischen Trennung weiter unten beschrieben.

b) Die vereinfachte Chlorophyll a—b-Trennung an Stärke:

Zum Erfolg der Chromatographie von Stoffgemischen ist neben der Wahl des geeigneten Lösungs- und Adsorptionsmittels bekanntlich die Entwicklung von entscheidender Bedeutung. Es galt, einen möglichst einfach zusammengesetzten Entwickler zu finden, der in kürzester Zeit eine reinliche Scheidung der Blattgrünanteile in einem Gang ermöglicht, dabei ist es immer günstig, wenigstens die Hauptmengen von Xanthophyll vorher zu entfernen. In diesem Punkte können wir WENDEL (1950)

nicht beipflichten, der stets von einer vorhergehenden Xanthophyllabtrennung absehen zu können glaubt. Zwar liefert die Stärkechromatographie in vielen Fällen, besonders an jungen Blättern durchgeführt, ohne Xanthophyllentfernung gute Ergebnisse, bei manchen Pflanzen, zumal an älteren Blättern im Herbst, schiebt sich oft eine Vielfalt von Xanthophyllzonen an und zwischen die Blattgrünschichten und stört so eine reinliche Trennung, wie in der folgenden Abbildung gezeigt wird.

Auf die oben beschriebene Benzin-Methanolextraktion der Blattmasse folgt also in gleicher Weise die Xanthophyllabtrennung mit 90%

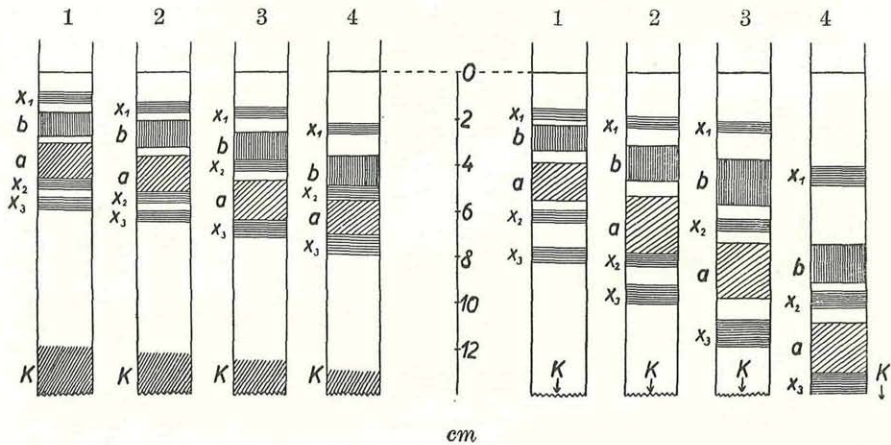


Abb. 1. Stadien der Aufteilung des Rohextraktes alter Brennesselblätter bei Entwicklung mit verschiedenen Benzin-Propanolgemischen; links nach 25 cm³, rechts nach 50 cm³ Entwicklerdurchfluß. 1...0,125%, 2...0,25%, 3...0,5%, 4...1,0% i-Propanol in Benzin.

Methanol, dann wird dieses mit Wasser aus der Benzinschicht ausgewaschen. Die wasserfreie Benzinfraktion wird nun in eine trocken unter Saugung gefüllte Kartoffelstärke säule von etwa 25 cm Länge bei 2 cm Durchmesser eingesogen und sogleich ein Gemisch von Benzin mit 0,2% Isopropanol nachgegossen. Während das Karotin kaum absorbiert wird und abfließt, erfolgt in den oberen Teilen der Säule schon nach kürzester Zeit die Trennung der Blattgrünanteile und ist bei mäßiger Saugung nach 3—5 Minuten Entwicklung beendet. An der halbtrocken gesogenen Säule erfolgt Trennung und Extraktion der Zonen mit peroxydreiem Äthyläther in gewohnter Weise. Darin schließt sich die Auswertung der Farbstärke im Pulfrich-Photometer.

Die Erprobung des geeignetsten Entwicklungsgemisches ist in der obigen Abbildung wiedergegeben, welche verschiedene Stadien der Aufteilung des Rohextraktes alter Brennesselblätter bei Entwicklung mit verschiedenen Benzin-Propanolgemischen darstellen soll. (An jungen Blättern, im Frühling, treten die mit der x_1 und x_2 bezeichneten

Xanthophyllzwischenzonen nicht auf; diese und der Hauptanteil x_3 fallen natürlich bei Vorbehandlung mit 90% Methanol im Chromatogramm weg!)

Unter den verschiedenen erprobten Gemischen ergibt ein Zusatz von etwa 0,2—0,3 Vol-% i-Propylalkohol zum Benzin die besten Entwicklungserfolge.

c) Verlustlosigkeit der beschriebenen Trennungsmethode:

Zur Untersuchung dieses wesentlichen Punktes wurden drei Versuche an verschiedenartigem Material durchgeführt; einer unter Beibehaltung von Xanthophyll, die beiden folgenden nach Entfernung desselben.

2 g Sonnenblumenblätter ergaben 120 cm³ Benzinrohextrakt; diese wurden in 2 gleiche Anteile zu 60 cm³ geteilt, der eine Teil direkt chromatographiert. Dabei wurde nach Durchfluß des Karotins die Vorlage gewechselt, um auch das Xanthophyll, das sich aus methanolischer Lösung (Elution der Xanthophyllzone an Stärke) nur schlecht wieder in Benzin überführen läßt, mit Benzin durchzuwaschen. Leider blieb dabei etwas hartnäckig an der am Grund der Säule befindlichen Abschlußwatte haften und ging damit verloren. Die Chlorophyll a- und b-Zonen wurden getrennt mit Methanol eluiert und nach Zusatz von Wasser quantitativ in Benzin übergeführt. Die Fraktionen wurden zunächst getrennt im Pulfrichphotometer gemessen, dann zusammengegossen, das Volum auf 360 cm³ mit Benzin ergänzt und photometriert (... I).

Der zweite Teil des Rohextraktes wurde ebenfalls mit Benzin auf 360 cm³ aufgefüllt und im Pulfrichphotometer bei Filter S_{66} , S_{64} und S_{47} die Extinktion E'' bei 20 mm Schicht bestimmt (... II).

	Volum:	E_{66}	E_{64}	E_{47}	(Mittel aus 5 Ablesungen)
I	360 cm ³	0,31	0,23	0,58	
II	360 cm ³	0,31	0,23	0,62	

Daraus ergibt sich bezüglich der Blattgrünanteile wohl gute Übereinstimmung; der Fehlbetrag in der Absorption des Blaulichtes (S_{47}) erklärt sich durch Xanthophyllverlust an der Watte. Um dies zu vermeiden wurden im folgenden Versuch mit Löwenzahnblättern 50 cm³ Gesamtauszug mit Methanol vom Xanthophyll befreit und 2 Anteile von je 15 cm³ wie oben beschrieben weiterbehandelt.

Nach Vereinigung der Chromatogrammfractionen ergaben sich 145 cm³ Lösung I; der zweite Anteil Rohauszug auf 145 cm³ aufgefüllt stellte Lösung II dar:

	Volum:	E_{66}	E_{64}	E_{47}
I	145 cm ³	0,20	0,11	0,13
II	145 cm ³	0,20	0,11	0,14

Die nun auch bezüglich der gelben Pigmente befriedigende Übereinstimmung wurde nun noch an einem dritten Versuch mit Frühjahrsblättern des Scharbockskrautes, die sehr reich an gelben Pigmenten sind, erhärtet:

Es wurden wieder 2 Anteile zu 15 cm³ wie oben verarbeitet, die Abweichungen liegen innerhalb der möglichen Ablesefehler:

	Volum:	E ₆₆	E ₆₄	E ₄₇
I	60 cm ³	0,33	0,22	0,41
II	60 cm ³	0,33	0,22	0,40

d) Vergleich der Feldbestimmungsmethode für Karotin (a) mit der Chromatographie an Stärke (b):

Junge Brennesselblätter wurden wie üblich ausgezogen, der Extrakt in 3 gleiche Anteile zu 15 cm³ (I, II, III) aufgeteilt: I direkt, II nach Abtrennen des Xanthophylls chromatographiert und schließlich III nach dem Verseifungsverfahren (a) auf Karotin verarbeitet. Die Karotinfractionen der drei Anteile bei Filter S₄₇ im Stufenphotometer gemessen: E₄₇ (Mittel aus 6 Ablesgn.) I 0,42, II 0,43, III 0,44

In ähnlicher Weise wurden Extrakte junger Scharbockskrautblätter verarbeitet, die Karotinanteile gaben innerhalb der Ablesefehler gut übereinstimmende Extinktion bei Filter S₄₇ (je 21 cm³, 20 mm Schicht):

E ₄₇	II	0,70,	III	0,71
-----------------	--------------	-------	---------------	------

Damit ist erwiesen, daß die einfachere Phasentrennungsmethode auch zuverlässige Ergebnisse zu liefern vermag, die gut mit den kapillaranalytisch ermittelten Werten übereinstimmen; wenn auch die Kolorimetrie der Verseifungsprodukte, der Chlorophylline, nach unseren orientierenden Versuchen möglich ist, bleibt diese doch ungenau. Man wird also die Karotinfeldmethode vorwiegend dann anwenden, wenn es nur auf die Feststellung von Provitamin-A-Gehalten ankommt und Laboratoriumseinrichtung nicht verfügbar ist.

Hauptversuche

a) Kernnährstoffeinfluß auf Klee- und Graskulturen in Mitscherlichgefäßen.

Im Zusammenhang mit Reihenuntersuchungen über die Vitamin-A-Versorgung der Landbevölkerung im bayerischen Voralpengebiet (Kreis Murnau) wurden im Spätsommer 1949 zahlreiche Pigmentanalysen an Wiesenpflanzen, die als Milchviehfutter dienten, durchgeführt und dabei Anhaltspunkte dafür gewonnen, daß neben den klimatischen Bedingungen vor allem die Vorbehandlung der Weiden, insbesondere ihre Düngung, die Pigmentgehalte der Pflanzen entschieden beeinflusst. Da aber diese orientierenden Feldversuche, über die an anderer Stelle be-

richtet wird, botanisch nicht so interessant waren, insofern, als die Düngungsvorgeschichte nicht wissenschaftlich exakt zu fassen war und eine Vielzahl von Einwirkungen mitspielte, wurden für 1950 Gefäßdüngungsversuche an kennzeichnenden Weidepflanzen unter möglichst gleichen Bedingungen geplant.

Tabelle 1

Pigmentwerte (bei der Kontrolle in mg/g, bei den übrigen Düngungsarten darauf bezogen in %)

Pflanze und Kulturdauer	Blattfarbstoff	normal (Kontr.)	K/4	4 K	N/4	4 N	P/4	4 P	Jauche
Rotklee (1 Mon.)	Chl. a	2,18	105	91	90	110	107	89	103
	Chl. b	1,06	102	92	92	111	100	73	110
	Kar.	0,23	96	85	65	120	120	103	95
Rotklee (2 Mon.)	Chl. a	1,96	120	96	88	114	118	92	117
	Chl. b	0,91	112	98	86	106	110	93	110
	Kar.	0,19	89	88	100	93	90	128	93
Weißklee (1 Mon.)	Chl. a	2,07	98	84	89	108	102	91	109
	Chl. b	0,95	97	94	96	104	92	93	114
	Kar.	0,20	90	76	71	118	115	103	111
Weißklee (2 Mon.)	Chl. a	2,79	102	88	95	95	104	87	101
	Chl. b	1,12	108	97	107	108	125	95	108
	Kar.	0,21	91	85	85	112	78	122	95
Raygras (1½ Mon.)	Chl. a	1,25	142	81	87	129	109	97	108
	Chl. b	0,50	136	82	95	126	110	96	118
	Kar.	0,11	85	82	79	144	112	100	109
Raygras (2½ Mon.)	Chl. a	0,97	—	100	66	220	113	105	105
	Chl. b	0,32	—	100	65	212	110	109	100
	Kar.	0,12	—	75	86	139	106	105	103
Wiesenhafer (1½ Mon.)	Chl. a	1,03	106	78	68	134	120	100	118
	Chl. b	0,50	106	74	66	122	112	98	106
	Kar.	0,15	84	68	40	132	132	108	92
Wiesenhafer (2½ Mon.)	Chl. a	1,18	116	94	77	146	184	80	103
	Chl. b	0,45	116	100	82	142	183	82	100
	Kar.	0,16	98	97	98	201	182	200	99

Durch freundliches Entgegenkommen der Landesanstalt für Pflanzenschutz und Pflanzenbau München wurden diese Versuche unter Mitwirkung von Herrn cand. rer. nat. LUGER und Fräulein Dipl.-Landw. TROJAN am Versuchsgut Nederling in München ermöglicht. Neben

den Genannten gilt mein besonderer Dank Herrn Reg.-Rat Dr. BÖNING, der durch Bereitstellung von Arbeitskräften und Arbeitsmitteln die Arbeit wesentlich förderte.

Die Mitscherlichtöpfe wurden mit Quarzsand der Amberger Kaolinwerke unter geringem Torfzusatz gefüllt. Dieser sehr nährstoffarme Boden erhielt folgende Normaldüngung (pro Gefäß):

1,6 g KCl, 3,4 g NH_4NO_3 , 1,1 g $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, 1,5 g MgSO_4 , 3,6 g CaCO_3 und 0,4 g FeSO_4 .

Daneben wurden Versuche mit jeweils $\frac{1}{4}$ und der vierfachen Gabe an N, P und K, sowie zum Vergleich eine an Gesamtstickstoff (Kjeldahl) gleiche Jauchedüngung durchgeführt; die Kulturen standen nebeneinander im selben Versuchsgewächshaus und wurden gleichmäßig mit Regenwasser versorgt. Versuchsbeginn: Mitte Mai 1950; Ernte jeweils nach 1 ($1\frac{1}{2}$), bzw. 2 ($2\frac{1}{2}$) Monaten. Dabei wurden aus Blättern von je 10 Pflanzen Mischproben hergestellt und je 1 g frische Blattmasse nach der oben angeführten Methode (b) chromatographisch auf ihre Pigmentanteile verarbeitet.

Die Tabelle 1 stellt die wesentlichsten Ergebnisse zusammen, wobei neben dem Absolutwert (in mg/g Frischgewicht) der Kontrolle der Übersichtlichkeit halber die anderen Werte in Prozenten desselben dargestellt sind (Kontrolle = 100%).

Die mittlere Fehlerbreite der Chlorophyll-a-Bestimmung beträgt etwa 4,7%, beim Chlorophyll b 2%, beim Karotin rund 3,2%; dies ist für die Beurteilung der Ausschläge unter Mangel- und Überschußdüngung wichtig.

In der Chlorophyllbildung sprechen die Gräser auf Stickstoffunterschiede in der Düngung wesentlich stärker an als der Klee; auch der Kali-Einfluß prägt sich bei ihnen stärker aus, derart, daß Kalimangel den Blattgrüngehalt gegenüber Kaliüberschuß deutlicher erhöht als beim Klee.

Phosphormangel wirkt sich — in Übereinstimmung mit unseren früheren Befunden (1942) — auf die Blattgrünbildung erhöhend, reichliche Phosphorversorgung aber fast stets senkend aus.

Der Karotinspiegel folgt nicht immer den Veränderungen im Chlorophyllgehalt; so ist z. B. die Vermehrung des Blattgrüns über den Wert der Kontrolle bei Kalimangel nicht von einem Anstieg des Karotins, sondern eher von einer leichten Senkung unter die Norm begleitet. Andererseits entspricht aber der Blattgrünsenkung durch Kaliüberschuß auch in der Regel ein geringerer Gehalt an gelbem Pigment.

Stark wird der Karotingehalt von der Stickstoffgabe beeinflusst: Stickstoffmangel senkt den Wert meist weit unter die Kontrolle; reichliche Stickstoffversorgung fördert beim Klee (der wie oben erwähnt in seiner Blattgrünbildung weniger von der Stickstoffmenge abhängt als die Gräser), den Gehalt an gelbem Pigment stärker als an grünem. Aber

auch bei den Gräsern ist reichliche N-Versorgung mit einem entsprechenden Karotinanstieg verbunden.

Die Phosphordüngewirkung auf das Karotin ist uneinheitlich; meist fördert P-Mangel die Karotinbildung in ähnlichem Ausmaß wie die des Blattgrüns, doch nicht immer. Der die Chlorophyllmenge meist drückende Phosphorüberschuß wirkt sich auf das Karotin in vielen Fällen recht günstig aus, zumal bei später Ernte.

Wir sehen aus dem Ergebnis dieser Versuchsreihe, daß sowohl Blattgrün- wie auch Karotingehalte der Blätter von der gebotenen Menge an Kernnährstoffen beeinflußt werden, nicht immer aber im gleichen Sinne. Die zum Vergleich in der letzten Spalte der Tabelle angeführte Jauchedüngung mit gleicher Gesamtstickstoffmenge wie die Normaldüngung zeigt gegenüber der Kontrolle wenig ausgeprägte Unterschiede, teilweise eine leichte Förderung.

Das Verhältnis der Chlorophyllkomponenten zueinander, das bei unseren Pflanzen einen Quotienten $a/b = 2,2-3$ aufweist, also ziemlich niedrig liegt, verschiebt sich nicht wesentlich durch den Düngereinfluß; mitunter ist bei Anstieg des Gesamtblattgrüngehaltes ein leichtes Vorauseilen der a-Komponente zu verzeichnen, zumal bei 4 N- und P/4-Düngung.

Nebenbei sei hier nur vermerkt, daß mit Chlorophyllvermehrung bei K/4- und P/4-Gabe in der Regel ein erhöhter Vitamin-C-Spiegel einhergeht, worüber LUGER berichten wird.

b) Wirkung von Mineralstoffmangel auf den Blattfarbstoffgehalt von *Tradescantia laekenensis* in Wasserkultur:

Aus Stecklingen von *Tradescantia laekenensis* wurden an Hand der Angaben von STOCKER (1942) Wasserkulturen hergestellt und drei Monate im Gewächshaus gezogen. Die Nährlösungen hatten folgende Zusammensetzung (für 1 Liter Wasser):

Normal (Kontr.): 2,5 g Calciumnitrat, 0,6 g prim. Kaliumphosphat, 0,5 g Magnesiumsulfat, Spur Ferrosulfat.

Normal + „Spurenelemente“: ebenso, dazu noch 1 cm³ Hoagland AZ-Lösung.

Ohne Kali: 2,5 g Calciumnitrat, 0,7 g sek. Magnesiumphosphat, 0,5 g Magnesiumsulfat, Spur Ferrosulfat.

Ohne Stickstoff: 1,8 g Calciumsulfat, 0,6 g prim. Kaliumphosphat, 0,5 g Magnesiumsulfat, Spur Ferrosulfat.

Ohne Phosphor: 2,5 g Calciumnitrat, 0,4 g Kaliumsulfat, 0,5 g Magnesiumsulfat, Spur Ferrosulfat.

Ohne Magnesium: 2,5 g Calciumnitrat, 0,6 g prim. Kaliumphosphat, 0,4 g Kaliumsulfat, Spur Ferrosulfat.

Ohne Calcium: 2,9 g Kaliumnitrat, 0,6 g prim. Kaliumphosphat, 0,5 g Magnesiumsulfat, Spur Ferrosulfat.

Ohne Eisen: wie die Kontrolle, doch unter Wegfall von Ferrosulfat.

Rein äußerlich betrachtet, fiel zunächst die üppige Entwicklung der Pflanzen mit Spurenelementzusatz auf, die alle anderen an Blattmasse weit überflügelten, dabei aber etwas blasser grün als die Kontrollen erschienen. Bleiches Aussehen zeigten (in abnehmender Stärke) die Fe-, N- und Mg-Mangelkulturen; die N-Mangelkulturen waren dabei recht kümmerlich und gleichmäßig grüngelb, Fe-Mangel äußerte sich bei verhältnismäßig reicher Blattentwicklung in blasser, stellenweise fast weißlicher Blattfarbe. Die Ca- und K-Mangelpflanzen zeigten bei

Tabelle 2

Art der Düngung:	Chloroph. a		Chloroph. b		Karotin	
	I	II	I	II	I	II
Normal + Spurenelemente	785 (93)	236	205 (90)	61	74 (93)	22
Normal (Kontrolle)	844 (100)	298	228 (100)	81	80 (100)	28
ohne Kalium	810 (96)	230	274 (120)	77	82 (103)	23
ohne Stickstoff	350 (42)	112	67 (29)	20	49 (61)	16
ohne Phosphor	880 (104)	242	206 (90)	57	97 (121)	27
ohne Magnesium	595 (71)	176	124 (55)	37	67 (84)	20
ohne Calcium	780 (92)	226	219 (96)	85	71 (89)	20
ohne Eisen	254 (30)	79	68 (30)	21	22 (28)	7

spärlichem Wachstum normalgrünes, die P-Mangelkulturen bei kleinbleibenden Blättern besonders tiefgrünes Aussehen. Es ist bei den spärlich wachsenden Mangelkulturen stets zu beachten, daß vom Körper des Stecklings her Mineralstoffreserven vorhanden waren und durch geringe Neubildung von Pflanzenmasse keine sehr wesentliche Verarmung („Verdünnung“) eintrat; man kann daher hier von keinem absoluten Nährstoffmangel, sondern nur von einem relativen sprechen. Dies dürfte auch der Grund dafür sein, daß wir bei Kalimangel nie die Chloroseerscheinungen erhielten, die mehrfach beschrieben wurden (PIRSON 1937, 1938).

Zur Analyse wurden jeweils zehn runde Scheibchen mit dem Korkbohrer (Fläche: 2,84 cm²) von je zwei Kulturen gleicher Düngungsart entnommen, fünf gewogen und in bekannter Weise mit Benzin-Methanol extrahiert und chromatographiert. Die restlichen fünf Scheibchen wurden getrocknet (eine Woche bei 105° C) und nach Trockengewichtsbestimmung im Mikrokjeldahl auf Gesamtstickstoff untersucht. Dieser Vorgang ermöglicht die Beziehung der Pigmentgehalte auf Fläche, Frisch- und Trockensubstanz, schließlich auch auf den Stickstoffgehalt der Proben.

Tabelle 2 bringt in den Spalten „I“ die Gehalte in Gamma/g Frischmasse, in den Spalten „II“ die Werte bezogen auf 10 cm² Blattfläche;

dabei sind in Spalte I in Klammern die Prozentualwerte bezogen auf die Kontrolle (= 100%) angeführt.

Betrachten wir zunächst die auf das Frischgewicht bezogenen Pigmentmengen: Eisenmangel senkt am ausgesprochensten alle Pigmentanteile, Chlorophyll a und b im gleichen Maß, besonders deutlich den Karotingehalt. Die „Chlorose“ erstreckt sich demnach auch auf das Karotin; damit scheint das Eisen nicht nur für die Blattgrünbildung, sondern ebenso für die Karotinsynthese wichtig zu sein. Sehr stark betroffen sind auch die Stickstoffmangelpflanzen, dabei leidet die Bildung von Chlorophyll a etwas weniger als die von Chlorophyll b; das Karotin erreicht immerhin noch mehr als die Hälfte des Normalgehaltes.

Auch beim Magnesiummangel sind die Blattfarbstoffe allgemein vermindert, am deutlichsten wieder der b-Anteil des Blattgrüns. Die Karotinbildung ist weniger gehemmt als die der Chlorophylle.

Der Fortfall von Kalksalzen in der Nährlösung hat einerseits schlechteres Wachstum, geringere Widerstandskraft verbunden mit leichtem Welken zur Folge, wirkt sich andererseits auf die Pigmentbildung nur geringfügig aus: die Werte liegen nur wenig unter der Norm. So wenig, daß die üppig gedeihenden, mit Spurenelementen (AZ-Lösung) versorgten Pflanzen etwa die gleichen, leicht gesenkten Pigmentmengen aufweisen. Die Stimulation des Wachstums erstreckt sich bei diesen nicht auf die Pigmentbildung, man hat fast den Eindruck, daß diese hinter der raschen Bildung neuer Blattmasse nachhinkt.

Phosphor- und Kalimangel sind auf die Blattgrünbildung nicht von einheitlicher Wirkung, deutlich tritt aber — in Übereinstimmung mit unseren geschilderten Gefäßkulturversuchen — eine Karotinförderung durch Phosphormangel zutage.

Auf die Blattfläche bezogen, treten die Förderungen nicht mehr auf, wohl aber die Hemmungen hervor; hier zeigt sich deutlich die Abhängigkeit des Ergebnisses von der Wahl der Bezugsgröße. Zur weiteren Untersuchung dieses Umstandes seien nun noch die auf Trockengewicht, bzw. auf den Gesamtstickstoffgehalt bezogenen Werte angeführt; vorerst sei noch darauf hingewiesen, daß das mittlere Trockengewicht unserer Proben 6,3—7,9% der Frischmasse ausmacht. Am wasserreichsten waren die Normalkulturen mit Spurenelementzusatz (Trockenmasse etwas unter 6% des Frischgewichtes). Den höchsten Trockengewichtsanteil (8,5% des Frischgewichtes) wiesen die Phosphormangelblätter auf.

Der Stickstoffgehalt, bestimmt nach nasser Veraschung mit Schwefelsäure unter Perhydrolzusatz im Apparat nach PARNAS-WAGNER, belief sich auf rund 3—4% des Trockengewichtes, war auffallend hoch bei den Kalimangelpflanzen mit 4,4%. Dies weist in Richtung des Kali-Stickstoffantagonismus im Sinne von GASSNER und GOEZE (1934) hin und

könnte auch erklären, warum wir bei rel. Kalimangel kaum Verminderung der grünen Blattfarbstoffe finden, dagegen eine deutliche Abnahme derselben in den vorher beschriebenen Gefäßversuchen mit Kaliüberschußdüngung. Die Kontrolle ohne Spurenelemente übertrifft mit mehr als 4% N die mit AZ-Zusatz ernährten Blätter.

In der folgenden Tabelle 3 sind in den Spalten III die Farbstoffmengen auf 10 mg Trockenmasse, in den Spalten IV auf jeweils 1 mg Stickstoff bezogen.

In Klammern bringt Tabelle 3 die auf die normal ernährte Kontrolle bezogenen Prozentanteile.

Tabelle 3

Art der Düngg.	Chloroph. a		Chloroph. b		Karotin	
	III	IV	III	IV	III	IV
Normal m.						
Spurenel.	133(87)	331(102)	34,5(84)	85(98)	12,4(86)	30,7(100)
Normal o.						
Spurenel.	154(100)	323(100)	41 (100)	87(100)	14,4(100)	30,6(100)
ohne Kalium	108(70)	239(74)	36,6(89)	81(93)	11,0(76)	24,3(79)
ohne Stickstoff	56(36)	386(119)	10,6(25)	73(84)	7,8(54)	53,7(175)
ohne Phosphor	107(70)	319(99)	24 (59)	74(85)	11,5(80)	35,2(115)
ohne Magnesium	84(55)	272(84)	17,6(43)	57(65)	9,5(66)	30,5(100)
ohne Calcium	99(66)	302(94)	37 (90)	113(128)	9,0(63)	27,4(90)
ohne Eisen	43(28)	110(34)	11,4(28)	29(33)	3,6(25)	9,2(30)

In Hinblick auf beide Bezugsgrößen wirkt sich Kalimangel leicht senkend auf alle Pigmente aus; Phosphormangel zeigt bei Bezug auf die Trockenmasse deutlichere Blattgrünenkung als auf den Stickstoffgehalt berechnet. Deutlich tritt hinsichtlich beider Bezugsgrößen die relative Karotinvermehrung bei Phosphormangel in Erscheinung.

Besonders interessant ist hier das Verhalten der Pigmentmengen bei Stickstoffmangel: während, bezogen auf die Trockenmasse, die starke Pigmenthemmung erhalten bleibt, kehrt sie sich bei Bezug auf den Stickstoffgehalt der Blätter geradezu in einen Mehrgehalt um! Diese Umkehr der Verhältnisse weist darauf hin, daß bei geringem Stickstoffangebot dieses Nährelement an anderen Zellbausteinen eher eingespart wird als an der Pigmentausrüstung der Chloroplasten; besonders erhöht erscheint bei Bezug auf den Stickstoffgehalt der Karotinanteil.

In allen Fällen ist die Hemmung der Pigmentbildung durch Magnesiummangel deutlicher ausgeprägt als bei geringer Kalkversorgung. Bemerkenswert erscheint auch der Umstand, daß sich die Eisenchlorose in allen Fällen, fast unabhängig von den von uns gewählten Bezugsgrößen,

in der Senkung aller Pigmentanteile auf ein Drittel bis ein Viertel des Normalwertes ausdrückt.

Wesentlich erscheint schließlich, daß in unseren Gefäß- und Wasserkulturversuchen die Karotingehalte durch geringe Phosphatversorgung in der Regel nicht leiden, z. T. sogar leichte Förderung erfahren. Die eindeutige Entscheidung dieser vielleicht wichtigen Frage erfordert aber noch Ausdehnung der Versuche auf weitere Objekte. Wie wir aber schon 1942 anlässlich der Besprechung der Phosphatdüngewirkung betonten, dürfen wir nicht unbeachtet lassen, daß Phosphormangel durch Wachstumshemmung schließlich zu Ertragsminderungen führt.

Mit Ausnahme der Eisenmangelerscheinungen, sind die bei Bezug auf Frisch-, Trockengewicht und Blattfläche deutlich ausgeprägten Pigmentverminderungen durch verschiedenen Mineralstoffmangel bezüglich des Gesamtstickstoffgehaltes stark gemildert; ein Hinweis darauf, wie sehr die Wahl der Bezugsgröße die Versuchsergebnisse zu beeinflussen vermag. Dieser Umstand läßt aber auch darauf Schlüsse zu, daß die Pigmentausbildung mehr der Stickstoffaufnahme als dem Gang der anderen Bezugsgrößen folgt.

Der Quotient Chlorophyll a/b liegt bei unseren *Tradescantia*-Wasserkulturen, normal gedüngt, mit oder ohne Spurenelementzusatz, um 4 (3,7—3,9); er erweist sich naturgemäß nicht abhängig von der Art der Bezugsgröße. Ein gewisser Einfluß der Mineraldüngung ist jedoch bemerkbar: bei Magnesium- und besonders bei Stickstoffmangel steigt er auf etwa 5, andererseits ist er bei Kalimangel auf rund 3 gesenkt. Eisenchlorose wirkt sich auf das Komponentenverhältnis nicht aus ($a/b = 3,8$). Wenn sich an weiteren Versuchen die Quotientenerhöhung bei geringem N- und Mg-Angebot erhärten läßt, bedeutet dies, daß bei Mangel an den strukturnotwendigen Bauelementen N und Mg die blau-grüne Chlorophyllkomponente in ihrer Ausbildung weniger leidet als die gelbgrüne.

Zusammenfassung der wesentlichen Befunde

1. Es wird eine einfache Feldmethode mit geringem Gerätebedarf zur Schnellbestimmung des Karotin-(Provitamin-A-)Gehaltes von Blättern beschrieben, die mit 0,5—1,0 g Frischmaterial das Auslangen findet.
2. Die Entwicklungstechnik der Blattpigmenttrennung an Stärke wird durch Einführung geeigneter Benzin-i-Propylalkoholgemische vereinfacht und rascher gestaltet.
3. Die beiden Arbeitsweisen werden gegeneinander und auf Verlustfreiheit geprüft. Die Übereinstimmung der Extinktionswerte im Stufenphotometer (bei Filter S_{66} , S_{64} und S_{47}) von frischem Gesamtextrakt und der nach Chromatographie vereinigten Auszüge erweist die Verlustfreiheit der beschriebenen kapillaranalytischen Trennmethode.

Die gute Übereinstimmung der Extinktionswerte im Blau, der einerseits durch Ausschütteln, andererseits chromatographisch erhaltenen Karotinanteile erhärtet die Brauchbarkeit der Schnellbestimmungsmethode.

4. Mit Hilfe der Kapillaranalyse wurden Gefäßkulturen von zwei Kleearten (*Trifolium pratense* und *repens*) und zwei Gräsern (*Lolium perene* und *Avena elatior*), die unterschiedliche Kernnährstoffgaben erhielten, in monatlichen Ernteabständen auf den Gehalt an Karotin und den beiden Blattgrünanteilen untersucht. Tabelle 1 mit anschließender Besprechung vermittelt Einblick in die erzielten Ergebnisse.

5. Mit gleicher Arbeitsweise wurden drei Monate alte Wasserkulturen von *Tradescantia laekenensis* auf Pigmentgehalte untersucht. Danach erscheint das Eisen nicht nur zur Chlorophyllausbildung, sondern auch zur Karotinsynthese wichtig. Das üppige Wachstum durch Spurenelementzusatz (AZ-Lösung nach HOAGLAND) äußert sich in höherem Wassergehalt und wird nicht von einer besseren Ausbildung der Blattfarbstoffe begleitet. Eine eingehendere Behandlung der Ergebnisse findet sich im Anschluß an die Tabellen 2 und 3.

6. Die Bezugsgröße (Frisch-, Trockengewicht, Blattfläche und Gesamtstickstoffgehalt) ist von wesentlichem Einfluß auf die Ergebnisse; besonders eindrucksvoll tritt dies an den Pigmentgehalten der N-Mangelblätter bei Bezug auf den Stickstoffgehalt hervor: trotz geringer Pigmentmengen sind die auf Blattstickstoffgehalt bezogenen Blattfarbstoffwerte höher als bei den übrigen Kulturen. Dies weist darauf hin, daß bei Stickstoffunterernährung der photosynthetisch wichtige Farbstoffapparat der Chloroplasten auf Kosten anderer Zellbestandteile geschont wird.

7. Bei Eisenmangel erscheinen die Pigmentgehalte unabhängig von der Bezugsgröße gegenüber normaler Düngung auf ein Drittel bis ein Viertel herabgesetzt. Eisenchlorose bleibt aber auf das Chlorophyll-a/b-Verhältnis ohne Einfluß.

8. Der Ausfall der Wasserkulturversuche mit *Tradescantia* scheint darauf hinzuweisen, daß bei Mangel an dem für die grünen Pigmente als Bauelemente wichtigen Stickstoff und Magnesium der Quotient zugunsten von Chlorophyll a verschoben ist. Dies kann so gedeutet werden, daß die blaugrüne Komponente unter diesen Bedingungen gegenüber der gelbgrünen bevorzugt gebildet wird. Die Versuche werden noch fortgesetzt.

Erwähnte Literaturstellen

BUKATSCH, F., 1942: Über den Einfluß verschiedener mineralischer Ernährung auf den Blattpigmentgehalt und die Photosynthese junger Getreidepflanzen. Jb. wiss. Bot. 90, 293.

— 1942: Z. ges. Naturwiss., 8, 79.

- EICKE, R., 1943: Dissertation Berlin (zit. n. A. PIRSON, 1949. Fortschr. Bot. 12, 247).
- GASSNER, G. u. GOEZE, G., 1934: Assimilationsverhalten, Chlorophyllgehalt und Transpirationsgröße von Getreideblättern mit besonderer Berücksichtigung der Kalium- und Stickstoffernährung. Z. Bot. 27, 257.
- HAUBOLD, H., LACKNER, F. u. BUKATSCH, F., 1951: Klin. Wschr. 29, 450.
- PIRSON, A., 1937: Ernährungs- und Stoffwechselphysiologische Untersuchungen an *Fontinalis* und *Chlorella*. Z. Bot. 31, 193.
- PIRSON, A. u. SEIDEL, FR., 1938: Zell- und Stoffwechselphysiologische Untersuchungen an der Wurzel von *Lemna minor* L. unter besonderer Berücksichtigung von Kalium- und Kalziummangel. Planta 29, 231.
- SEYBOLD, A., 1950: Planta 38, 601.
- STOCKER, O., Pflanzenphysiologische Übungen, Jena.
- WENDEL, K., 1950: Planta 38, 603.
- WYND, F. L. u. NOGGLE, G. R., 1945: Food Research 10, 525 (zit. n. PIRSON, A., 1949: Fortschr. Bot. 12, 247).
- — 1946: Food Research 11, 358 (zit. n. PIRSON, A., 1949: Fortschr. Bot. 12, 247).

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn](#)

Jahr/Year: 1951

Band/Volume: [3_3_4](#)

Autor(en)/Author(s): Bukatsch Franz

Artikel/Article: [Über den Einfluss verschiedener mineralischer Ernährung auf den Blattpigementgehalt. 173-186](#)