

PHYTON

ANNALES REI BOTANICAE

VOL. 5. FASC. 1. et 2. PAG. 1—188

16. XII. 1953

Über die Tagesrhythmik des Vitamin C-Gehaltes in Blättern

Von

Ulrich HAGEN

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität München)

Mit 1 Abbildung

Eingelangt am 6. September 1952

Beobachtungen aus der Stoffwechselfysiologie zeigten, daß die Ascorbinsäure (Vitamin C) Eigenschaften von primären und von sekundären Pflanzenstoffen aufweist. So zählt sie PAECH zu den sekundären, da sie in größeren Mengen nur in autotrophen Pflanzen vorkommt, ferner in gewissen Früchten enorm angehäuft wird, in anderen wieder ganz fehlt. Andere Beobachtungen weisen jedoch auf eine enge Verwandtschaft mit den Kohlehydraten als primären Pflanzenstoffen, so die chemische Konstitution und der enge Zusammenhang zwischen Licht und Vitamin C-Gehalt (ÅBERG, MOLDTMANN, BASHIR). Ferner wurden kurzfristige Schwankungen des Vitamin C-Gehaltes festgestellt (MOLDTMANN, BUKATSCH 1943 a, KIRCHHEIM), die einen gleichmäßigen tagesrhythmischen Verlauf des Vitamin C-Gehaltes in Blättern wahrscheinlich machten. SEYBOLD und MEHNER glauben, daß die tageszeitlichen Unterschiede so gering seien, daß sie nur schwer erfaßt werden können. Auch BONETTI findet, abgesehen von einer kleinen Abnahme am Ende des Tages, keine Tagesrhythmik.

Es ist zu erwähnen, daß jahreszeitliche Unterschiede so gut wie gesichert sind (KIRCHHEIM, BUKATSCH 1943 a, SEYBOLD und MEHNER, MOSER). Dazu ist auch die jeweils herrschende Wetterlage von Bedeutung. Bei schönem sonnigen Wetter ist der Vitamin C-Gehalt höher als bei trübem, regnerischen. Dies beobachteten übereinstimmend MOLDTMANN, KIRCHHEIM, BUKATSCH 1943 a, MEDAWARA und MOSER.

Neben der Frage, ob kurzfristige Schwankungen des Vitamin C-Gehaltes vorkommen, und ob sie eine Tagesrhythmik zeigen, legten auch noch andere Gründe diese Untersuchung nahe: Auch in der Stoffwechselfysiologie werden zur Zeit bei der Untersuchung der endogenen

N: 32/1954

Rhythmik der Pflanze neue Erkenntnisse gewonnen (BÜNNING, EHRENBURG, SCHMITZ). Durch den Vergleich der Ergebnisse anderer Autoren mit den eigenen soll versucht werden, zu beantworten, ob die Ascorbinsäure mit anderen endogenen Rhythmen verbunden ist oder nicht.

Methodik

Es wird im folgenden abgekürzt: Ascorbinsäure = reduzierte Form des Redoxsystems = AS — Dehydroascorbinsäure = oxydierte Form = DAS — Vitamin C = Gesamtascorbinsäure = (AS + DAS) = VC.

1. Die Bestimmung der Ascorbinsäure. 8—10 Blätter wurden von etwa 2—5 Einzelpflanzen gesammelt und in einer mit feuchtem Filterpapier ausgelegten Petrischale ins Laboratorium gebracht. Sie wurden gewogen und mit einem Korkbohrer wurden 10 Blattstückchen von je 4,14 qcm Oberfläche ausgestochen. Diese kamen sofort in einen Mörser und wurden mit 2 ccm 20%iger Metaphosphorsäure und Quarzsand fein zerrieben. Die Blattreste wurden nochmals gewogen und das Gewicht der Blattstückchen errechnet (meist 700—1000 mg). In einigen Fällen, bei denen das Ausstechen nicht möglich war, verwendeten wir die ganzen Blätter und zerrieben sie ohne vorherige Zerkleinerung.

Der Mörserinhalt wurde mit 18 ccm Aqua dest. verdünnt und unter Umrühren 10 Minuten stehen gelassen. (Jede Flasche Aqua dest. wurde vor Gebrauch durch einen Blindversuch auf störende reduzierende Substanzen geprüft.) Der Extrakt wurde durch eine Porzellannutsche mit Papierfiltereinsatz abgesaugt, was selbst bei stark schleimhaltigen Pflanzen wie *Tilia* oder *Tropaeolum* in 2 bis 3 Minuten gelang. Von dem Filtrat, meistens etwas weniger als 20 ccm, wurden 8 ccm zur AS-Bestimmung titriert, 8 ccm zur Bestimmung des VC-Gehaltes verwendet. Die Titration erfolgte aus einer Mikrobürette mit einer 0,2%igen 2-6-Dichlorphenolindophenol-Lösung (n/100). Sie war als beendet anzusehen, wenn eine deutliche Rosafärbung 10 Sekunden bestehen blieb. Die Bereitung und das Einstellen der Farblösung erfolgte auf die übliche Weise. Allwöchentlich wurde der Titer neu eingestellt, änderte sich aber in der Zwischenzeit nur um 2—3%.

Zu dieser Bestimmungsmethode ist folgendes zu bemerken: Es kam uns besonders darauf an, möglichst rasch zu arbeiten, um eine Oxydation der Ascorbinsäure tunlichst zu verhindern. In einem abgeschnittenen unverletzten Blatt hält sich die AS noch ziemlich lange. Verletzt man aber das Blatt, so wird die AS im Gewebe sehr rasch oxydiert (siehe auch SEYBOLD und MEHNER). Wir verzichteten daher auf eine vorherige mechanische Zerkleinerung, wählten auch die Methode der doppelten Wägung. So vergingen nach dem Austechen nur wenige Sekunden, bis die AS durch die Metaphosphorsäurelösung wieder vor der Oxydation geschützt wurde. Ebenso beschleunigte das Absaugen der Lösung wesentlich den Arbeitsgang.

Im Gegensatz zu den meisten anderen Autoren verwendeten wir den Farbstoff in n/100-Lösung, nicht in n/1000. Der Endpunkt der Titration ist so um ein vielfaches schärfer (BUKATSCH 1943 a). Nach LAUERSEN und ORTH reduziert die AS diesen Farbstoff fast augenblicklich, sodaß sie empfehlen, die Titration schon zu beenden, wenn die Rosafärbung 10 Sekunden bestehen

bleibt, nicht erst nach 30 Sekunden, wie sonst angegeben wird. Störende reduzierende Substanzen können andernfalls die Titration beeinflussen.

2. Die Bestimmung der Dehydroascorbinsäure. Es wurde nun der VC-Gehalt bestimmt und der DAS-Gehalt aus der Differenz zum AS-Gehalt berechnet: 8 ccm des Filtrates wurden mit reichlich Aqua dest. verdünnt und dann 15—20 Minuten mit Schwefelwasserstoff behandelt; es wurde darauf geachtet, daß der Gasstrom ständig durch die Lösung hindurchperlte. Nach der Reduktion wurde wieder angesäuert und der in Lösung befindliche Schwefelwasserstoff mit einem kräftigen Kohlensäurestrom vertrieben. Dies solange, bis im entweichenden Gas bei Prüfung mit Bleiacetapapier kein Schwefelwasserstoff mehr nachweisbar war. Anschließend wurde titriert. Ob in der lebenden Pflanze neben der AS auch noch DAS vorliegt, ist noch sehr umstritten. Bei einer unsachgemäßen Aufarbeitung des Materials geht sicher ein großer Teil der AS in DAS über, so daß bei verschiedenen AS-Bestimmungsmethoden auch unterschiedliche DAS-Werte erhalten werden (siehe auch SOUCI). GÜNTHER 1943, BUKATSCH 1943 a, EISELE und MOSER fanden DAS-Werte, die nur 10—15% des AS-Gehaltes betrugten. SCHWARZE und GÜNTHER haben von der Bestimmung der DAS ganz Abstand genommen, sie glauben auch, daß durch die H_2S -Behandlung im Pflanzenextrakt reduzierende Substanzen neugebildet werden, die bei der VC-Titration zu hohe Werte vortäuschen. Ähnliche Vermutungen äußern auch GÜNTHER 1944 und OTT, sowie HALDEN, CMEL und SCHAUENSTEIN, die spektroskopische Vitamin-C-Bestimmungen durchführten.

SEYBOLD und MEHNER halten eine Gesamtbestimmung des Vitamin C für unerlässlich, der DAS-Gehalt, den sie durch ihre Methode bekommen, ist auch wesentlich höher als bei vielen anderen Autoren. Nach EMMERIE und VAN EKELEN oxydieren sie die gesamte AS mit Mercuriacetat zu DAS und reduzieren 18 Stunden mit Schwefelwasserstoff. Um sicher zu gehen, bestimmten wir den VC-Gehalt nach SEYBOLD und MEHNER in einigen Tagesgängen und hielten uns dabei genau an die dort angegebene Vorschrift.

Die Fehlergrenze (c) unserer Bestimmungsmethode beträgt etwa 3%, berechnet aus einem Wiegefehler von 1%, einem Pipettierfehler von 0,2% und einem Titrierfehler von 1,5%. Die Fehlergrenze (d) der DAS-Werte ist aber viel höher, sie ist auch von dem Prozentsatz des DAS-Wertes, bezogen auf den VC-Gehalt, abhängig. Sie berechnet sich aus der Formel: $d = \frac{a+b}{a-b} c$, wobei a der VC-Wert, b der AS-Wert und c die obengenannte Fehlergrenze ist. d beträgt bei 5% DAS: 108% und bei 10% DAS: 52,7%. Als Bezugssystem wählten wir das Frischgewicht und berechneten in mg pro 100 g (mg%). Ferner bezogen wir auf die Blattfläche und berrechneten in mg pro 100 qcm. Es ist zu bemerken, daß die Fehlergrenze der Oberflächenbestimmung zuweilen sehr hoch ist, besonders bei jungen, noch nicht voll entfalteten Blättern (z. B.: Salat).

Die Tagesrhythmik des Vitamin C-Gehaltes

Um gesicherte Tageskurven des VC-Gehaltes in den Blättern der einzelnen Pflanzenarten zu erhalten, müssen einige Gesichtspunkte für die Auswahl des Materials berücksichtigt werden.

1. Blätter von der Südseite einer Pflanze haben einen wesentlich höheren VC-Gehalt als solche von der Nordseite; ähnlich verhält es sich mit Sonnen- und Schattenblättern (BUKATSCH 1943 a, SEYBOLD und MEHNER, MOSER). Es wurde deshalb darauf geachtet, daß die Blätter zu den verschiedenen Tageszeiten stets vom gleichen Standort, in gleicher Höhe über dem Boden und aus gleicher Exposition entnommen wurden.

2. Ebenso mußten stets Blätter gleichen Alters verwendet werden, wie aus den oben erwähnten Arbeiten über die Jahresrhythmik hervorgeht.

3. Nach KIRCHHEIM, sowie auch nach MOLDTMANN und BUKATSCH 1943 b ist der AS-Gehalt an der Blattbasis geringer als an der Spitze. An Blättern wie an Nadeln wird der AS-Gehalt gegen die Peripherie zu immer größer. Deshalb entnahmen wir das Untersuchungsmaterial stets vom gleichen Ort innerhalb des Blattes, was am besten durch Ausstechen von Blattstückchen geschah. So wurden z. B. bei *Acer Huntii* je 6 Blattstückchen aus der Spitze der Seitenlappen verwendet und 4 aus der Spitze der Mittellappen. Bei *Parthenocissus quinquefolia* waren es je 2 Stückchen, die aus den Spitzen der 5 Fiederblättchen ausgestochen wurden. Bei *Helianthus tuberosus* entnahmen wir 6 aus den Spitzen und 4 aus der Basis der Blätter. War ein Ausstechen nicht möglich, so verwendeten wir entweder die ganzen Blätter oder bestimmte Blatteile.

4. Durch das Ausstechen war die Blattfläche bekannt. Damit konnte eine andere Fehlerquelle beseitigt werden, die durch einen veränderten Wassergehalt zu verschiedenen Tageszeiten entstehen könnte. Bezogen auf die Blattfläche ist der VC-Gehalt von der Wasserversorgung des Blattes weitgehend unabhängig (EISELE). Es zeigte sich jedoch, daß die Tageskurven, bezogen auf das Frischgewicht, parallel zu den Kurven liefen, die auf die Blattfläche bezogen waren. Siehe Abb. 1, Fig. 4 und 5, ferner seien im Protokoll als Beispiel bei den Versuchen 32, 35 und 47 die VC-Werte in mg/100 qcm noch zusätzlich angegeben.

5. Selbst bei Beachtung dieser Tatsachen treten noch gewisse individuelle Schwankungen auf. Es wurden deshalb bei den Versuchspflanzen mehrere gleichzeitig entnommene Proben untersucht, um so die natürliche Schwankungsbreite festzustellen: Versuch 57—66. Diese betrug 10—20%. Sie war bei Bäumen im allgemeinen kleiner als bei Kräutern. Bei einigen Tagesgängen bestimmten wir auch jeweils zwei Proben zur gleichen Zeit.

Es wurden bei den verschiedensten höheren Pflanzen im Ganzen 82 Tagesgänge des VC-Gehaltes bestimmt. Die Pflanzen befanden sich dabei teils im Freiland, teils im Gewächshaus. Zur Erläuterung der Ergebnisse seien einige Tagesgänge in Kurven dargestellt (Abb. 1).

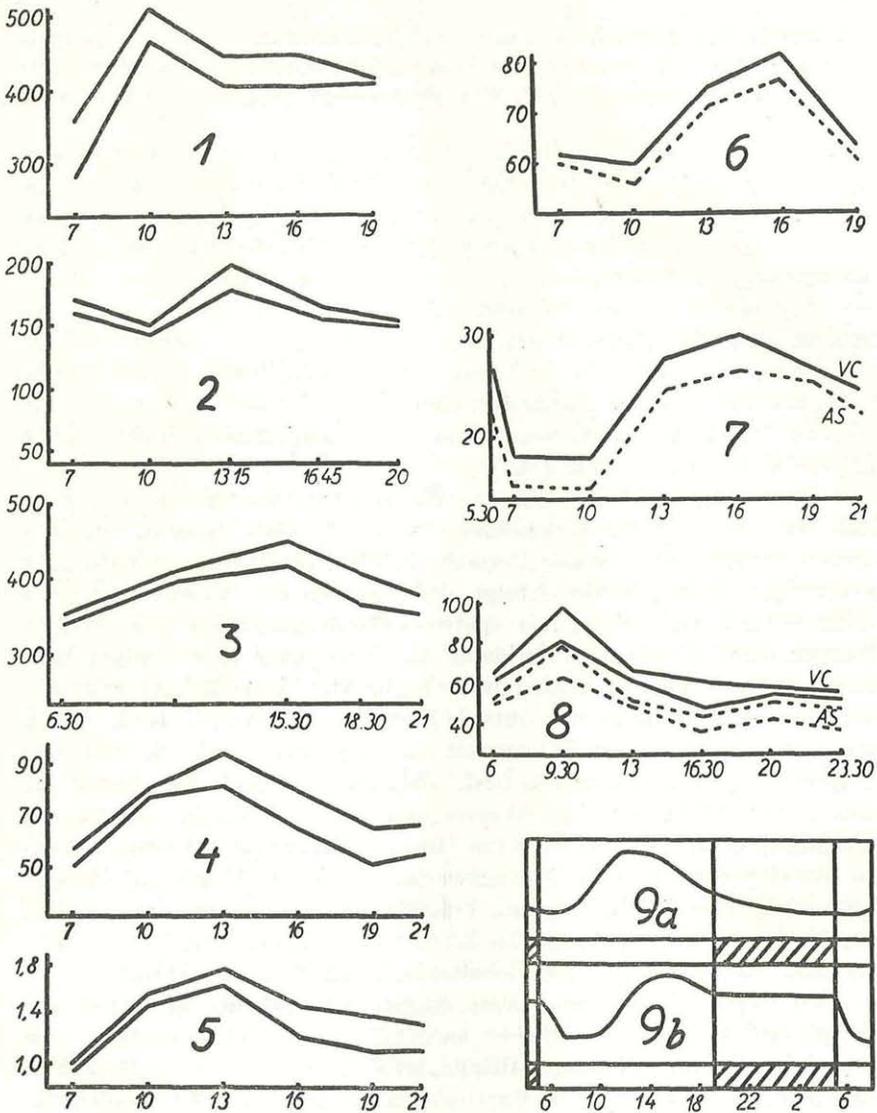


Abb. 1, Fig. 1—8. Einige typische Tageskurven des Vitamin-C-Gehaltes. Vormittagsgipfel bei Fig. 1 und 8, Mittagsgipfel bei Fig. 2, 4 und 5, Nachmittags-gipfel bei Fig. 3, 6 und 7. Ordinate: Vitamin-C-Gehalt in Milligramm-prozent (bei Fig. 5 in Milligramm je Quadratcentimeter Blattoberfläche). Abszisse: Uhrzeit. Bei Fig. 1—5 und 8 Bestimmung von jeweils zwei Proben, bei Fig. 6—8 gestrichelte Linie: Gehalt an reduzierter Ascorbinsäure. Fig. 1 und 3: *Cannabis sativa*, Fig. 2: *Phaseolus multiflorus*, Fig. 4 und 5: *Helianthus tuberosus*, Fig. 6: *Helenium autumnale*, Fig. 7: *Cichorium endivia*, Fig. 8: *Lactuca sativa* var. *capitata*. — Fig. 9. Die beiden Formen des Tagesverlaufes der Vitamin-C-Werte. Ordinate: Vitamin-C-Gehalt, Abszisse: Tageszeit.

Aus Raumgründen ist es nicht möglich, sämtliche Versuche in graphischer oder tabellarischer Form zu bringen. Sie wurden in einer Protokollliste zusammengefaßt, die auf Wunsch jederzeit vom Verfasser bezogen werden kann.

Zunächst werden nur die VC-Werte angegeben, die AS-Werte liefen ziemlich genau parallel zu ihnen. Die meisten Pflanzen zeigten nun während des Tages eine deutliche Erhöhung des VC-Gehaltes um etwa 10—50% gegenüber den Morgenwerten; die Gipfel liegen vormittags, mittags oder nachmittags.

Ein Maximum des VC-Gehaltes am Vormittag zeigten die untersuchten Pflanzen nur selten. Schon mittags oder nachmittags ist dann der VC-Gehalt bis fast auf den morgendlichen Ausgangspunkt wieder zurückgesunken und ändert sich dann nur wenig bis zum Abend; Abb. 1, Fig. 1, 8 und Versuch 51-III (Die römische III bedeutet den dritten Versuchstag), 3 und 4.

Am häufigsten finden wir das Maximum um die Mittagszeit. Bei der Hälfte dieser Tagesgänge wurde alle 2—3 Stunden der VC-Gehalt bestimmt und so der Verlauf einer solchen Tageskurve genauer festgelegt: Recht häufig erfolgt der Anstieg des VC-Gehaltes zum Mittagsmaximum erst in den späten Vormittagsstunden, vom frühen Morgen bis etwa um 10 Uhr bleibt der Wert mehr oder weniger konstant oder er senkt sich sogar etwas (Figur 2). Diese „Morgensenkung“ des VC-Gehaltes finden wir auch bei den Versuchen 6, 7, 8, 9. Einen stetigen Anstieg bis zur Mittagszeit zeigt die Abb. 1, Fig. 4, sowie die Tagesgänge bei Versuch 51-I, 52-I, 52-III, 11 und 53-I. Der Abfall bis zum Abend erfolgt bei allen Kurven gleichmäßig, er ist im allgemeinen nicht so groß wie der Anstieg am Morgen. Ferner ist bei einigen Versuchen eine Erhöhung des Mittagwertes gegenüber Abend und Morgen festzustellen, die VC-Bestimmung erfolgte hier nur dreimal: Versuch 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 53-II, 54-II, 55-I, 56-II.

Ein Maximum des VC-Gehaltes um die Nachmittagszeit ist fast ebenso häufig. Bei diesen Kurven ist auch die oben erwähnte Morgensenkung meist deutlicher ausgeprägt und viel öfter zu finden als bei den Kurven mit einem Mittagsgipfel: Abb. 1, Fig. 6 u. 7. Bei Fig. 7 fällt der VC-Gehalt von der Morgendämmerung bis um 7 Uhr steil ab, bleibt dann bis 10 Uhr konstant und steigt dann erst zum Nachmittagsgipfel an. Eine deutliche morgendliche Senkung zeigt sich auch bei den Versuchen 26 und 27. Nur wenig ändert sich der VC-Gehalt in den Morgenstunden bei Versuch 28, 29, 30, 31, 32, 52-II, 54-I. Ein gleichmäßiges Ansteigen bis zum Nachmittagsgipfel zeigen Abb. 1, Fig. 3 und Versuch 34. Diese Tagesgänge wurden bei trübem, regnerischen Wetter bestimmt. Bei Versuch 35 und 36 steigt der VC-Gehalt wohl in den Morgenstunden an, bleibt aber dann bis mittags konstant. Bei Sonnenschein können wir also niemals ein gleichmäßiges Ansteigen bis zum

Nachmittagsgipfel feststellen. Eine deutliche Erhöhung der Mittags- und Abendwerte gegenüber dem Morgenwert zeigen die Versuche 37, 38, 39, 56-I, 56-III; es wurden hier nur 3 Bestimmungen durchgeführt.

Die Mehrzahl der untersuchten Tagesgänge läßt sich in die drei eben beschriebenen Gruppen einordnen. Einige Male wurde aber ein abweichendes Verhalten beobachtet. Unabhängig, ob bei schönem oder schlechtem Wetter, blieb bei einigen Tagesgängen der VC-Gehalt der Blätter konstant oder änderte sich nur im Bereich der natürlichen Schwankungsbreite: Versuch 40, 41, 42, 43. — Bei vier weiteren Tagesgängen zeigte sich ein stetiger Anstieg vom Morgen bis zum Abend: Versuch 44, 45, 46, 51—II. — Bei drei Tagesgängen war ein stetiger Abfall vom Morgen bis zum Abend zu beobachten: Versuch 47 und 55—II.

Bei *Larix leptolepis* (Versuch 48) ließ sich der Tagesgang des VC-Gehaltes der Nadeln nicht in eine der genannten Gruppen einordnen; aus den Schwankungen läßt sich nur ein steiler Abfall in den Morgenstunden erkennen, also ähnlich der oben beschriebenen Morgensenkung. Keinerlei Tagesrhythmik zeigt auch in allen untersuchten Tagesgängen *Bryophyllum tubiflorum* (Versuch 49, 50). Bei Versuch 50 wurden die Pflanzen morgens aus dem Gewächshaus ins Freie gestellt; auf diesen starken Lichteinfluß hin erhöhten sonst alle anderen Pflanzen innerhalb weniger Stunden ihren VC-Gehalt beträchtlich, wie Kontrollversuche zeigten; bei *Bryophyllum* läßt sich dies jedoch nicht beobachten. Vielleicht spielt hier der abweichende Säurestoffwechsel der Sukkulente eine Rolle.

In Tabelle 1 ist der Verlauf aller Tagesgänge noch einmal zusammengefaßt. Sie werden, wenn 2 Proben gleichzeitig untersucht wurden, doppelt gerechnet. Die Zahlen in Klammern bedeuten die Anzahl der Tagesgänge, bei denen alle 2—4 Stunden der VC-Gehalt bestimmt wurde, bei den übrigen sind nur Morgen-, Mittags- und Abendwerte bekannt. Die meisten Tagesgänge zeigen also ein Maximum des VC-Gehaltes in den Mittags- und Nachmittagsstunden. Unter diesen sind 2 Gruppen gleich häufig vertreten: Die einen zeigen einen gleichmäßigen Anstieg vom Morgen bis zum Tagesmaximum; wir finden sie bei den Kurven mit Mittagsgipfel. Bei den anderen ändert sich der Morgenwert bis in die Vormittagsstunden nicht oder er senkt sich etwas; erst am späten Vormittag steigt er steil an. Diesen Typus finden wir besonders bei den Tagesgängen mit Nachmittagsgipfel.

Der Einfluß des Wetters auf den VC-Gehalt zeigte sich im Tagesgang recht deutlich. Meist wurden die Versuche bei sonnigem, heiterem Wetter durchgeführt, ein Witterungsumschlag machte sich durch eine Senkung des VC-Gehaltes bemerkbar: z. B. in Versuch 56, obwohl sonst *Parthenocissus quinquefolia* keine so typischen Tageskurven zeigt: Von der Mitte des 2. Tages ab sinkt mit Auftreten der Bewölkung der VC-Gehalt rasch und nachhaltig, er steigt bis zum Mittag des 3. Tages nur

Tabelle 1

Übersicht über die untersuchten Tagesgänge

Vormittagsgipfel:	7 (6) Kurven, d. i. 8,5% (12,2)
Mittagsgipfel:	36 (18) Kurven, d. i. 43,9% (34,7)
mit Morgensenkung:	10 Kurven
ohne Morgensenkung:	8 Kurven
Nachmittagsgipfel:	23 (18) Kurven, d. i. 28,1% (36,8)
mit Morgensenkung:	13 Kurven
ohne Morgensenkung:	5 Kurven
Konstanter Verlauf:	4 (1) Kurven, d. i. 4,9% (2,0)
Abfallender Verlauf:	4 (2) Kurven, d. i. 4,9% (4,1)
Ansteigender Verlauf:	3 (1) Kurven, d. i. 3,7% (2,0)
Ausnahmen-Verlauf:	5 (4) Kurven, d. i. 6,0% (8,2)
Insgesamt	82 (49) Kurven.

wenig, stärker dann am Nachmittag bis zum Abend, während vorübergehend die Sonne scheint. Ähnliche Ergebnisse zeigen auch Versuch 4 und 27, bei denen am 2. Versuchstag der VC-Gehalt viel geringer war als am 1. Tag, gleichzeitig regnete es. Auch waren bei ungünstiger Witterung die Tagesschwankungen etwas geringer als bei Sonnenschein.

Die Tagesgänge ohne deutliche Rhythmik, also konstanter, ansteigender und abfallender Tageslauf sind jedoch nicht nur bei trüber, regnerischer Witterung zu beobachten; während der Hälfte dieser Versuche herrschte sogar heiteres, sonniges Wetter. Als weitere Ausnahme war einmal trotz starken Regens eine deutliche Tagesrhythmik zu beobachten (Abb. 1, Fig. 3).

Das Verhalten des Vitamin C-Gehaltes bei Nacht

Bei den oben beschriebenen Tageskurven wurde auch mehrmals der Verlauf des VC-Gehaltes während der Nacht bestimmt. Man kann nun bei diesen Kurven ein verschiedenes Verhalten während der natürlichen Dunkelphase feststellen. Bei 6 Kurven fiel der VC-Gehalt deutlich ab: Versuch 10, 26, 35, 53, 56-II und 56-III. Bei 2 Kurven steigt er deutlich an: Versuch 47, 48. Nur ganz geringe Schwankungen innerhalb der natürlichen Schwankungsbreite haben 9 Kurven: Versuch 12, 34, 32/37, 51-I, 52-II, 54 und 56-I. Eine Senkung um Mitternacht zeigen 4 Kurven: Versuch 51-II, 52-I und 55. Es fällt auf, daß sich häufig der VC-Gehalt während der Nacht nur wenig ändert oder nur gering abfällt, während eine Verdunkelung am Tage zu deutlicher Senkung führt (siehe unten). Wir legten uns deshalb die Frage vor, zu welcher Zeit hauptsächlich der VC-Gehalt vom Tagesmaximum zum Tagesminimum abfällt? Um die Kurven miteinander vergleichen zu können, wurde der prozentuale Anstieg oder Abfall pro Stunde während der einzelnen Tageszeiten be-

rechnet. Ein starker Abfall macht sich so durch eine negative Zahl $> 1,2\%$ kenntlich. (Siehe Tabelle 2.)

Tabelle 2

Nachtkurven (prozentuale Änderung des Vitamin-C-Gehaltes pro Stunde). Positive Zahlen bedeuten Anstieg, negative Zahlen Abfall des Vitamin-C-Gehaltes. Der „Nachmittag“ dauert von der Mittags- zur Nachmittagsbestimmung, der „Abend“ von dieser bis zum Einbruch der Dunkelheit, die „Nacht“ bis zum Morgengrauen, der „Morgen“ bis zur ersten Bestimmung am hellen Tag (zirka 7—8 Uhr) und der „Vormittag“ bis zur nächsten Vitamin-C-Bestimmung um die Mittagszeit.

Versuch	Nachmittag	Abend	Nacht	Morgen	Vormittag
A. Abfall besonders abends:					
51, I	-4,3	0	+ 0,20	+ 2,1	+ 0,83%
52, I	-0,5	-1,45	+ 0,75	+ 2,28	+ 0,37%
52, II	+ 4,1	-2,25	+ 0,37	-0,82	+ 2,37%
54	-1,75	+ 9,5	-0,82	+ 3,0	+ 4,0 %
47	0	-3,3	+ 0,83		+ 0,6 %
32/37	+ 1,85	-4,3	-0,39		+ 0,75%
12	-1,43		+ 0,07		+ 1,67%
27	+ 6,0	-2,0	-0,87		%
10	-7,0	-4,3	-0,90		%
55, a	-4,2		-0,66		+ 1,5 %
55, b	-4,2		-0,66		+ 1,5 %
durchschn.:	-1,23	-1,12	-0,26	+ 1,7	+ 1,5 %
B. Abfall besonders morgens:					
51, II	+ 0,25	+ 1,25	0	-4,25	+ 4,0 %
48	+ 0,29		+ 0,81	-3,1	+ 3,6 %
34	+ 2,57	-1,72	+ 1,14	-9,4	%
31, a	+ 5,7	-2,7	+ 1,0	-2,6	+ 2,75%
31, b	+ 5,7	-2,7	+ 1,0	-2,6	+ 2,75%
durchschn.:	+ 2,90	-1,47	+ 0,79	-4,4	+ 3,3 %
C. Abfall besonders in der Nacht:					
26	-1,7	+ 1,43	-2,7	-0,29	%
53	-3,2	-2,6	-4,2		+ 13,1 %
56, II	-2,0		-3,0		+ 3,3 %
56, III	+ 5,3		-3,2		+ 4,7 %
durchschn.:	-0,4	-0,58	-3,2	-0,29	+ 7,01%
D. Kein Abfall in 24 Stunden:					
56, I	+ 0,19		-0,06		+ 1,64%

Bei 11 Kurven zeigt sich (53%), daß der VC-Abfall sich besonders abends vollzieht; während der Nacht ist dieses Absinken nur ganz

gering. Bei 5 Kurven (24%) findet sich der Abfall besonders im ersten Morgenlichte, während der Nacht steigt der VC-Gehalt sogar ein wenig an. Diese Kurven hatten ihr Maximum entweder nachmittags oder abends; die natürliche Dunkelphase schien also den VC-Abfall hinauszuzögern. Einen deutlichen Abfall in der Nacht, den stärksten während 24 Stunden, finden wir nur bei 4 Kurven (19%). Bei einer Kurve schließlich erfolgt innerhalb von 24 Stunden kein deutlicher VC-Abfall, in der Nacht bleibt der VC-Gehalt auf gleicher Höhe.

Der Gehalt an Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure

Bei den geschilderten Kurven wurde jeweils der Gesamt-Vitamin C-Gehalt angegeben. Betrachten wir den AS- und den DAS-Gehalt, so interessieren zwei Fragen: 1. Zeigen auch die AS-Werte eine Tagesperiodik? 2. Ist das Verhältnis $Q = \frac{\text{DAS}}{\text{AS}}$ während eines Tages Veränderungen unterworfen, und kann man aus Q einen Schluß auf die Redoxlage der Zelle ziehen?

Wie oben erwähnt wurde, geben die meisten Autoren einen nur geringen prozentuellen Gehalt der DAS im Pflanzengewebe an. Der größte Wert, den EISELE angibt, beträgt 26% DAS, also $Q = 0,26$; sie arbeitete mit einer ähnlichen Methode wie SEYBOLD und MEHNER. Unsere eigenen Bestimmungen hatten ähnliche Ergebnisse. Der höchste Wert in Blättern betrug 21,5% DAS, der niedrigste 1,3%. Bei 186 beliebig herausgegriffenen Bestimmungen betrug der Durchschnittswert $Q = 0,0694$ (6,94%).

Bei den Tagesgängen in Abb. 1, Fig. 6 u. 7 ist neben der Angabe des VC-Gehaltes auch der AS-Gehalt miteingezeichnet worden. Beide verlaufen nahezu parallel. Dieses Verhalten können wir auch bei den übrigen Kurven feststellen. Berechnet man die Q-Werte der einzelnen Tageskurven, so zeigt sich folgendes: Die Hälfte der Kurven (46,6%) zeigen ein Minimum mittags, das Maximum nachts. Es besteht bei diesen also ein entsprechendes Verhalten zu der Tatsache, daß tagsüber die Assimilation ein mehr reduktives Verhalten der Zelle, nachts die Atmung allein ein mehr oxydatives Verhalten bedingt. 35% der Kurven des Q-Wertes verliefen entgegengesetzt zu diesen und bei 18,4% war kein deutlicher Tagesgang zu verzeichnen. Auch bei Berechnung der Durchschnittswerte können keine klaren Ergebnisse erhalten werden. Morgens haben wir bei Messungen an Blättern in der Zeit von 6—8 Uhr, einen Durchschnittswert von $Q = 0,0920$, mittags (12.30—14.30) $Q = 0,0527$, abends (18.00—20.00) $Q = 0,0656$ erhalten. Es ist also nur angedeutet mittags ein tieferer Quotient $\frac{\text{DAS}}{\text{AS}}$ zu beobachten als

morgens und abends. Es lassen sich also aus dem Verhältnis DAS zu AS keine Schlüsse ziehen.

Folgendes muß noch erwähnt werden: Wie oben beschrieben wurde, ist die Fehlergrenze der DAS-Bestimmung infolge des geringen Absolutwertes sehr hoch. Sie beträgt demnach bei Bestimmungen im Blattgewebe etwa 100%, auch der Wert Q unterliegt somit diesen großen zufälligen Schwankungen. So ist eine Einzelbestimmung des DAS-Gehaltes recht unsicher, nur bei Berechnung des Durchschnittwertes einer größeren Anzahl von Bestimmungen lassen sich brauchbare Ergebnisse erwarten. Auch eine noch größere Anzahl von Versuchen dürfte wohl kein endgültiges Ergebnis sichern, da das Redoxsystem der Ascorbinsäure viel zu labil ist, als daß wir es schon sicher chemisch erfassen könnten. Nach GROSH und RAMA CHAR ist die *a e r o b e* Oxydation der Ascorbinsäure nur zwischen p_H 3,0—5,0 reversibel, kann also durch H_2S rückgängig gemacht werden. „Außerhalb dieses Bereiches geht aber das erste Produkt der Oxydation durch molekularen Sauerstoff eine irreversible Änderung ein.“ Bei der Extraktion der Ascorbinsäure dürfte fast immer dieser p_H -Bereich zwischen 3 und 5 wenigstens zeitweise unter- oder überschritten werden, so daß Teile der DAS und AS eine irreversible Oxydation erleiden und so der Bestimmung nicht mehr zugänglich sind. Wir können also niemals ein absolut genaues Verhältnis zwischen AS und DAS angeben.

Wir möchten noch auf Abb. 1, Fig. 8, sowie auf Versuch 30 und 31 hinweisen, aus denen ersichtlich ist, daß die VC-Werte, bestimmt nach SEYBOLD und MEHNER, mit den AS-Werten weitgehend parallel laufen, also wie diese auch eine Tagesrhythmik zeigen, die weit über die Schwankungsbreite hinausgeht. Ebenso wie SEYBOLD und MEHNER fanden wir mit dieser Bestimmungsmethode bei *Lactuca sativa* nicht unbedeutende DAS-Mengen im Pflanzenextrakt, bei *Petroselinum* ließ sich jedoch nur ein ganz geringer DAS-Gehalt feststellen. Die von uns bestimmten VC-Werte stimmen aber mit den Werten, die SEYBOLD und MEHNER angeben, im wesentlichen überein; unsere AS-Werte sind aber erheblich höher, vermutlich durch geringere Aufarbeitungsverluste bedingt.

Besprechung der Ergebnisse

Überblicken wir die geschilderten Ergebnisse, so können wir sie unter gewisse einheitliche Gesichtspunkte fassen und damit versuchen, die eingangs gestellten Fragen zu beantworten.

Bei den Tages- und Nachtkurven des Vitamin C-Gehaltes lassen sich zwei Verhaltensformen unterscheiden (Abb. 1, Fig. 9). Bei *a* steigt der Vitamingehalt morgens an, das Maximum wird mittags erreicht. Nachmittags zeigt sich ein deutliches Absinken bis zum Abend, nachts erfolgt nur ein unbedeutender Abfall bis zum morgendlichen Minimum. Bei *b* finden wir den Anstieg des Vitamingehaltes erst in den späteren Vormittagsstunden. Nach dem Gipfel am Nachmittag fällt er bis zum

Abend bedeutend weniger stark ab. Ebenso wie bei a läßt sich auch bei b über Nacht keine starke Änderung beobachten; erst im Morgenlichte findet ein starkes Sinken des Vitamingehaltes bis zum Minimum am Morgen statt.

Diese tagesrhythmischen Schwankungen betragen etwa 10—50% des gesamten Vitamin C-Gehaltes und gehen über die mittlere Schwankungsbreite weit hinaus. Sie sind von der gebotenen Lichtmenge abhängig. Bei geringem Lichtangebot oder bei bewölktem Himmel sind sie kleiner. Doch bleibt der Vitamin C-Gehalt, selbst unter extremsten Bedingungen, und erst recht unter den normalen physiologischen Bedingungen, innerhalb einer oberen und einer unteren Grenze. Diese Grenzen scheinen genetisch bedingt zu sein, so daß wir wohl von Vitamin C-reichen wie von Vitamin C-armen Pflanzen sprechen dürfen, wobei der Vitamin C-Gehalt nur innerhalb bestimmter Grenzen von der Umwelt abhängig ist (vgl. auch KIRCHHEIM).

Die beiden Verlaufsformen der Tagesrhythmik sind nicht artspezifisch. In Anlehnung an die Theorie von BÜNNING hätte man vielleicht annehmen können, daß Kurztagpflanzen sich mehr nach Form a verhalten und Langtagpflanzen mehr nach b, entsprechend ihrem zeitlich verschiedenen Assimilationsmaximum. Auch sonst sind die beiden Formen nicht an bestimmte Pflanzen gebunden. Jede Versuchspflanze, die öfter untersucht wurde, verhält sich nach beiden Formen, diese wechseln somit bei derselben Pflanzenart ab. Auch bestehen keine Beziehungen zur Tageslänge, beide sind zu jeder Jahreszeit beobachtbar. Es wird daraus wie auch bei der Betrachtung der einzelnen Tagesgänge deutlich, daß diese beiden Typen nur ein extremes Verhalten charakterisieren. Dazwischen sind Übergänge möglich. Man kann dies nun aus einer verschiedenen Reaktionsweise der Ascorbinsäure gegenüber der Licht- und Dunkelphase innerhalb der endogenen Tagesrhythmik erklären: In der Lichtphase vollziehen sich alle Änderungen des Vitamin C-Gehaltes, in der Dunkelphase bleibt dieser mehr oder weniger konstant. Wird nach einem Anstieg am Vormittag das Maximum schon mittags erreicht — es ist abhängig vom jeweiligen Lichtgenuß der Pflanze — so folgt ein Sinken bis zum Abend; der Abendwert ist nur wenig höher als der Morgenwert. Verzögert sich jedoch der Anstieg zum Tagesmaximum durch äußere Bedingungen (z. B. Wetterlage), so liegt dieses erst nachmittags; der Abfall bis zum Abend ist weniger groß. Da nun in der Nacht kein wesentlicher Abfall erfolgt, vollzieht sich dieser erst mit Beginn der Lichtphase; das Minimum wird in den ersten Stunden dieser Phase erreicht; der Wiederanstieg erfolgt nach kurzem Verharren.

Die Tagesrhythmik des Vitamin C-Gehaltes ist nur teilweise endogen bedingt; denn im extremen Kurztag bei nur 1 stündiger Belichtung, ist

sie nicht mehr zu finden (s. u.). Daß sie aber mit der endogenen Tagesrhythmik der Pflanze verbunden ist, zeigen 2 Beobachtungen: 1. Die Änderungen des Vitamin C-Gehaltes erfolgen vornehmlich in der Lichtphase. 2. Das Tagesminimum wird meist zu Beginn der Lichtphase erreicht.

Der Aufbau des Vitamin C vollzieht sich beim Assimilationsprozeß in den grünen Blättern (BUKATSCH, MOLDTMANN, SEYBOLD und MEHLNER). Die vorliegenden Untersuchungen zeigten daß unter normalen Bedingungen auch der Abbau des Vitamin C sich vornehmlich bei Licht vollzieht, vielleicht also auch mit dem Assimilationsprozeß verbunden ist, wobei möglicherweise vom Vitamin C eine bestimmte Aufgabe erfüllt wird.

Neben den geschilderten Versuchen wurde die Tagesrhythmik des Vitamin-C-Gehaltes noch in Verbindung mit Einzelfaktoren untersucht, wobei sich ergab: Bei kurzer Verdunkelung erfolgt ein Abfall des Vitamin-C-Gehaltes. Besonders stark ist dieser, wenn vormittags oder mittags verdunkelt wird. Der VC-Abfall bei einer längeren Verdunkelung als 24 Stunden vollzieht sich erst ganz rasch, dann langsamer, bis nach einigen Tagen ein Minimum erreicht ist. Dieses Absinken erfolgt vorwiegend bei Tag, und zwar umso schneller, je höher die Lufttemperatur ist. — Bei einer Dauerbestrahlung der Pflanzen von 24 Stunden bis drei Wochen sind zuweilen noch tagesrhythmische Schwankungen zu beobachten. — Die Tagesrhythmik des VC-Gehaltes wird durch die Temperatur nicht beeinflusst, sie ist auch nicht von der Bodenfeuchtigkeit abhängig. — Bei Kohlensäuremangel erfolgt kein Anstieg mehr, der VC-Gehalt bleibt mehr oder weniger konstant oder sinkt etwas ab. — Zwischen Glukose- und Ascorbinsäure-Gehalt sind unmittelbare Beziehungen nicht erkennbar.

Von einer genauen Darlegung dieser Untersuchungen wird abgesehen, da sie zu dem Problem der Tagesschwankung nicht wesentlich Neues beitragen, sondern lediglich der Ausschaltung von Fehlern der Methode und der Deutung dienen.

Die geschilderten Untersuchungen bilden einen Teil meiner an der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München 1952 eingereichten Dissertation. Den Herren Prof. Dr. O. RENNER und Doz. Dr. F. BUKATSCH danke ich an dieser Stelle für die Förderung meiner Arbeit.

Z u s a m m e n f a s s u n g

1. Es wurden Blätter höherer Pflanzen zu verschiedenen Tageszeiten auf ihren Vitamin C-Gehalt (Ascorbinsäure- und Dehydroascorbinsäure-Gehalt) untersucht. Dabei wurde eine deutliche Periodizität festgestellt.

2. Das tägliche Maximum liegt am Mittag oder am Nachmittag, das Minimum am Morgen.

3. Die Veränderungen des Vitamin C-Gehaltes vollziehen sich vornehmlich in der Lichtphase des Tages: Der Anstieg zum Maximum

erfolgt vormittags und mittags, der Abfall zum Minimum erfolgt abends oder am frühen Morgen.

4. In der Nacht verändert sich der Vitamin C-Gehalt meist nur wenig.

5. Die Größe der tagesrhythmischen Schwankungen und die absolute Höhe des Vitamin C-Gehaltes sind vom Lichtangebot und vom Wetter abhängig; wenig Licht senkt den Vitamin C-Spiegel.

6. Meist liegt viel mehr Ascorbinsäure als Dehydroascorbinsäure vor. Im Blatt befindet sich nur durchschnittlich 6,5% des Gesamtgehaltes an Vitamin C als Dehydroascorbinsäure.

7. Beziehungen zwischen der Tagesrhythmik des Vitamin C-Gehaltes und der endogenen Tagesrhythmik der Pflanzen werden erwogen.

L i t e r a t u r

- ÅBERG B. 1947. Effects of light and temperature on the ascorbic acid content of green plants. Ref. in Chem. Abstr. 41: 794.
- 1949. Changes in the ascorbic acid content of darkened leaves as influenced by temperature, sucrose-application and severing from the plant. Physiologia Plant. 2: 164.
- BASHIR A. 1947. The effect of certain factors on ascorbic acid production during germination of seeds. Ref. in Chem. Abstr. 41: 3201.
- BONETTI D. 1950. Diurnal rhythms in ratio of reduced ascorbic acid to total ascorbic acid in leaves. Ref. in Chem. Abstr. 44: 10050.
- BÜNNING E. 1942. Untersuchungen über den physiologischen Mechanismus der endogenen Tagesrhythmik bei Pflanzen. Z. Bot. 37: 433.
- 1944. Die allgemeinen Grundlagen der photoperiodischen Empfindlichkeit. Flora 38: 93.
- 1950. Über die photophile und scotophile Phase der endogenen Tagesrhythmik. Planta 38: 521.
- BUKATSCH F. 1939/40. Über die Rolle der Ascorbinsäure in den Chloroplasten. I. und II. Mittlg. Planta 30: 122 und 31: 209.
- 1943 a. Über den Ascorbinsäuregehalt in Coniferennadeln. Vitamine und Hormone 4: 192.
- 1943 b. Der Ascorbinsäuregehalt von Laub- und Blumenkronblättern einiger Liliifloren. Protoplasma 37: 287.
- EHRENBERG M. 1950. Beziehungen zwischen Fermenttätigkeit und Blattbewegung bei *Phaseolus multiflorus* unter verschiedenen photoperiodischen Bedingungen. Planta 38: 244.
- EISELE G. 1944. Stoffwechseluntersuchungen mit Hilfe des Gehaltes von reduzierter und oxydierter Ascorbinsäure bei verschiedenem Wasserhaushalt. Diss. Darmstadt.
- EMMERIE A. und VAN EEKELLEN M. 1938. Über die Ascorbinsäure (Vitamin C) und ihre chemische Bestimmung in Nahrungsmitteln. Z. Vit.forsch. 7: 254.
- GHOSIL J. C. und RAMA CHAR T. L. 1937. Das Oxydations-Reduktionspotential der Ascorbinsäure (Vitamin C). Hoppe Seylers Z. phys. Chem. 246: 115.

- GÜNTHER E. 1943. Zur Methodik der Bestimmung von Gesamt-Vitamin C. *Biochem. Z.* 314: 277.
- 1944. Die Fehlerquellen bei der Bestimmung von Gesamt-Vitamin C mittels der Schwefelwasserstoffreduktion. *Vitamine und Hormone* 5: 55.
- HALDEN W., CMIEL R. W. und SCHAUENSTEIN E. 1942. Zur Wertbestimmung von Vitamin C. *Naturwiss.* 30: 586.
- KIRCHHEIM W. 1940. Über die zeitliche und örtliche Verteilung von Vitamin C in höheren Pflanzen. *Diss. München.*
- LAUERSEN F. und ORTH W. 1943. Die stufenphotometrische Bestimmung der Ascorbinsäure. *Vitamine und Hormone* 4: 63.
- MEDAWARA R. M. 1951. Notizen über Vitamin C in der Pflanze. *Phyton* 2: 193.
- MOLDTMANN H. G. 1939. Untersuchungen über den Ascorbinsäuregehalt der Pflanzen in seiner Abhängigkeit von inneren und äußeren Faktoren. *Planta* 30: 297.
- MOSER E. 1950. Vitamin C in Blättern von Laub- und Nadelbäumen unter besonderer Berücksichtigung ihrer Nord- und Südseite. *Diss. München.*
- OTT M. 1941. Spezifische Vitamin-C-Bestimmungsmethoden. *Z. ang. Chem.* 54: 170.
- PAECH K. 1950. *Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe.* Heidelberg.
- SCHMITZ J. 1951. Über Beziehungen zwischen Blütenbildung in verschiedenen Licht-Dunkelkombinationen und Atmungsrythmik bei wechselnden photoperiodischen Bedingungen. *Planta* 39: 271.
- SCHWARZE W. K. und GÜNTHER E. 1948. Vergleichende Untersuchungen zur Vitamin-C-Bestimmung im Pflanzenmaterial. *Bioch. Z.* 319: 139.
- SEYBOLD A. und MEHNER H. 1948. Über den Gehalt von Vitamin C in Pflanzen. *Sitz.-Ber. wiss. Akad. Heidelberg.*
- SOUICI S. W. 1948. Die Brauchbarkeit und Bewertung chemischer Verfahren zur Vitamin-C-Bestimmung. *Z. Lebensmitteluntersuch. und Forschung* 88: 190.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1953

Band/Volume: [5_1_2](#)

Autor(en)/Author(s): Hagen Ulrich

Artikel/Article: [Über die Tagesrhythmik des Vitamin C-Gehaltes in Blättern.
1-15](#)