

# Über eigenartige Farbänderungen von Blüten und Blütenfarbstoffen.

Von  
Hans Fitting.

LIBRARY  
NEW YORK  
BOTANICAL  
GARDEN.

## Einleitung.

Daß ebenso wie die anderen Lebensvorgänge, so auch die Reizerscheinungen der Organismen von chemischen Prozessen begleitet werden, ja zum guten Teile auf ihnen beruhen, dieser Standpunkt wird heute, wohl mit Recht, allgemein vertreten. So ist die Ansicht herrschend geworden, daß die allerersten Veränderungen, welche durch die verschiedenen Reizanlässe in der lebenden Substanz hervorgerufen werden, die sog. Perzeptionsvorgänge der Reize also, irgendwelche chemische Prozesse sind. Freilich ist es bisher in keinem Falle gelungen, diese chemischen Vorgänge direkt nachzuweisen und zu verfolgen. Doch lassen sich aus dem Ablaufe der Reizvorgänge sichere Anhaltspunkte dafür gewinnen, in welcher Weise sie ablaufen müssen. Zunächst einmal müssen sie reversibel sein oder doch wenigstens durch die Lebenstätigkeit wieder ausgelöscht werden, da die Reizvorgänge und die sie bedingenden Erregungen meist einige Zeit nach Entfernung der Reizanlässe wieder abklingen. Auch über den zeitlichen Ablauf dieser Veränderungen lassen sich ziemlich bestimmte Aussagen machen. Entsprechend wie die Perzeption der Reize (wenigstens vieler), bei Pflanzen z. B. des Lichtreizes und des Schwerkraftreizes, sogleich oder unmeßbar kleine Zeit nach dem Anfange der Reizung beginnt, entsprechend wie die Perzeption sich mit der Erhöhung der Reizintensität und mit der Dauer des Reizanlasses vertieft und wie das Abklingen der Erregung, das sofort oder einige Zeit nach der Beendigung der Reizung einsetzt, meist

wesentlich längere Zeit in Anspruch nimmt als das Ansteigen der Erregung, so müßten die chemischen Vorgänge, auf denen die Perzeption beruht, sogleich oder unmeßbar kurze Zeit nach Beginn der Reizung einsetzen, mit der Dauer und mit der Intensität des Reizes zunehmen und sogleich nach Entfernung des Reizanlasses oder einige Zeit danach beginnen, wieder abzuklingen.

Die Schwierigkeiten sind gewiß sehr groß, diese chemischen Vorgänge nachzuweisen. Denn vielleicht, ja wahrscheinlich, werden die Verbindungen, in denen sie sich abspielen, schon bei oder bald nach der Abtötung der Organismen zerstört. Und ohne tödlich wirkende Eingriffe in das lebende System ließen sich solche Vorgänge wohl nur nachweisen, wenn es gelänge, sie durch natürliche, schon vorhandene, oder durch künstliche Indikatoren zur Anschauung zu bringen. Man könnte ja den Versuch machen, geeignete Indikatorfarbstoffe durch die lebende Zelle aufnehmen zu lassen und zu sehen, ob sie während der Reizung ihre Farbe ändern. Einige solche Versuche, die ich in dieser Richtung gemacht habe, waren indes bisher nicht von Erfolg begleitet.

Bei dieser Lage der Dinge wäre vielleicht schon viel gewonnen, wenn es zunächst einmal überhaupt gelänge, in lebenden Organismen chemische Vorgänge analogen Ablaufes, in ähnlicher Abhängigkeit von den Außenbedingungen wie die Erregungen nachzuweisen. Dieser Nachweis scheint mir nun durch sehr merkwürdige Beobachtungen geglückt, die ich zuerst im vorigen Jahre bei meinen Studien über die vorzeitige Entblätterung von Blüten gemacht habe (vergl. den Hinweis Fitting. 1911. S. 253). Sie beziehen sich ebenfalls auf Blüten. Sie wurden durch einen natürlichen Indikator möglich, der in den Zellen vorhanden ist, den Anthocyanfarbstoff.

### Abschnitt I.

#### Versuche mit *Erodium gruinum* und *E. ciconium*.

Wenn man die an kühlen Morgentagen intensiv blauen Blüten von *Erodium gruinum* oder *ciconium* in den Wärmekasten, etwa in eine Temperatur von 40—42°, bringt, so gibt es eine höchst überraschende Farbreaktion: Fast momentan

nach Übertragung in den warmen Raum, jedenfalls schon nach 1—3 Sekunden, schlägt die blaue Farbe in blasses Weinrot um, das im Laufe der ersten und der weiteren Minuten mehr und mehr zu sehr hellem Rosa abblaßt. Nimmt man die Blüten wieder aus dem Wärmekasten heraus, so kehrt fast ebenso augenblicklich eine blaßbläuliche Farbentönung zurück, die intensiver und intensiver werdend schließlich den ursprünglichen blauen Farbton wieder erreicht. Und zwar wird dieser Farbton um so schneller wieder angenommen, je kürzer die Blüten erwärmt werden und je weniger sie in der Wärme abgeblaßt sind, im übrigen stets langsamer, als die Blüten in der Wärme ihre Farbe verlieren. Ich gebe hier einige Beispiele:

#### Versuch 1. *Geranium gruinum*.

5 Blüten und 5 gleichfarbige Kontrollblüten. Lufttemperatur 16°.

8<sup>44-48</sup> erwärmt in 40—42°, dann in Luft von 16°: Die Blüten sind ganz hellrot geworden. Fast momentan tritt Umschlag der Farbe in blaßblau ein. 8<sup>54</sup>, 8<sup>59</sup> blasser als die Kontrollblüten, 9<sup>05</sup> kein deutlicher Unterschied mehr.

#### Versuch 2. *Geranium gruinum*.

5 Blüten und 5 gleichfarbige Kontrollblüten.

8<sup>55-56</sup> erwärmt in 43°, dann in Luft von 16°. 8<sup>58</sup> blasser als die Kontrollblüten, 9<sup>05</sup> diesen gleich.

#### Versuch 3. *Geranium gruinum*.

Wie bei Versuch 1 und 2.

9<sup>02-45</sup>—9<sup>03-15</sup> erwärmt in 45°, dann in Luft von 16°. 9<sup>03-45</sup> wenig Unterschied mit den Kontrollblüten, 9<sup>04-15</sup> noch etwas heller, 9<sup>06</sup> kein Unterschied mehr.

#### Versuch 4. *Geranium gruinum*.

Wie bei den vorigen Versuchen.

9<sup>07</sup>—9<sup>13</sup> in 41—45°, dann in Luft von 16°. Die ganz blaßrosa Blüten schlagen sofort in weißbläulichen Farbton um. 9<sup>25</sup> heller als Kontrollblüten, 9<sup>40</sup> wenig heller, 10<sup>00</sup> kein Unterschied mehr!

Erwärmt man die Blüten nur wenige Sekunden und nimmt man sie alsdann sofort aus dem Wärmeschranke heraus, so kehrt die Farbe sehr schnell in ihrer ganzen Tiefe zurück: Es ist in diesem Falle wie ein sanftes, schnell vorübergehendes Erröten, das über die Blüten läuft. Farbenumschlag tritt übrigens auch an abgeworfenen Blütenblättern ein.

Um eine Farbenänderung zu veranlassen, ist es nicht etwa nötig, die Blüten stark zu erwärmen: Auch schon bei 22—26° erfolgt sie, wenn auch langsamer und weniger weit fortschreitend.

Wenn die Sonne auf die Pflanzen scheint, so ist die Färbung der beschatteten und der besonnten Blüten verschieden: erstere sind blau, letztere rötlich bis weinrot. An kalten Tagen sind die Blüten dunkelblau, an heißen weinrot. Offenbar gibt es für eine jede Temperatur (wenigstens für nicht sehr hohe Temperaturen) einen in der Farbnuance zum Ausdruck kommenden Gleichgewichtszustand. Bringt man z. B. die Blüten in  $24^{\circ}$ , so verfärben sie sich langsam um einen bestimmten Betrag. Der neue Farbton bleibt danach unverändert, um einem neuen Platz zu machen, wenn man stärker erwärmt oder wieder abkühlt. Unterhalb  $16-20^{\circ}$  ändert sich die Blütenfarbe nicht mehr wesentlich: legt man die Petalen von *E. gruinum* oder *E. ciconium* auf Eis, so ist ihre Färbung von denen in  $16-20^{\circ}$  nicht wesentlich verschieden. Zusammenfassend kann man also sagen: Oberhalb  $16-20^{\circ}$  entspricht jeder Temperatur ein besonderer Farbton der Blüten. Er ist bei niederen Temperaturen blau, bei höheren weinrot, rosa, endlich fast weiß. Ändert man die Temperatur plötzlich, so beginnt beinahe augenblicklich ein Farbumschlag und zwar wird die alte Farbe, die den tieferen Temperaturen entspricht, viel langsamer zurückgewonnen, als sie bei entsprechender Erwärmung verloren ging. Es dauert um so länger, bis bei Abkühlung die alte Farbe zurückkehrt, je länger die Blüten erwärmt worden waren.

Die Abhängigkeit der Farbenregeneration von der Dauer der Erwärmung genauer zahlenmäßig zu ermitteln, schien mir nun vor allem von Interesse. Solche Versuche habe ich viele, sowohl mit *Erodium gruinum*, wie mit *E. ciconium* angestellt. Da die Blüten bei Erwärmung, namentlich in Laboratoriumsluft (vergl. Fitting 1911), sehr leicht ihre Kronblätter fallen lassen, so verfuhr ich dabei folgendermaßen: Ich benutzte für die Versuche von vornherein abgeworfene Blütenblätter. Ich legte sie auf Glasscheiben in Reihen dicht nebeneinander und suchte möglichst gleichfarbige als Versuchs- und Kontrollblätter aus. Zu jedem Versuche dienten gleichzeitig 5 bis 10 Blütenblätter und ebensoviele Kontrollpetalen. Um die Blätter möglichst schnell und bei einem jeden Versuche möglichst gleich hoch zu erwärmen, tauchte ich sie in warmes Wasser, das bei den Versuchen konstant auf  $42^{\circ}$  gehalten wurde. Nach Ablauf der

Versuchszeit kamen die Blätter für 15 Sekunden in Wasser von Zimmertemperatur, um danach unter den Kontrollblättern auf den Glasscheiben wieder in Reihen angeordnet zu werden. Um die zur völligen Wiederherstellung der blauen Farbe nötige Zeit möglichst genau feststellen zu können, habe ich bei vielen Versuchen die zuvor erwärmten Blätter zwischen zwei Reihen von Kontrollblättern gelegt. Die Glasscheiben ruhten auf dunklen Tischplatten. Die Kontrollblätter habe ich stets mit Wasser angefeuchtet, da der Farbton der nassen Blätter etwas anders erscheint als der der trocknen. Um Mißverständnissen vorzubeugen, weise ich aber ausdrücklich darauf hin, daß die Benetzung mit Wasser die Farbe selbst nicht beeinflusst.

### I. Versuche mit *Erodium gruinum*.

Zimmertemperatur 18—20°.

Ich begnüge mich damit, das Verhältnis der Erwärmungszeiten zu den für die Farbenrückkehr nötigen Zeiten für einen jeden Einzelversuch anzugeben.

- a) Erwärmt 30 Sekunden 1:7; 1:7.
- b) „ 1 Minute 1:9; 1:7; 1:7; 1:7; 1:7.
- c) „ 2 Minuten 1:11; 1:8,5; 1:7; 1:6,5; 1:6,5; 1:6,5.
- d) „ 3 „ 1:9; 1:8; 1:7; 1:7; 1:6; 1:5.
- e) „ 4 „ 1:7; 1:5.
- f) „ 5 „ 1:8; 1:7; 1:6; 1:6; 1:5,5; 1:5; 1:5.
- g) „ 10 „ 1:4,9; 1:4,6; 1:4,4; 1:3,5; 1:3,5; 1:3,1; 1:2,8.
- h) „ 15 „ 1:5; 1:4,5; 1:4; 1:3; 1:3.
- i) „ 20 „ 1:4; 1:3,5.

In allen Versuchen ist relativ viel längere Zeit für die Wiederherstellung der alten Farbe nötig, als erwärmt wurde. Das Verhältnis zwischen den Erwärmungszeiten und den Zeiten für die Farbrückkehr verschiebt sich aber, wie es scheint, mit der Verlängerung der Erwärmungszeiten so, daß für längere Erwärmungszeiten die Farbrückkehr relativ nach kürzerer Zeit erfolgt als nach kurzen Erwärmungszeiten. Diese Tatsache spricht dafür, daß die Erwärmung mit der Zeit einen neuen Gleichgewichtszustand herbeizuführen strebt, der nach erfolgter Abkühlung in einer spezifischen, von der Dauer der Erwärmung

unabhängigen Zeitdauer dem alten Gleichgewichtszustande wieder Platz macht. Eine Abhängigkeit der Dauer des Farberückschlages von der Dauer der Erwärmung würde also nur so lange zu erwarten sein, bis der der neuen, höheren Temperatur entsprechende Gleichgewichtszustand angenommen worden ist. Zur Erreichung dieses Gleichgewichtszustandes ist aber, wenigstens für  $42^{\circ}$ , lange Zeit nötig: nach 15 Minuten ist er noch nicht völlig zustande gekommen, wie aus der Verlängerung der absoluten Rückkehrzeiten bei 20 Minuten während der Erwärmung ersichtlich ist. Für eine Erwärmung von 15, von 20 Minuten und noch längeren Zeiten läßt sich nun bei *Erodium gruinum* die Zeit, die zur Wiederherstellung der alten Farbe nötig ist, nicht mehr leicht genau ermitteln, weil die Blütenblätter bei solchen Erwärmungsdauern stellenweise glasartig durchsichtig werden. Von Interesse sind deshalb die Versuche mit *Erodium ciconium*, weil sie die eben entwickelten Ansichten bekräftigen.

## II. Versuche mit *Erodium ciconium*.

Alles wie bei *E. gruinum*.

- a) Erwärmt 30 Sekunden 1:11; 1:9; 1:9.
- b) „ 1 Minute 1:8; 1:8; 1:8; 1:7; 1:6; 1:6; 1:6.
- c) „  $1\frac{1}{2}$  Minuten 1:4,3.
- d) „ 2 „ 1:7; 1:6,5; 1:6; 1:5,5; 1:5,5; 1:5,5;  
1:4,5; 1:4; 1:4; 1:4.
- e) „ 5 „ 1:3; 1:2; 1:1,8; 1:1,8; 1:1,8.
- f) „ 10 „ 1:1,4; 1:1,2; 1:1,1.
- g) „ 15 „ 1,5:1.
- h) „ 20 „ 2:1.

Hier verschiebt sich das Verhältnis zwischen Erwärmungsdauer und Dauer der Farbrückkehr viel schneller zuungunsten der letzteren bei Verlängerung der Erwärmungszeit. Der Gleichgewichtszustand, der der höheren Temperatur entspricht, wird viel schneller als bei *E. gruinum* angenommen: offenbar schon nach einer Erwärmungsdauer von etwa 2 Minuten. Ungefähr 10 Minuten sind alsdann dazu nötig, um bei Abkühlung den alten Farbton wiederherzustellen, und zwar unabhängig von einer weiteren Verlängerung der Erwärmungsdauer.

Faßt man nun einmal den Vorgang der Farbänderung selbst ins Auge, so lassen sich dabei zwei Phasen unterscheiden, sowohl bei Erwärmung wie bei Abkühlung: Die erste Phase, die bei Erwärmung eintritt, ist die Umwandlung des Blau in Rot, die zweite das Abblässen der roten Farbe; die erste Phase, die bei entsprechender Abkühlung sich geltend macht, ist die Umwandlung des roten Farbtons in einen blauen, die zweite Phase ist die Verstärkung der blauen Farbe. Der Farbumschlag beginnt bei stärkerer Erwärmung sowie bei entsprechender Abkühlung fast momentan. Es sieht fast so aus, als bestände die ganze Farbreaktion aus zwei nebeneinander herlaufenden oder aufeinander folgenden Vorgängen: I. der Farbenwandlung, II. dem Farbenschwund oder der Farbstoffregeneration. Farbstoffschwund und Farbstoffregeneration sind es nun, die in ihrem zeitlichen Verlauf und in ihrem zeitlichen Verhältnis zueinander weitgehende Ähnlichkeit zeigen mit den chemischen Vorgängen, die wir bei dem An- und Abklingen von Reizprozessen anzunehmen haben. Den fast augenblicklichen Beginn, die Veränderung bis zu einem von den obwaltenden Außen Umständen abhängigen Gleichgewichtszustande, die längere Dauer der Regeneration gegenüber der primären Veränderung und noch manches andere haben sie mit diesen hypothetischen chemischen Vorgängen gemeinsam.

Um so wichtiger erschien deshalb die Untersuchung der Frage, in welcher Weise und ob die Farbreaktion bei den Erodiumblüten vom Leben der Zellen abhängig ist. Zu dem Zwecke habe ich folgende Versuche mit *Erodium grinum* angestellt. In Chloroformdämpfen abgetötete Blüten behalten mehrere Stunden (3—6), ganz allmählich abblässend, ihre blaue Farbe. Bei Erwärmung tritt der Farbumschlag und der Farbstoffschwund noch ebenso ein wie an lebenden Petalen und zwar gleichfalls reversibel! Auch scheint es so, als beständen bei solchen Blüten noch ähnliche Beziehungen zwischen der Erwärmungsdauer und der für die Farbenrückkehr nötigen Zeit wie bei den lebenden Petalen. Freilich läßt sich das Verhältnis beider Zeiten an den gewelkten Kronen trotz vieler Bemühungen nicht mehr mit gleicher Sicherheit ermitteln wie an den lebenden. Ich gebe einige Beispiele. Aus nahe-

liegenden Gründen erwärmte ich alle abgetöteten Petalen nicht in Wasser, sondern in Luft.

In Chloroformdämpfen abgetötete Blüten von *Erodium gruinum*.

- a) Erwärmt 2 Minuten  $41^0$  1:7,5;  $41^0$  1:9;  $42^0$  1:10;  $42^0$  1:7;  
 $42^0$  1:6;  $43^0$  1:10;  $45^0$  1:9.
- b) „ 3 „  $42^0$  1:4;  $43^0$  1:8;  $44^0$  1:6.
- c) „ 5 „  $40^0$  1:6;  $42^0$  1:7;  $43^0$  1:6;  $45^0$  1:6;  
 1:6; 1:6.

Ähnlich verhält sich *Erodium ciconium*. Doch blassen die Petalen dieser Form nach Abtöten in Chloroform schneller ab.

Ferner habe ich Blüten von *Erodium gruinum* und *ciconium* in heißem Wasserdampf abgetötet. Dabei beobachtet man folgendes: Die Blütenblätter entfärben sich, nachdem sie zuvor weinrot geworden sind, fast vollständig und werden welk. Läßt man sie darauf abkühlen, so kehrt allmählich die blaue Farbe zurück. Manche Blüten nehmen alsdann einen ähnlich dunklen Farbenton an, wie die in Chloroformdämpfen getöteten Blüten; die meisten bleiben dauernd viel blasser. Erwärmt man diese in Wasserdampf abgetöteten Petalen aufs neue, sei es auf  $100^0$  oder auf  $42^0$ , so tritt wiederum die reversible Farbreaktion ein. Die zur Farbstoffregeneration nötige Zeit scheint bei solchen in der Hitze abgetöteten Blüten nicht mehr von der Dauer der Erwärmung abhängig zu sein: Wenigstens sah ich die Farbe nach 2 Minuten langer Erwärmung ebenso schnell wie nach 5 Minuten langer Erwärmung, nämlich nach 10 bis 15 Minuten, zurückkehren. Da die Blüten infolge der Abtötung in der Hitze aber, wie schon erwähnt, stark abblassen, so ist es noch schwerer als bei den mit Chloroform abgetöteten Blüten, an ihnen die für die Farbenrückkehr nötige Zeit genau festzustellen.

Diese Beobachtungen zeigen ganz augenscheinlich, daß die Farbenreaktion nicht an das lebende Plasma gekettet ist, daß sie kein Lebensvorgang ist, sondern daß sie irgend eine reversible chemische Reaktion anzeigt, die auch in abgestorbenen Zellen noch möglich ist. Ob hierin ein wichtiger Unterschied besteht zwischen der Farbreaktion und den chemischen Vorgängen, welche die Perzeption von Reizen begleiten, das wissen

wir zunächst natürlich nicht. Jedenfalls aber sind an den Blütenblättern auffällige Reizreaktionen nachweisbar, die von der Farbreaktion nicht begleitet werden: So laufen die Schließbewegungen der Blütenblätter ab ohne Farbänderung, fallen die Petalen in Kohlensäure nach 2 bis 3 Minuten, ohne sich zuvor zu verfärben, ebenso in Leuchtgas.

Nachdem erkannt war, daß die Farbenreaktion bei den Erodiumblüten kein Lebensvorgang ist, erschien es wichtig, Blütenextrakte auf ihr Verhalten gegenüber Erwärmung zu untersuchen. Ich will zunächst über meine Versuche mit Alkoholextrakten berichten, weil sie ganz eindeutige Ergebnisse geliefert haben. Wirft man Blütenblätter von *Erodium gruinum* oder von *E. ciconium* in absoluten oder 96% Alkohol, so nehmen sie zunächst weinrote Färbung an, um danach fast völlig abzubleichen. Der Alkohol bewirkt also ganz ähnliche Farbenänderungen wie die Wärme! Dampft man den filtrierten, nahezu farblosen Extrakt aus vielen Blütenblättern auf dem Wasserbade ein, so färbt sich die Flüssigkeit mit fortschreitender Einengung erst hellweinrot, dann dunkelweinrot; schließlich bleibt viel violetter Rückstand, der sich in wenig Wasser fast vollständig mit weinroter Farbe löst. Der mit Wasser aufgenommene und filtrierte Extrakt blaßt in kurzer Zeit schnell ab, wenn man zur Lösung wenig Wasser, stark, wenn man viel Wasser verwendet. Er verhält sich chemisch wie Anthocyane: er wird mit Säuren rot, mit Alkalien zunächst blau, dann grün. Dieser Extrakt erfährt sehr auffällige Veränderungen, wenn man ihn zum Kochen erhitzt: Er verfärbt sich dabei in gelb-orange oder rotorange und blaßt zugleich stark ab. Kühlt man die Lösung in fließendem Wasser schnell ab, so kehrt nach einiger Zeit die alte Farbe in der ursprünglichen Intensität zurück. Dieser Vorgang läßt sich beliebig oft wiederholen. Es ist aber durchaus nicht etwa notwendig, die Lösung bis auf 100° zu erhitzen, um den Farbumschlag hervorzurufen. Der Extrakt reagiert schon auf ganz geringe Temperaturerhöhung durch merkliche Farbänderung: bereits eine Temperaturerhöhung von 3° im Wasserbade gegenüber Zimmerluft macht sich durch geringe Farbenänderung bemerkbar! Eine Temperaturerhöhung von 5° hat bereits einen sehr auffälligen Erfolg. Wiederum handelt

es sich um die Verschiebung eines Gleichgewichtes: Hat die Färbung die einer bestimmten Temperatur entsprechende Nuance angenommen, so bleibt sie bei längerer Dauer der Erwärmung unverändert.

Solche Extrakte verhalten sich also ganz ähnlich wie die lebenden Petalen, obwohl ihre Färbung und ihre durch die Hitze bewirkte Verfärbung von den Petalen bedeutend abweicht. Von umso größerem Interesse ist es infolgedessen, daß der zeitliche Ablauf der Farbregeneration, die bei und nach der Abkühlung erfolgt, in diesen Extrakten und in den lebenden oder mit Chloroform abgetöteten Petalen ganz verschieden ist! Dafür möchte ich einige Beispiele anführen:

#### I. *Erodium gruinum*.

A. Alkoholextrakt, eingedampft, mit Wasser aufgenommen, Farbe der Lösung blaß-weinrot. Die Lösung wurde auf zwei gleich weite Reagensgläser verteilt, das eine Glas verschiedene Zeiten lang in kochendem  $H_2O$  erhitzt, dann in fließendem Wasser schnell abgekühlt.

- a) Erhitzt 1 Minute: nach 3 weiteren Minuten in der Farbe nahezu, nach noch einer Minute gleich mit der Kontrollösung.
- b) „ 2 Minuten: nach 3 weiteren Minuten in der Farbe nahezu, nach noch einer Minute gleich mit der Kontrollösung.
- c) „ 5 „ nach 3 weiteren Minuten in der Farbe nahezu, nach noch einer Minute gleich mit der Kontrollösung.
- d) „ 10 „ nach 3 weiteren Minuten in der Farbe nahezu, nach noch einer Minute gleich mit der Kontrollösung.
- e) „  $\frac{1}{2}$  Minute: nach 2 weiteren Minuten mit der Kontrollösung gleich.

B. wie A, aber viel dunklere Lösung.

- a) Erhitzt 1 Minute } nach 1 weiteren Minute nahezu, nach 2 weiteren
- b) „ 5 Minuten } Minuten gleich der Kontrollösung.

#### II. *Erodium ciconium*.

Wie bei I. Die Lösung sieht bordeauxweinrot aus. Nach 1, 2, 5, 10 Minuten langer Erhitzung kehrt die alte Farbe bei Abkühlung sofort zurück.

Die Farbänderung in den erwärmten Extrakten ist also sehr schnell reversibel; eine so enge Abhängigkeit zwischen der Dauer der Farbstoffregeneration und der Dauer der Erwärmung wie bei lebenden oder mit Chloroform abgetöteten Petalen besteht bei den Extrakten nicht! Worauf diese Verschiedenheiten beruhen, habe ich bis jetzt nicht ermitteln können. Die Hauptsache bleibt ja zunächst auch, daß sich eingedampfte und

mit Wasser aufgenommene Alkoholextrakte gegenüber Erwärmung in vieler Hinsicht ähnlich verhalten wie die lebenden Petalen! Daraus aber dürfte ersichtlich sein, daß die Farb-reaktion auch nichts mit dem toten Plasma oder mit Enzymen zu tun zu haben braucht, sondern durch Körper bedingt werden kann, die außer in Wasser auch in Alkohol löslich sind.

Mit Rücksicht auf das Verhalten der abgetöteten Petalen und der Alkoholextrakte ist nun von Interesse das Verhalten von Wasserextrakten, die man direkt aus den Petalen gewinnt. Darüber möchte ich nun noch berichten. Zerreibt man viele Petalen mit etwas Wasser in einer Reibschale, so erhält man einen violetten Brei; das Filtrat ist zunächst weinrot mit einem Stiche ins Blaue, blaßt aber in 10—20 Minuten, rötliche Farbe annehmend, stark ab, um schließlich ganz farblos zu werden. In der farblosen Lösung ist der Farbstoff indeß nicht oder nur teilweise zerstört. Denn dampft man den farblosen Extrakt auf dem Wasserbade ein, so erhält man einen blau-violetten Rückstand, der sich in wenig Wasser mit violetter Farbe löst. Die Menge dieses Rückstandes ist freilich gering. Setzt man mehr Wasser zu, so blaßt die Farbe in kurzer Zeit über rosa fast völlig oder völlig ab, um beim Eindunsten wieder zu erscheinen. Wird der eingedunstete Rückstand auf dem Wasserbade länger erhitzt, so färbt er sich, offenbar sich zersetzend, gelbbraun. Setzt man zu dem vorerwähnten farblos gewordenen Wasserextrakte einen Tropfen Salzsäure, so färbt er sich intensiv rot. Beim Erhitzen dieser Lösung tritt ebenfalls ein Farbumschlag ein: die rote Farbe wandelt sich in brandrot. Dieser Vorgang ist bei Abkühlung sofort reversibel. Übrigens verhalten sich die zuvor besprochenen, mit Wasser aufgenommenen Alkoholextrakte ebenso, wenn man sie mit Salzsäure versetzt.

Erhitzt man das gleich nach der Zerkleinerung der Petalen bereitete, noch weinrote Filtrat, so wird es zuerst rot, dann farblos. Die ursprüngliche Farbe kehrt bei nachfolgender Abkühlung indeß nicht zurück; auch nahm das Rot bei meinen Versuchen nicht wieder einen Stich ins Bläuliche an.

Die violette Lösung des Rückstandes, den man beim Eindampfen des Filtrates erhält, verhält sich anders: Sie verändert

beim Erhitzen ihre Farbe in gelbbraun; beim Abkühlen kehrt sehr langsam die violette Farbe so weit zurück, daß die Lösung gleiche Farbe mit einer Kontrollösung annimmt. Abweichend von den lebenden Blüten, aber in Übereinstimmung mit den Alkoholextrakten ist die zur Farbenrückkehr nötige Zeit unabhängig von der Dauer der Erwärmung: sie ist ebenso lang, ob man nun eine Minute oder 5 Minuten auf  $42^{\circ}$  oder auf  $100^{\circ}$  erhitzt. Auffallend ist aber, wie viel längere Zeit als bei den Alkoholextrakten für die Farbstoffregeneration (nach Erwärmung auf  $100^{\circ}$ ) nötig ist: bei einer der Lösungen ungefähr 30 Minuten, bei einer zweiten etwa 20 Minuten. Bei einer dritten waren dazu freilich nur 5 Minuten erforderlich. Diese Lösung war mehr rötlich gefärbt. Wodurch diese Verschiedenheiten bedingt werden, kann ich nicht mit Sicherheit sagen. Vielleicht beruhen sie auf der verschiedenen Azidität der Lösungen: Setzt man nämlich zu einer der blauvioletten Lösungen einen Tropfen Salzsäure, so nimmt sie tiefscharlachrote Farbe an. Beim Erhitzen wandelt sich die Farbe in ziegelrot. Dieser Vorgang ist bei Abkühlung sofort reversibel. Die durch ihre rötere Farbe als saurer kenntliche Lösung würde also vielleicht deshalb schneller die alte Farbe wiedergewinnen, weil sie saurer ist. Den gleichen Grund hat es wohl, daß die wäßrigen Lösungen der eingedampften Alkoholextrakte so schnell nach erfolgter Abkühlung ihre Farbe wieder annehmen.

Ehe ich nun der interessanten Frage nähertreten kann, worauf der Farbenumschlag in den Blüten und in ihren Extrakten beruht, will ich zunächst noch über die Ergebnisse berichten, die ich an anderen Pflanzen erzielt habe.

## Abschnitt II. Versuche mit anderen Formen.

So viele blau-, violett- und rotblühende Pflanzen ich auch untersucht habe, niemals ist mir, mit Ausnahme eben von *Erodium gruinum* und *E. ciconium*, bei Erwärmung auf nicht tödliche Temperaturen<sup>1</sup>, etwa auf  $40\text{—}43^{\circ}$ , eine auffällige Farb-

<sup>1</sup>) Von Verfärbungen, wie sie infolge tödlich wirkenden Temperaturen auftreten, sehe ich hier ab (vgl. viele solche Beobachtungen bei Buscalioni e Pollacci. 1903. S. 355 ff.). Sie haben keine direkte Beziehung zu den hier interessierenden Tatsachen.

änderung bemerkbar geworden, selbst nicht bei violett- oder blaublühenden Geranien. Das gilt im besonderen für alle die Formen, von deren Extrakten im folgenden die Rede sein wird. Um so merkwürdiger ist es, daß es nicht wenige Blumen gibt, deren Extrakte noch viel auffälligere reversible Farbänderungen bei Erwärmung zeigen, als die von *Erodium gruinum* und *E. ciconium*. Ich habe darüber keine systematischen Untersuchungen gemacht, sondern wahllos folgende Formen geprüft.

*Erodium Manescavi*. Der Alkoholextrakt der roten Blüten eingedampft, mit Wasser aufgenommen gibt eine rote, mit viel  $H_2O$  ablassende Lösung. Erhitzung verfärbt in orangegeb. Bei Abkühlung wird die alte Farbe innerhalb 1 bis  $1\frac{1}{2}$  Minuten zurückgewonnen. Eine Verfärbung tritt schon ein, wenn man den Extrakt um  $3^0$  über die Lufttemperatur erwärmt.

*Erodium*, unbestimmte Form mit kleinen weinroten Blüten. Der Alkoholextrakt, eingedampft, mit Wasser aufgenommen, ist rotbraun gefärbt. Durch Hitze reversibel verfärbbar zu hellbraun. Erst bei  $35^0$  ist eine Verfärbung bemerkbar.

*Geranium pratense*. Der Alkoholextrakt der blauen Blüten, eingedampft, mit  $H_2O$  aufgenommen, gibt eine violette Lösung. Durch Hitze reversibel zu blaßrot verfärbbar. Erst bei und oberhalb  $30^0$  tritt die Verfärbung ein. Mit  $HCl$  angesäuert rot, durch Hitze ebenfalls reversibel verfärbbar, und zwar zu brandrot.

*Geranium macrorrhizum*. Die rosa bis violettrosa gefärbten Blüten geben in der Reibschale bei  $H_2O$ -Zusatz zerrieben einen roten, schnell ablassenden Saft. Die karminrote wäßrige Lösung des eingedampften Alkoholextraktes verändert beim Erhitzen minimal die Farbe ins brandrote; der Vorgang ist bei Abkühlung allmählich reversibel. Mit  $HCl$  angesäuert wird die Lösung etwas heller rot, beim Erhitzen tritt kaum nachweisbare Verfärbung ein.

*Geranium sanguineum*. Der mit Wasser aufgenommene Alkoholextrakt hat dunkelviolette Farbe. Erhitzen wandelt die Farbe in ganz helles Rosa; die Farbe verschwindet fast völlig. Bei Abkühlung kehrt die alte Farbe ziemlich schnell zurück. Mit  $HCl$  angesäuert rot, durch Hitze reversibel verfärbbar zu brandrot. Beide Lösungen verfärben sich gerade eben, wenn man sie bis auf  $29^0$  erwärmt.

*Geranium sylvaticum*. Die violetten Blüten in der Reibschale zerrieben ergeben einen violettblauen, rasch ablassenden Extrakt. Der mit Wasser aufgenommene Rückstand des Alkoholextraktes aus den Blüten ist eine violette Lösung. Beim Erhitzen wandelt sich die Farbe in helles Rosa; Abkühlung ruft sofort den bläulichen Farbton zurück, die Farbe kehrt in alter Intensität allmählich wieder. Schon bei  $33^0$  wird der Extrakt fast farblos. Extrakt 2 Minuten und 10 Minuten auf  $71-72^0$  erhitzt, danach sofort abgekühlt, hatte die alte Farbe nach 8 Minuten wieder angenommen.

*Geranium phaeum*. Der mit Wasser aufgenommene Rückstand des Alkoholextraktes hat weinrote Färbung. Beim Erhitzen wandelt sich die Farbe in helles Rot; bei Abkühlung reversibel. Die Verfärbung beginnt bei etwa  $36^0$ .

*Geranium pyrenaicum* wie vorige sich verhaltend. Schon bei  $28^0$  ist eine geringe Verfärbung des Extraktes bemerkbar.

*Pelargonium zonale*. Der Wasserextrakt aus ziegelroten Blüten verändert seine ziegelrote Farbe in der Hitze so gut wie gar nicht. Mit Ammoniak wird die Lösung zuerst violett, dann orangerot. Die mit Ammoniak violett gemachte Lösung läßt beim Erhitzen die Farbe umschlagen: der Farbton wird rötlich, zugleich ablassend. Bei Abkühlung schlägt die Farbe zurück in violett, langsam an Intensität zunehmend. Mit kohlenurem Natron wird der Extrakt ebenfalls violett, blaßt erhitzt aber nicht ab.

Schon aus diesen Beobachtungen geht hervor, daß die Eigentümlichkeit anthocyanhaltiger Blütenextrakte, sich unter dem Einflusse von Temperaturschwankungen reversibel zu verfärben, weiter verbreitet ist und auch bei solchen Blüten vorkommt, die lebend bei entsprechenden Temperaturänderungen sich nicht verfärben.

Aus anderen Familien habe ich noch folgende Formen geprüft<sup>1</sup>.

A. Mit entsprechendem Erfolge.

1. Blaue oder violette Blüten von *Iris bohemica*, *Salvia pratensis* (oberhalb 32° Extrakte sich verfärbend), *Lupinus* (ebenso oberhalb 32°), *Whitlavia grandiflora*, violett- und blaublühende Stiefmütterchen (*Viola tricolor hortensis*), *Campanula carpathica* (oberhalb 36—37°), *Ipomoea spec.*

2. Rote Blüten von *Azalea spec.*: Der Wasserextrakt hat brandrote Farbe, er wird beim Erhitzen mehr gelbrot; bei Abkühlung schnell reversibel. *Papaver pinnatifidum* (des Hallenser Gartens): Der brandrote Wasserextrakt wird in der Hitze etwas dunkler, bei Abkühlung reversibel. *Paeonia*, leuchtend rote Blüten: Der rote Extrakt (Alkoholextrakt) blaßt in der Hitze ganz wenig ab, bei Abkühlung schnell reversibel. *Agrostemma Githago*: Die wäßrige Lösung des eingedampften Alkoholextraktes hat weinrote Farbe. Sie nimmt beim Erhitzen brandrote bis orangene Farbe an. In der Kälte kehrt die alte Farbe langsam zurück. *Dahlia sp.*: Der rote Extrakt wird in der Hitze heller und zugleich ziegelrot, bei Abkühlung schnell reversibel. Zusatz von Ammoniak färbt tief orangerot. In der Hitze vertieft sich der Farbenton, in der Kälte reversibel.

<sup>1</sup>) Zur Vermeidung von Mißverständnissen weise ich darauf hin, daß ich die Blüten stets mit Alkohol extrahiert, die Extrakte auf dem Wasserbade bis zur Trockne eingedampft und mit Wasser aufgenommen habe. Bei manchen Blüten waren die blauen Farbstoffe im absoluten Alkohole unlöslich. Ich habe in diesem Falle den Alkohol entsprechend verdünnt.

Auch die anthocyanhaltigen Extrakte aus anderen Organen können sich ähnlich verhalten: Schon Molisch (1889. S. 19, Anm. 1) beobachtete, daß eine aus etiolierten Rotkohlblättern bereitete Lösung, die bei Zimmertemperatur blau war, in der Hitze reversibel rot wurde. Ich kann diese Angabe bestätigen; doch war mein Extrakt bei Zimmertemperatur weinrot, nicht blau<sup>1</sup>.

Neben derartigen Formen, deren Extrakte bei kleineren oder größeren Temperaturänderungen auffällige reversible Farbänderungen erfahren, gibt es nun aber auch solche, bei denen dies nicht der Fall ist. So verhalten sich z. B. die Blütenextrakte von *Veronica chamaedrys*, *Cheiranthus Cheiri*, *Ajuga reptans*, *Hesperis matronalis*, die Extrakte aus den roten Hochblättern von *Anthurium Scherzerianum*, aus den Blättern der Bluthaselnuß (*Corylus Avellana*) und von *Coleus* (hier eine fast unmerkliche, reversible Farbänderung in der Hitze).

Diese Extrakte teilen aber mit den zuvor besprochenen die Eigentümlichkeit, daß sie mit HCl angesäuert in der Hitze die nunmehr rote Farbe reversibel in orange oder brandrot ändern. Dieser Farbenumschlag bleibt indessen aus bei den Extrakten aus den Blättern der Bluthaselnuß, den Hochblättern von *Anthurium*, den Blüten von *Papaver pinnatifidum*.

Also nicht alle anthocyanhaltigen Extrakte haben die Eigentümlichkeit, sich in der Hitze reversibel zu verfärben. Doch können auch solche, die diese Eigenschaft entbehren, nach Ansäuerung mit Salzsäure beim Erhitzen reversible Farbänderungen zeigen, und umgekehrt.

Es schien mir wünschenswert, die Eigenschaften eines der Extrakte, die sich in der Hitze auffällig verfärben, noch etwas genauer zu untersuchen. Ich wählte dazu die Stiefmütterchenblüten, weil sie in großer Menge zur Verfügung standen und sehr anthocyanreich sind, und zwar Sorten mit blau- oder dunkelviolettgefärbten Blüten, von denen ich noch besonders festgestellt habe, daß sie bei Erwärmung auf 40—50° ihre Farbe nicht änderten. Erhitzt man einen in der Reibschale herge-

<sup>1</sup>) Bei Portheim und Scholl (1908. S. 480) findet sich übrigens auch die kurze Angabe, daß wäßrige und alkoholische Auszüge aus blauen oder roten Organen bei Temperaturerhöhung, -erniedrigung, Verdünnung usw. »in vielen Fällen interessante Farbenumschläge« ergaben.

stellten Wasserextrakt aus den blauen Blüten auf 100°, so wandelt sich seine tiefblaue Farbe über weinrot in schmutziges Braun oder (seltner) über graublau in blaugrün. Bei schneller Abkühlung nimmt die Flüssigkeit schnell einen etwas dunkleren, blauerem Ton an. Nach einiger Zeit kehrt die ursprüngliche Farbe zurück. Andere Wasserextrakte von ursprünglich violetter Farbe werden in der Hitze grauviolett, schließlich über hellgrau-braun fast farblos.

In absolutem Alkohol werden die Blütenblätter fast ganz entfärbt, auch der Alkohol bleibt fast farblos; selbst dann, wenn man ihn mit viel Wasser im Überschusse versetzt. Zusatz eines Tropfens Salzsäure färbt intensiv weinrot. Eine solche saure Lösung wird in der Hitze leuchtend rot. Dieser Vorgang ist bei Abkühlung schnell reversibel. Beim Eindampfen der farblosen alkoholischen Lösung nimmt sie braunrote Farbe an. Schließlich bleibt der Farbstoff blauviolett zurück. Er löst sich in Wasser mit gleicher Farbe. Setzt man zu dem durch Eindampfen des Alkohols gewonnenen Rückstand wenig Alkohol, so löst er sich langsam mit weinroter Farbe; setzt man dazu viel Alkohol, so erhält man wieder eine fast farblose Lösung. Die wäßrige Lösung des Rückstandes aus dem Alkoholextrakte gibt nach einigen Stunden viel weißen Niederschlag, von dem man sie abfiltriert. Erhitzt man nun die kornblumenblaue oder violette Lösung, so wandelt sich die Farbe in schmutziges weinrot, das allmählich so gut wie ganz verblaßt. Kühlt man schnell ab, so kehrt sofort ein bläulicher Farbenton zurück, und kommt darauf allmählich die alte blaue oder violette Färbung wieder. Die alkoholischen Blütenextrakte verhalten sich also ganz und gar so, wie die von *Erodium gruinum*! Das gilt auch für die Zeitdauer der Farbstoffregeneration, wie die folgenden Versuche zeigen.

Wäßrige Lösung des eingedampften Alkoholextraktes aus Stiefmütterchenblüten.

Die Lösung wurde in einem Reagenzrohre in kochendem Wasser erhitzt, danach in fließendem Wasser sofort abgekühlt.

Erhitzt 30 Sekunden, Farbe regeneriert nach 3 Minuten

„	1 Minute,	„	„	„	4	„
„	2 Minuten,	„	„	„	4	„
„	8 „	„	„	„	4	„

Die Farbe der Lösungen ändert sich schon bei Erwärmung auf 30<sup>0</sup>, nicht mehr deutlich auf 27<sup>0</sup>. Ausschluß des Sauerstoffs von den stark erhitzten Lösungen durch Übersichten mit Olivenöl verhindert die Farbenregeneration nicht.

Die Extrakte verhalten sich chemisch wie Anthocyanlösungen: Sie färben sich mit Salzsäure rot. Wenig Ammoniakzusatz läßt die blauviolette Farbe zurückkehren. Auch solche blauvioletten Lösungen nehmen bei Erwärmung weinrote Farbe an, die schnell abblaßt. In der Kälte kehrt die alte Farbe zurück. Viel Ammoniak färbt die Extrakte grün. Kohlensaures Natron färbt ebenfalls grün, mit der Zeit wird daraus braungelb. Solche Lösungen verfärben sich in der Hitze nicht reversibel. Natriumphosphat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) färbt auch grün, ebenso Eisensulfat. Coffein gibt keinen Niederschlag, auch nicht in der Hitze, woraus ersichtlich, daß Overtons (1899. S. 220) gegenteilige Angabe nicht für alle Anthocyane richtig ist.

Ich habe nun versucht, den Anthocyanfarbstoff aus solchen Extrakten möglichst zu isolieren, um festzustellen, ob ihm allein schon die Eigentümlichkeit zukommt, sich in der Hitze reversibel zu verfärben.

Blüten in der Reibschale zerrieben, mit Wasser aufgenommen, Filtrat auf dem Wasserbad eingedampft. Rückstand in Alkohol absolut. gelöst, auf kleines Volumen eingedampft, gefällt mit Schwefeläther (worin das Anthocyan unlöslich ist), mit Äther oftmals ausgewaschen; Niederschlag in  $\text{H}_2\text{O}$  gelöst: die Lösung verfärbt sich in der Hitze noch immer und zwar ist der Vorgang wieder reversibel.

Man sieht daraus, daß die Verfärbung der Lösungen nur Körpern zugeschrieben werden kann, die ausschließlich in Wasser und in Alkohol, nicht aber in Schwefeläther löslich sind.

Ein zweiter Versuch, das Anthocyan weiter zu reinigen, wurde mit essigsauerm Blei gemacht.

Extraktion der Blüten mit Alkohol, abgedampft, mit  $\text{H}_2\text{O}$  aufgenommen. Lösung nach 24 Stunden filtriert. Mit viel essigsauerm Blei auf dem Wasserbade längere Zeit erwärmt. Das Blei färbt die Lösung grün. Nach einiger Zeit entsteht ein grüner Niederschlag. Der Niederschlag wird abfiltriert, oftmals mit  $\text{H}_2\text{O}$  gewaschen. Durch Zusatz von Schwefelwasserstoffwasser geht der Farbstoff wieder in Lösung; abfiltriert, eingedampft, mit Alkohol aufgelöst, wiederum eingedampft und mit Wasser Rückstand gelöst: Es gibt eine weinrote Lösung, die bei Erwärmung brandrot wird. Beim Abkühlen kehrt die alte Farbe zurück in ganz gleicher Weise wie bei den angesäuerten Blütenextrakten.

Aus diesem Versuche, bei dem ich zur Isolierung des Farbstoffes die seit langer Zeit wohl zuerst von Fremy et Cloez angegebene, übliche Methode angewendet habe, dürfte hervorgehen, daß Salze, die dem Farbstoffe in den Blütenextrakten beigemischt sind, nicht der Anlaß für die Farbänderung in der Wärme (etwa durch ihre Dissoziation) sind. Es sieht vielmehr so aus, als wäre es der Farbstoff selbst, der in der Hitze seine optischen Eigenschaften ändert. Übrigens dürfte der mit Schwefelwasserstoff in Freiheit gesetzte Farbstoff kein echtes Anthocyan mehr sein: denn seine wässrige Lösung färbt sich mit Ammoniak orangefarbig. Löst man den mit essigsäurem Blei erzeugten Niederschlag in Salzsäure auf, so erhält man eine weinrote Lösung, die in der Hitze sich reversibel in brandrot verfärbt.

### Abschnitt III.

## Ursachen der Farbänderungen in den Extrakten der Blüten und in den Blüten.

Worauf beruhen nun die eigenartigen Farbänderungen, die durch Erwärmung bei den Erodiumblüten und bei zahlreichen Extrakten aus anthocyanhaltigen Organen zustande kommen? Welche Körper veranlassen sie und welche Rolle spielt der Anthocyanfarbstoff dabei? Diese Fragen sind zurzeit recht schwer befriedigend zu beantworten, vor allem schon deshalb, weil wir über die Chemie der Anthocyane so gut wie gar nichts Greifbares wissen!

Ich fasse zunächst einmal ganz allein die Extrakte ins Auge. Zwei Möglichkeiten bieten sich hier dar: a) die reversiblen Farbänderungen werden bewirkt dadurch, daß chemische Verbindungen, die den Farbstoffen beigemischt sind, sich bei Temperaturänderungen reversibel verändern, b) die Farbänderungen kommen durch den Farbstoff selbst zustande, indem sich dieser selbst reversibel verändert. Die erstere Annahme hat schon Molisch (1889. S. 19, Anm. 1) gemacht, um seine Entdeckung, die reversible Farbänderung anthocyanhaltiger Rotkohlextrakte unter dem Einflusse der Hitze auszudeuten. Er meint: »Die Farbenänderung des Anthok. dürfte wohl nicht auf einen directen Einfluß der Temperatur, sondern auf eine durch die

höhere Temperatur eingeleitete Zerlegung gewisser in der A.-Lösung vorhandenen Salze zurückzuführen sein . . . Nehmen wir . . . an, daß ein solches Salz eine flüchtige Säure enthält, dann wird die Base zurückbleiben und das Anthokyan blau färben. Ist dagegen die Base flüchtig, dann bleibt die Säure zurück und färbt das Anthokyan roth«. Daß weder Molischs Vorstellung, noch die einer durch die Wärme bewirkten Dissoziation von Körpern, die der Farblösung beigemischt sind, die Farbenänderungen befriedigend erklären können, ist klar. Konnte ich doch zeigen, daß solche Farbstofflösungen, die sehr stark mit Salzsäure angesäuert waren, gleichwohl noch sehr auffällige Farbwandlungen in der Wärme durchmachten, Wandlungen, die in der Kälte reversibel sind. Zudem gibt es entsprechende Farbänderungen, wie ich am Ende des letzten Abschnittes zeigte, auch dann noch, wenn man den Farbstoff, soweit dies mit unseren Methoden zurzeit möglich, isoliert und reinigt.

Diese eben erwähnten Beobachtungen sprechen weit mehr dafür, daß es der Farbstoff selbst ist, der reversible Farbwandlungen in der Hitze erfährt. Man könnte etwa daran denken, daß sich der Farbstoff leicht dissoziiert, so auch in der Hitze. Mit dieser Annahme würde vielleicht die Tatsache sich erklären lassen, daß der Farbstoff in wenig Wasser mit dunkler Farbe löslich ist, bei Zusatz von mehr Wasser aber schnell unter Rotfärbung stark abblaßt, um bei Eindunstung der Lösung wieder in violetter Farbe zu erscheinen. Freilich sind bei einem so komplizierten Körper, wie dem Anthocyanfarbstoff, auch andere Erklärungsmöglichkeiten in Betracht zu ziehen: Verschiebungen von Hydratations- und Solvatationszuständen, Komplexsalzbildungen und Hydrolysen sind nicht ausgeschlossen (vergl. auch Ley. 1911. S. 16, 193 ff.). Eine Entscheidung ist zurzeit unmöglich. Jedenfalls ist beachtenswert, daß alle Farbänderungen bei Erwärmung kontinuierlich, nicht diskontinuierlich eintreten und daß sie reversibel sind. Wieweit durch spektroskopische Untersuchungen eine weitere Einengung möglich wäre, läßt sich nicht voraussehen. Ob der Farbenschlag von Blau in Rot mit einer Säurebildung zusammenhängt, läßt sich zurzeit ebenfalls nicht sagen.

Ich wende mich von den Extrakten zu den Blüten. Folgende neue Tatsachen müssen hier in den Kreis der Betrachtungen gezogen werden, um dem Wesen der Farbstoffänderungen hier näher zu kommen. Das Verhalten der Blüten unterscheidet sich von dem der Extrakte durch mancherlei; nämlich erstens dadurch, daß in den meisten lebenden Blüten die Farbstoffe bei Erwärmung nicht entsprechende Farbwanlungen durchmachen wie die Extrakte. Diese Tatsache zeigt, daß in dem Zellsaft der lebenden Blüten die Bedingungen fehlen, um solche Veränderungen, sei es nun in den Farbstoffen selbst, sei es in beigemengten Stoffen, wie in den Extrakten bei Erwärmung zu veranlassen. Vielleicht sind Körper vorhanden, die in der lebenden Zelle die Veränderung des Farbstoffes verhindern; vielleicht sind kolloidale Zustände hinderlich; vielleicht aber werden erst durch die Abtötung die Farbstoffe so verändert, daß in der Wärme die Umfärbung eintritt.

Die lebenden Blüten der blaublühenden Erodien unterscheiden sich ferner dadurch sehr von den Wasser- oder Alkoholextrakten, daß die Farbstoffregeneration so auffällig von der Dauer der vorausgegangenen Erwärmung abhängt. Hier die infolge der Erwärmung auftretende Verfärbung anders als bei den Extrakten aufzufassen, dafür liegt wohl kein Grund vor: es gibt eben hier nur im Gegensatz zu den anderen Blüten schon im Zellsafte der lebenden Blüten die Bedingungen, die für die Farbwandlung nötig sind. Von größtem Interesse ist aber die enge Abhängigkeit der Farbstoffregeneration von der Dauer der Erwärmung. Denn eine solche war bei keinem der Extrakte zu beobachten gewesen. Diese Abhängigkeit scheint dafür zu sprechen, daß die Farbenreaktion bei den lebenden Blüten ein komplizierterer, aus mehr Faktoren zusammengesetzter Vorgang ist als in den Extrakten. Vielleicht gibt es Bedingungen in der lebenden Zelle, die hemmend auf die Farbstoffregeneration wirken. Man könnte hier auch an den Einfluß kolloidaler Zustände denken. Übrigens scheint in den lebenden Blüten auch der der höheren Temperatur entsprechende Gleichgewichtszustand wesentlich später als in den Extrakten erreicht zu werden. Einige Beobachtungen an den Wasserextrakten aus den Blüten könnten auch den Gedanken nahe legen, daß die

Bedingungen, die die Farbstoffregeneration hemmen, chemische Stoffe sind. Sehr auffallend ist ja die Tatsache, daß die Regeneration des Farbstoffes in den Wasserextrakten aus *Erodium gruinum*-Blüten recht lange Zeiten beansprucht und zwar bei verschiedenen Extrakten verschieden lange Zeiten: z. B. 30 Minuten, 20 Minuten, 5 Minuten (vergl. S. 92). Dann müßten aber in der lebenden Zelle diese Stoffe bei höherer Temperatur in größerer Menge als in der Kälte und zwar bis zu einem gewissen Gleichgewichtszustande gebildet werden und bei Abkühlung viel langsamer wieder verschwinden als sie in der Wärme gebildet wurden.

Wie dem auch sein mag, jedenfalls ist von großer Bedeutung die Tatsache, daß die Farbstoffregeneration ihre Abhängigkeit von der Dauer der vorausgegangenen Erwärmung durch die Abtötung der Blüten in der Hitze einbüßt: wenigstens habe ich weder bei solchen getöteten Blüten noch in Wasserextrakten, die auf dem Wasserbade eingeeengt worden waren, etwas derartiges gesehen. Es scheint also diese Abhängigkeit eine Eigenschaft zu sein, die durch tödliche Eingriffe in das lebende System leicht aufgehoben werden kann. Freilich scheint sie eine direkt vitale Eigenschaft nicht zu sein; denn nach meinen Beobachtungen besteht sie auch noch fort, wenn man die Blüten kurze Zeit zuvor mit Chloroformdämpfen abgetötet hat. Dadurch, daß diese Abhängigkeit mehr oder weniger ans Leben der Blütenblätter gekettet zu sein scheint, gewinnt sie ein besonderes Interesse mit Rücksicht auf die ähnliche Abhängigkeit, welche zwischen dem Abklingen der Erregungen von der Dauer der Reizungen besteht. Vielleicht also beruht die große Ähnlichkeit zwischen beiden Erscheinungen, auf die ich in dieser Arbeit wiederholt hingewiesen habe, auf mehr als auf einer bloßen Analogie! Vielleicht ist das Abklingen der chemischen Vorgänge, die die Erregungsprozesse begleiten, in ähnlicher Weise nur deshalb von der Dauer der Reizung abhängig, weil in der lebenden Zelle Bedingungen vorhanden sind, die den Verlauf des Abklingens zeitlich hemmen. Bei dem absoluten Dunkel, in welches die chemischen, der Reizperzeption, dem Anwachsen und dem Abklingen der Erregungen entsprechenden Vorgänge

noch immer gehüllt sind, dürften jedenfalls die eigenartigen Verfärbungen der Erodiumblüten eine gewisse Beachtung verdienen.

Woher es kommt, daß die anthocyanhaltigen Extrakte der Blüten mancher Pflanzen bei der Erwärmung keine Farbänderungen durchmachen, läßt sich natürlich nicht ohne weiteres sagen. Chemische Verschiedenheiten, die es zwischen den Anthocyanfarbstoffen sicherlich gibt, könnten daran ebenso wie andere Umstände beteiligt sein.

Ob die Verfärbungen der Erodiumblüten eine biologische Bedeutung haben, auch diese Frage läßt sich schwer beantworten. Sie sind jedenfalls unter normalen Verhältnissen so unauffällig, daß ich einen biologischen Nutzen bezweifeln möchte.

Ob die bekannten Farbänderungen, welche manche Blüten während ihres Entwicklungsganges durchmachen, so die von *Pulmonaria*, *Orob. vernus* u. a., irgend welche innere Ähnlichkeit haben mit den in dieser Arbeit beschriebenen Farbwandlungen, das entzieht sich ebenfalls vorläufig jeder Beurteilung.

#### Abschnitt IV.

### Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

Die blauen Blüten von *Erodium gruinum* und *E. ciconium* ändern bei Erwärmung in sehr auffälliger Weise ihre Farbe: Sie sind bei niederen Temperaturen (bis etwa 20°) blau, bei höheren weinrot, rosa, endlich in sehr hohen fast farblos. Jeder Temperatur kommt als entsprechender Gleichgewichtszustand ein bestimmter Farbenton der Blüten zu.

Ändert man die Temperatur plötzlich, so beginnt fast augenblicklich ein Farbenumschlag und zwar wird die Farbe, die der tieferen Temperatur entspricht, viel langsamer zurückgewonnen, als sie bei entsprechender Erwärmung verloren ging. Es dauert um so länger, bis bei Abkühlung die alte Farbe zurückkehrt, je länger die Blüten erwärmt worden sind.

Das Verhältnis zwischen den Erwärmungszeiten und den für die Farbenrückkehr nötigen Zeiten verschiebt sich mit der Verlängerung der Erwärmungszeiten so, daß für längere Erwärmungszeiten die Farbenrückkehr relativ nach kürzerer Zeit erfolgt, als nach kurzen Erwärmungszeiten. Offenbar streben

die durch die Erwärmung veranlaßten Veränderungen einem neuen Gleichgewichtszustande zu. Dieser wird bei *E. ciconium* schon nach 2 Minuten langer, bei *E. gruinum* dagegen noch nicht völlig nach 15 Minuten langer Erwärmung auf  $42^{\circ}$  angenommen.

Die Farbenänderung selbst besteht aus zwei Phasen: die erste Phase nach einer Erwärmung ist die Umwandlung des Blau in Rot, die zweite das Abblassen des Rot; die erste Phase nach Abkühlung ist der sofortige Umschlag des Rot in Blau, die zweite die Verstärkung der blauen Farbe.

Der Farbstoffschwund und die Farbstoffregeneration zeigen in ihrem zeitlichen Verlaufe und in ihrem zeitlichen Verhältnisse zueinander weitgehende Ähnlichkeit mit den chemischen Vorgängen, die wir bei dem An- und Abklingen von Reizprozessen theoretisch anzunehmen haben: Den fast augenblicklichen Beginn, die Veränderung bis zu einem von der herrschenden Temperatur abhängigen Gleichgewichtszustand, die längere Dauer der Regeneration gegenüber der primären Veränderung haben sie mit diesen hypothetischen chemischen Vorgängen gemeinsam. Dadurch sind diese Farbänderungen von besonderem Interesse.

Tötet man die Blüten in Chloroform oder Wasserdampf ab, so tritt der Farbenumschlag bei Erwärmung noch ebenso ein, wie an lebenden Petalen und zwar ebenfalls reversibel. Nur bei den in Chloroformdämpfen abgetöteten Blüten scheinen aber solche Beziehungen zwischen der Erwärmungsdauer und der für die Farbenrückkehr nötigen Zeit wie bei den lebenden Petalen fortzubestehen, nicht mehr dagegen bei den in der Hitze abgetöteten Petalen. Diese Beobachtungen zeigen, daß zwar die Farbenänderung nicht an das Leben der Zellen geknüpft ist, daß aber durch die Erhitzung die Bedingungen zerstört werden, welche den zeitlichen Ablauf der Farbstoffregeneration in den lebenden Zellen in so enger Abhängigkeit von der Erwärmungsdauer regeln.

Auch die in Wasser gelösten Rückstände der Alkohol-extrakte aus den Blüten zeigen entsprechende reversible Farbänderungen bei Erwärmung: Schon eine Erwärmung von  $3-5^{\circ}$  über die Zimmertemperatur ändert den Farbenton solcher wein-

roter Lösungen ganz wesentlich, indem ein neuer Gleichgewichtszustand angenommen wird. Diese Extrakte verhalten sich also in vieler Hinsicht ebenso wie die lebenden Blüten. Kühlt man aber die Extrakte ab, so ist die Farbänderung sehr schnell reversibel, ohne Abhängigkeit der Regenerationsdauer von der Erwärmungszeit.

Die mit Wasser aufgelösten Rückstände von Wasserextrakten aus den zerriebenen Blüten verhalten sich gegenüber Erwärmung im wesentlichen wie die Alkoholextrakte. Auch hier fehlt die für die lebenden Blüten so charakteristische Abhängigkeit der Farbstoffregeneration von der Erwärmungsdauer. Ein auffälliger Unterschied zwischen den Wasser- und zwischen den Alkoholextrakten besteht aber darin, daß bei den ersteren viel längere Zeit für die Farbstoffregeneration nötig ist, als bei diesen.

Salzsäure färbt die Extrakte rot. Auch diese Lösungen verfärben sich bei Erwärmung reversibel und zwar in brandrot.

Bei anderen blau-, violett- oder rotblühenden Blüten habe ich niemals solche Farbänderungen infolge von Erwärmungen beobachtet, wie bei *Erodium gruinum* und *E. ciconium*.

Dagegen gibt es viele solche Blüten, deren Extrakte noch viel auffälligere reversible Farbänderungen bei Erwärmung zeigen, als die von den genannten *Erodium*-arten: so bei vielen Spezies von *Erodium*, *Geranium*, bei *Iris bohemica*, *Viola hortensis*, *Salvia pratensis*, *Lupinus*, *Agrostemma Githago*, *Azalea* u. a., desgl. die Extrakte aus den Rotkohlblättern.

Die Temperaturen, bei denen eben die ersten Spuren einer Verfärbung der Extrakte gegenüber 16—20° sichtbar werden, liegen bei den verschiedenen Arten verschieden hoch: Bei den *Erodium*-arten genügt dafür schon eine Temperaturerhöhung um 3°; bei anderen Arten muß man indessen bis auf mindestens 30° oder gar 35° erhitzen.

Keine solchen Reaktionen habe ich indes beobachtet an den Extrakten z. B. aus den Blüten von *Veronica chamaedrys*, *Cheiranthus Cheiri*, *Ajuga reptans*, *Hesperis matronalis*, aus den Hochblättern von *Anthurium Scherzerianum*, den Blättern der Bluthaselnuß und von *Coleus*. Diese Extrakte (Ausnahme aber z. B. *Anthurium*, Bluthaselnuß) machen aber nach Ansäue-

zung mit HCl Farbänderungen in der Hitze durch, die reversibel sind.

Die Eigenschaften des Extraktes aus blauen und violetten Stiefmütterchen- (Viola-) Blüten stimmen mit denen des Extraktes aus den Blüten von *Erodium gruinum* völlig überein. Der Anthocyanfarbstoff zeigt in wäßriger Lösung die charakteristischen Farbänderungen auch dann noch, wenn man ihn, soweit dies mit den heutigen Methoden möglich, reinigt. Diese Tatsache legt die Vermutung nahe, daß an den Farbänderungen der Farbstoff selbst sehr stark beteiligt ist. Manche Beobachtungen könnten darauf hindeuten, daß Dissoziationsvorgänge an den reversiblen Farbänderungen beteiligt sind. Doch läßt sich zurzeit nichts genaueres über das Wesen der Farbänderungen sagen, da die Chemie des Anthocyanfarbstoffes noch völlig im Argen liegt.

Die Farbänderungen der lebenden Blüten von *Erodium gruinum* und *E. ciconium* sind vor allem von Interesse, weil sie so viele Ähnlichkeiten darbieten mit dem Ablauf der chemischen Vorgänge, welche die Erregungsvorgänge begleiten dürften.

Halle a. S., Botanisches Institut, 27. Juli 1911.

---

### Zitierte Literatur.

1903. Buscalioni, L., e Pollacci, G., Le antocianine ed il loro significato biologico nelle piante. *Atti ist. bot. Univ. Pavia*. N. S. 1903. **8**, 135 ff.
1911. Fitting, H., Untersuchungen über die vorzeitige Entblätterung von Blüten. *Jahrb. f. wiss. Bot. (Pringsh.)*. 1911. **49**, 187 ff.
1911. Ley, H., Die Beziehungen zwischen Farbe und Konstitution bei organischen Verbindungen. Leipzig, 1911.
1889. Molisch, H., Über den Farbenwechsel anthocyanhaltiger Blätter bei rasch eintretendem Tode. *Bot. Zeitg.* 1889. **47**, 17 ff.
1899. Overton, E., Beobachtungen und Versuche über das Auftreten von rotem Zellsaft bei Pflanzen. *Jahrb. f. wiss. Bot. (Pringsh.)*. 1899. **33**, 171 ff.
1908. Porthem, L. von, und Scholl, E., Untersuchungen über die Bildung und den Chemismus von Anthokyanen. *Ber. d. d. bot. Ges.* 1908. **26a**, 480 ff.
-

# Das Offen- und Geschlossensein der Spaltöffnungen, veranschaulicht durch eine neue Methode (Infiltrationsmethode).

Von

Hans Molisch.

Mit 2 Textfiguren.

---

## I.

Bei der großen Bedeutung der Spaltöffnungen für die Transpiration und den Gaswechsel der Pflanze kommt der Physiologe oft in die Lage, nachweisen zu müssen, ob die Spaltöffnungen offen oder geschlossen sind. Früher machte man zu diesem Zwecke nicht allzu dünne Flächenschnitte von dem zu untersuchenden Blatte und betrachtete die Spaltöffnungen direkt im Mikroskope. Diese Methode kann aber zu falschen oder unsicheren Ergebnissen führen, weil der Turgor und die Gewebespannung der abgezogenen Epidermis, beziehungsweise der Schließ- und Nebenzellen sich infolge der Isolierung von dem übrigen Blattgewebe ändern. Nur wenn das intakte Blatt direkt unterm Mikroskope betrachtet wird, gibt die mikroskopische Beobachtung verläßliche Resultate. Allein wegen der Undurchsichtigkeit der meisten Blätter läßt sich diese Methode nur in seltenen Fällen anwenden. — Im Jahre 1908 hat Lloyd<sup>1</sup> die mikroskopische Methode insofern modifiziert, als er nicht die lebende, sondern die tote und fixierte Epidermis unterm Mikroskop betrachtete. Er streift die Epidermis vom lebenden Blatte ab und taucht sie dann rasch in absoluten Alkohol. Die Spaltöffnungen zeigen dann nach der Angabe des genannten Autors genau dieselbe Spaltenweite wie im Leben<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>) Lloyd, F. E., The physiology of Stomata. Carnegie Institution, Washington. 1908. S. 1—142. Publication No. 82.

Er arbeitet hauptsächlich mit 2 Pflanzen, *Fouquiera splendens* und *Verbena ciliata*, und bringt in einer sehr umfangreichen Arbeit viele Versuchsreihen, hauptsächlich über seine Methode, die Beziehungen zwischen der Transpiration und der Spaltöffnungsbewegung und über die chemischen Vorgänge in den Schließ- und Nebenzellen. —

Die mikroskopische Untersuchung der Spaltenweite lebender Stomata, wie sie von Unger, H. v. Mohl, Leitgeb und vielen anderen gehandhabt wurde, war zweifellos eine Quelle mancher Irrtümer. Ihr gegenüber bedeutet die mikroskopische Methode Lloyds mit dem toten, durch Alkohol fixierten Spaltöffnungsapparat jedenfalls einen Fortschritt.

Ein zweites ungemein einfaches und gleichzeitig ausgezeichnetes Verfahren, die sogenannte »Kobaltprobe«, verdanken wir Stahl<sup>1</sup>. Bekanntlich unterscheiden sich die Kobalto- oder Kobaltoxydulverbindungen in wasserfreiem und wasserhaltigem Zustande durch ihre Farbe. Wasserhaltig erscheinen sie rot, wasserfrei blau. Auf dieser Eigenschaft beruht seit langer Zeit ihre Verwendung zu sympathetischer Tinte und zu verschiedenen Wetterbildern. Stahl hat mit schönem Erfolg diese Eigenschaft in den Dienst der Physiologie gestellt. Filtrierpapierstreifen werden mit 5% Kobaltochloridlösung getränkt und dann am Ofen oder an der Sonne getrocknet. Bedeckt man ein Blatt, das nur auf der Blattunterseite Spaltöffnungen enthält, während diese offen sind, ober- und unterseits mit trockenem, also blauem Papier und legt das Ganze zwischen zwei Glasplatten, so färbt sich das auf der Unterseite des Blattes liegende Papier alsbald rot, während das an der Oberseite sich gar nicht oder erst viel später rot färbt.

Eine dritte, gleichfalls sehr einfache und zu guten Resultaten führende Methode ist die hygroskopische von F. Darwin<sup>2</sup>. Mit Hilfe seines Hornhygroskops, das im wesentlichen aus einem

<sup>1</sup>) Stahl, E., Einige Versuche über Transpiration und Assimilation. Bot. Zeitg. 1894. S. 117.

<sup>2</sup>) Darwin, F., Observations on Stomata. Philos. transact. r. soc. London. Ser. B. 1898. 190, 531—621. —

—, Observations on Stomata. Proceedings of the Royal Society. 1898. 63. Diese Arbeit ist ein Auszug der vorigen.

3 mm breiten, 8 mm langen und mit einer Skala verbundenen Hornstreifen besteht, bestimmt er die Transpirationsgröße eines Blattes und schließt daraus auf die Öffnungsweite der Spaltöffnungen. Seine an genauen Beobachtungen reiche Abhandlung ist ein Beweis von der Nützlichkeit seiner Methode und ich habe mich selbst mit Hilfe des Hornhygroskops, das ich durch die gütige Vermittlung des englischen Forschers erhielt, überzeugt, daß Darwins Verfahren deshalb so wertvoll ist, weil es, indem es die Länge des Weges der auf dem Horne aufgeklebten Haarspitze zahlenmäßig zu bestimmen erlaubt, auch approximativ verschiedene Öffnungsweiten der Stomata angibt. —

Gerade bei Abschluß dieses Manuskriptes erschien eine neue Arbeit von F. Darwin und Pertz<sup>1</sup>, in der die Verf. einen neuen einfachen Apparat zur Beurteilung der Spaltenweite beschreiben und den sie gemäß seiner Leistungsfähigkeit, wie ich glaube mit Recht, noch über das Hornhygroskop stellen. Dieser Apparat — Porometer genannt — besteht im wesentlichen aus einer kleinen glockenförmigen Glaskammer, die durch einen Kautschukschlauch mit einem Glas-T-Rohr verbunden ist. Der rechte horizontale Teil des T-Stückes trägt den genannten Schlauch, der linke trägt gleichfalls einen Kautschukschlauch mit Quetschhahn und der lange graduierte Schenkel taucht in ein Gefäß mit Wasser. Vor dem Versuch wird die Glaskammer mit ihrem basalen verbreiterten Rande gewöhnlich mit Leim luftdicht auf die spaltöffnungsführende Unterseite des Blattes aufgesetzt. Saugt man dann nach Öffnung des Quetschhahnes die Luft an, so steigt das Wasser bis zu einer gewünschten markierten Höhe, wonach der Quetschhahn geschlossen wird. Infolge des Minderdruckes in der Röhre strömt durch die Spaltöffnungen Luft in die Röhre herein und die Wassersäule sinkt. Die Zahl der Sekunden, die verstreichen müssen, damit der Wassermeniskus in der graduierten Röhre eine bestimmte Zahl von Teilstrichen fällt, gibt ein Maß ab, für die relative Weite der Spalten. Der Hauptvorteil der Porometermethode liegt darin, daß ihre Angaben direkt abhängen von der Öffnungsweite der Spalten und unabhängig sind von der Transpiration.

<sup>1</sup>) Darwin, F., and Pertz, D. F. M., On a new Method of Estimating the Aperture of Stomata. Proceedings of the Royal Society. B. 1911. **84**, 136—154.

Bei Stahls Kobalt- und Darwins Hygroskopmethode schließt man hingegen indirekt aus der Transpiration auf die relative Weite der Spalten. Die Ergebnisse, zu denen Darwin mittels seines Porometers über den Einfluß des Lichtes und des Welkens auf die Spaltöffnungen gelangte, bestätigen seine früher mit dem Hornhygroskope erhaltenen, seine Porometerergebnisse sind aber noch genauer und anschaulicher.

Der Vollständigkeit halber sei noch auf die Methode von Buscalioni und Pollacci<sup>1</sup> hingewiesen, die mittels eines Kollodiumhäutchens die Transpiration und das Offen- und Geschlossensein der Spaltöffnungen studierten. Die Kollodiumlösung wird mit einem Pinsel auf die zu untersuchenden Organe in dünner Schicht aufgetragen. Nach dem Eintrocknen wird das Kollodium abgezogen und mikroskopisch betrachtet. Man sieht dann die Umrisse der Zellen und die Spaltöffnungen oft mit solcher Deutlichkeit, daß man die Spaltenweite gut beurteilen kann.

## II.

### Die Infiltrationsmethode.

Vor einiger Zeit kam ich auf den Gedanken, daß es vielleicht dadurch gelingen könnte, das Offensein der Spaltöffnungen zu demonstrieren, daß man auf die Stomata führende Epidermis Tropfen von Flüssigkeiten bringt, die rasch in sehr kleine Kapillaröffnungen, wie sie durch die Spalten der Spaltöffnungsapparate repräsentiert werden, einzudringen vermögen. Würden gewisse Flüssigkeiten durch die Spalten rasch in die Atemhöhlen und von hier aus in die Interzellularen des Schwammparenchyms des Blattes eintreten, so würde das Blattgewebe an der betreffenden Stelle rasch infiltriert, im auffallenden Lichte dunkel und im durchfallenden Lichte durchscheinend werden. Auf diese Weise müßte sich das Offensein der Spalten verraten. Beim Geschlossensein hingegen müßte die Infiltration unterbleiben. Nach bekannten Erfahrungen war es selbstverständlich, daß sich Wasser hierzu nicht eignen würde, da dieses in die Spalten und Atemhöhlen der Spaltöffnungen entweder

<sup>1</sup>) Buscalioni, L., e Pollacci, G., L'applicazione delle pellicole di collodio allo studio di alcuni processi fisiologici nelle piante. (Atti ist. bot. Pavia. N. Ser. 1901. 7. S.-A. 12 S. Mit 1 Taf.)

gar nicht oder erst nach längerer Zeit eindringt. Häufig schon deshalb, weil die Blattunterseite und die darin eingebetteten Spaltöffnungen wegen des Wachsüberzuges gar nicht benetzbar sind. — Anders steht es mit käuflichem absoluten Alkohol. Bringt man auf die untere Epidermis eines Laubblattes, dessen Spaltöffnungen weit geöffnet sind, einen Tropfen Alkohol, so tritt er momentan oder nach wenigen Sekunden in die Spalten ein, infiltriert das Blatt an der betreffenden Stelle und macht sie dunkel. Im durchfallenden Lichte erscheint die Stelle deutlich transparent. —

Ich bringe den Tropfen aus einem kleinen Stiftfläschchen, wie sie der Mikroskopiker für seine Präparate verwendet, mittels des Stiftes, der auch ein Glasröhrchen sein kann, auf das Blatt, wobei jede unsanfte Berührung mit dem Ende des Stiftes vermieden werden muß, weil sonst eine kleine Wunde entstehen könnte, durch die der Alkohol leicht eindringt. Die Infiltration äußert sich entweder in Form zahlreicher dunkler, zerstreuter Punkte oder größerer Inseln, die zusammenfließen oder getrennt bleiben, oder die ganze vom Tropfen bedeckte Fläche wird momentan dunkel.

Turgeszente, im starken diffusen oder direkten Sonnenlicht befindliche Blätter von folgenden Pflanzen gaben ausgezeichnete positive Resultate: *Syringa vulgaris*, *Stellaria media*, *Papaver somniferum*, *Senecio vulgaris*, *Plantago major*, *Urtica urens*, *Sonchus arvensis*, *Trifolium arvense*, *Alchemilla vulgaris*, *Heraclium Sphondylium*, *Chenopodium album*, *Galeopsis tetrahit*, *Avena sativa*, *Polygonum bistorta*, *Brassica* (Kohlrabi), *Taraxacum officinale*, *Campanula rapunculoides*, *C. patula*, *Pimpinella magna*, *Thymus vulgaris*, *Leontodon hastilis*, *Knautia arvensis*, *Solanum tuberosum*, *Cirsium arvense*, *Phyteuma nigrum*, *Secale cereale*, *Polygonum fagopyrum*, *Plantago major*, *Myosotis palustris*, *Euphrasia officinalis*, *Stellaria uliginosa*, *Caltha palustris*, *Populus tremula*, *Galium Mollugo*, *Lotus corniculatus*, *Agrostemma Githago*, *Linum usitatissimum*, *Pisum sativum*, *Rumex acetosa*, *Platanthera bifolia*, *Begonia rex* und andere.

Ein viel empfindlicheres Reagens als abs. Alkohol ist Benzol, Xylol oder Terpentinöl. Wenn die Weite der Spaltöffnung unter eine gewisse Grenze sinkt, so vermag der Alkohol nicht

mehr einzudringen<sup>1</sup> und das Blatt zu infiltrieren, wohl aber vermögen noch die anderen angeführten Flüssigkeiten durch die Spalte in solchen Fällen einzutreten. Sehr oft übertrifft Xylol an Leistungsfähigkeit für unsere Zwecke das Benzol, doch ist dies nicht immer der Fall. Es ist sehr wahrscheinlich, daß es auch für diese Flüssigkeiten eine untere Spaltweite gibt, die infolge des kapillaren Widerstandes den Eintritt in die allzu enge Spalte verwehrt, wir können dann die Spalte praktisch genommen als geschlossen betrachten. Wenn daher in dieser Abhandlung von geschlossenen Spaltöffnungen die Rede ist, so sind nicht bloß die vollständig sondern auch die fast geschlossenen gemeint. In diesem Sinne spricht auch F. Darwin vom Geschlossenein der Spalten: »This instrument (Hornhygroskop) does not distinguish between absolute and practical closure«<sup>2</sup>.

Auch Äther und Chloroform sind verwendbar, allein die Versuchstropfen dieser beiden Flüssigkeiten verflüchtigen sich namentlich beim Arbeiten im Freien so rasch, daß die Infiltration nur kurze Zeit merkbar bleibt. Auf Grund meiner Erfahrungen, die sich wohl auf mehrere tausende Versuche stützen, arbeite ich jetzt nur mit Alkohol, Benzol oder Xylol. Diese haben sich am besten bewährt. Ich prüfe zuerst mit Alkohol. Tritt keine Infiltration ein, so ist das jedenfalls ein Zeichen, daß die Spalten nur wenig geöffnet sind. Nun prüft man mit den feineren Indikatoren. Es zeigt sich dann, daß in vielen Fällen, wo der Alkohol keine Infiltration mehr veranlaßt, dies Benzol oder Xylol tun. Dies ist ein Beweis, daß die Spalten doch noch offen waren, wenn auch nicht sehr weit. Will man daher seiner Sache sicher sein, so muß man stets 2 Proben machen, die eine mit Alkohol und die andere mit Benzol oder Xylol. Nur in sehr seltenen Fällen erweist sich der Alkohol empfindlicher als die beiden anderen. —

Alkohol hat den Vorteil, daß er, wenn er nicht durch die

<sup>1</sup>) Bekanntlich steht die Steighöhe einer Flüssigkeit im Kapillarrohr unter anderem im umgekehrten Verhältnis zum Halbmesser des Rohres. Es scheint aber nach dem Ausfall meiner Versuche mit Spaltöffnungen der Blätter, daß dieses Gesetz für sehr enge Spalten bzw. Röhrcchen vielleicht keine Geltung mehr hat. Ich hebe dies hier vor, weil ich in den physikalischen Handbüchern über diesen Punkt keine Angaben vorgefunden habe.

<sup>2</sup>) Darwin, F., Observations l. c. p. 534.

Spalten eindringt, das Blattgewebe einige Zeit nicht schädigt. Hingegen haben die anderen Flüssigkeiten wie Benzol, Xylol oder Terpentinöl den Nachteil, daß sie die Zellen der Epidermis nach einiger Zeit töten, auch wenn sie nicht in die Spalten eindringen. Es muß also z. B. das Benzol auch durch die geschlossene Wand der Oberhautzelle eindringen können. Dieser Nachteil tangiert aber meine Methode nicht, weil die Infiltration durch die Spalten sich sofort oder nach ganz kurzer Zeit, die Schädigung aber sich doch bedeutend später kundgibt. Bei einiger Übung wird man leicht zwischen Infiltration durch die Spalten und einer chemischen Einwirkung der Flüssigkeit unterscheiden.

Daß Benzol und Xylol die Spalten und die Interzellularen des Mesophylls viel rascher und leichter infiltrieren, ist auch daraus zu ersehen, daß beim Alkohol die Infiltration die vom Tropfen bedeckte Fläche zumeist nicht überschreitet, während dies bei den beiden anderen Flüssigkeiten häufig der Fall ist. —

Auf den ersten Blick möchte man glauben, daß sich meine Flüssigkeiten für die Infiltrationsmethode deshalb nicht eignen, weil sie auf die Schließ- und Nebenzellen momentan einen Reiz ausüben, sie schädigen oder sogar töten könnten und so ein Öffnen und Schließen der Spalten erst veranlassen. Das ist aber innerhalb der Beobachtungszeit, die sich ja nur auf Sekunden oder höchstens Bruchteile einer Minute erstreckt, sicherlich nicht der Fall. Denn wenn die Spalten offen sind, erfolgt ja die Infiltration sogleich oder binnen der angegebenen kurzen Zeit, bei geschlossenen Spalten tritt aber keine Infiltration ein, ein Beweis, daß die genannten Flüssigkeiten den Öffnungs- und Schließungsmechanismus nicht beeinflussen. Daß nach längerer Zeit schließlich in Berührung mit dem Tropfen eine Vergiftung und Hand in Hand damit auch gewöhnlich eine Mißfärbung des darunter liegenden Gewebes eintritt, sei ausdrücklich betont, dies stört aber unsere Versuche nicht, weil ja die Diagnose auf Offen- und Geschlossenheit der Spalten schon zu einer Zeit gemacht wird, wo eine Schädigung der Zellen, die auf die Spaltweiten verändernd wirkt, noch nicht eingetreten ist. —

Wenn ich die Brauchbarkeit meines Verfahrens mit der

Kobalt- oder der hygroskopischen Probe vergleiche, so glaube ich, daß es im großen und ganzen den beiden letzteren nicht nachsteht. Es hat den Vorteil, daß es ungemein einfach ist, die Frage nach dem Offen- und Geschlossensein der Spaltöffnungsapparate fast augenblicklich beantwortet und ihr Offen- sein infolge des Eindringens der Flüssigkeit ad oculos demonstriert.

Es hat den Nachteil, daß es sich bei dichtbehaarten Blättern nicht anwenden läßt, weil der Haarfilz die infiltrierte Stelle deckt und nicht zur Beobachtung kommen läßt. Es sagt auch über die Transpiration des Blattes direkt nichts aus, während gerade darin die Hauptstärke der Stahlschen und Darwinschen Hygroskopmethode liegt. Die beiden genannten schließen ja erst indirekt aus der Transpirationsgröße auf das Offen- und Geschlossensein der Spalten. — Bei Darwins Porometer steht die Sache allerdings wieder anders, weil hier die mit diesem Instrumente erhaltenen Angaben unabhängig sind von der Transpiration und lediglich abhängen von der relativen Weite der Spalten. Das Porometer leistet nach den von Darwin mitgeteilten Angaben und Kurven vorzügliches und wird der Physiologie sicher ausgezeichnete Dienste leisten.

Im folgenden soll nun gezeigt werden, wie sich die Infiltrationsmethode<sup>1</sup> bei physiologischen Versuchen über das Öffnen und Schließen der Spalten bewährt. Ob der Einfluß des Lichtes und der Dunkelheit, des Welkens und anderer Faktoren durch meine Methode angezeigt wird oder nicht und ob sich die durch die Infiltrationsmethode erzielten Ergebnisse im wesentlichen mit denen auf andere Weise erhaltenen decken?

### III.

#### Einfluß der Verdunkelung auf den Verschluß der Spalten.

Als Versuchspflanzen dienten unter normalen Verhältnissen im freien Lande befindliche Gewächse, seltener Gewächshauspflanzen. Die Blätter wurden bei Tage zur Hälfte oder zu geringerem Teile mit schwarzem undurchsichtigen Papier ober-

<sup>1</sup>) Eine ganz kurze vorläufige Mitteilung über diese Methode habe ich im Sitzungsanzeiger No. XVII der Kais. Akad. der Wissenschaften z. Wien, 6. Juli 1911, mathem.-naturw. Klasse veröffentlicht.

und unterseits eingehüllt und nach einiger Zeit meiner Probe unterworfen.

Ich machte am 19. August 1909 eine größere Versuchsreihe. Es zeigte sich, daß bei vielen Pflanzen nach 24stündiger, von Mittag bis Mittag währender Verdunkelung die Spalten verschlossen waren, während die nicht verdunkelten desselben Blattes sich als offen erwiesen. Besonders schön zeigten dies die Blätter von *Avena sativa*, *Rumex acetosa*, *Ampelopsis quinquefolia*, *Rosa* sp., *Sambucus nigra*, *Ribes rubrum* und

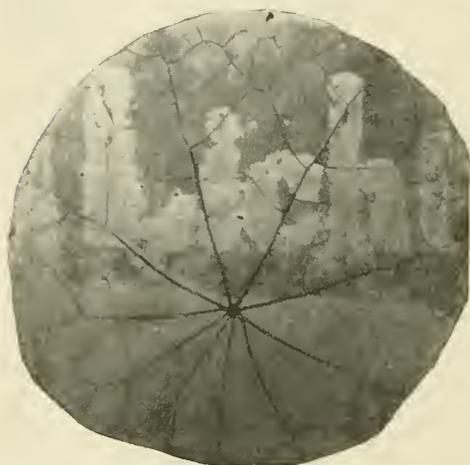


Fig. 1. Blatt von *Tropaeolum majus*, auf dem das Wort „Licht“ zu lesen ist (Photographie).  
Siehe die Erklahrung im Text.

*Viburnum Opulus*. Bei anderen Blättern war der Unterschied nur ein gradueller, die Spalten waren offenbar nur zum Teil geschlossen. So bei *Sonchus oleraceus* und *Taraxacum officinale*. — Bei *Avena sativa* beobachtete ich an heißen Sommertagen einmal schon nach einer halbstündigen, ein andermal nach 3 1/2stundiger Verdunkelung Verschluß der Spalten. Wie sehr sich meine Methode für derartige Untersuchungen

bewährt, geht aus folgenden beiden Versuchen schlagend hervor.

1. Ein ausgewachsenes Blatt einer kräftigen Freilandpflanze von *Tropaeolum majus* wird an einem sonnigen Tag, ohne es vom Mutterstocke zu trennen, mit der Oberseite auf einer Holzplatte fixiert und auf die Unterseite eine Blech- oder eine Pappschablone mit ausgestanzten Buchstaben, die z. B. zusammen das Wort „Licht“ bilden, gelegt und darauf 24 Stunden, am besten von Mittag zu Mittag, belassen. Befreit man dann das Blatt von der Hülle und benetzt man nun die Unterseite rasch mit absolutem Alkohol, so wird der beleuchtete Teil infiltriert und transparent und die Buchstaben, die die belichteten Stellen

repräsentieren, erscheinen mit großer Deutlichkeit. Die verdunkelten Teile werden nicht infiltriert, sie haben eben die Spalten geschlossen und lassen den Alkohol nicht eintreten. Siehe Fig. 1.

2. Ein ausgewachsenes Blatt von *Syringa vulgaris* wird am Strauche mittags an einem sonnigen warmen Sommertag quer über der Mitte ober- und unterseits mit einem schwarzen Papierstreifen verdunkelt. Das Papier muß dem Blatte knapp anliegen.

Man erreicht dies am besten, indem man das Papier mittels Stecknadeln auf dem Blatte fixiert. Nach 24 Stunden befreit man das Blatt von der Hülle und benetzt die Unterseite rasch mit absolutem Alkohol. Man bemerkt dann, wie der Alkohol rasch in die dem Lichte ausgesetzt gewesenen Blatteile eindringt und sie infiltriert, während die verdunkelt gewesenen Teile aber unverändert grün erscheinen. Schon jetzt sieht man oft mit großer Schärfe die infiltrierten Partien sich von den nicht infiltrierten, früher vom Papier bedeckten abheben. Der Unterschied wird aber später noch schärfer, weil der Alkohol dort, wo er in das Mesophyll eingedrungen ist, die Zellen abtötet

und nach einiger Zeit, wahrscheinlich infolge der Einwirkung von Oxydasen eine Bräunung des Blattgewebes hervorruft. Trocknet und preßt man ein solches Blatt zwischen Filtrierpapier, so erscheint noch nach Jahren die verdunkelt gewesene Partie genau im Ausmaß der Hülle grün, die übrige Partie braun. Siehe Fig. 2.

Die Anwendung meiner Methode hat mich auch darüber belehrt, daß es nicht gerade einer totalen Verdunkelung eines Blattes oder eines Blattbezirkes bedarf, um die Spalten zum teilweisen oder vollständigen Verschuß zu bringen, denn es



Fig. 2. Blatt von *Syringa vulgaris*.  $\frac{2}{3}$  nat. Größe. Siehe die Erklärung im Text.

läßt sich leicht zeigen, daß Blätter eines und desselben Individuums sich graduell verschieden verhalten können, je nachdem sie starkes direktes Sonnenlicht oder mitten in der Tiefe der Baumkrone nur sehr gedämpftes diffuses Licht genießen. So erhielt ich, als ich am 10. August 1909 um 9 Uhr a. m. bei wolkenlosem Himmel Blätter von *Sambucus nigra*, *Viburnum Opulus*, *Ribes rubrum*, *Rosa* sp., *Cornus* sp. und *Betula alba* prüfte, auffallende oder noch deutliche Unterschiede, je nachdem ich Blätter der intensiv beleuchteten Peripherie der Krone oder dem Schatten des Inneren der Krone entnahm. Die stark beleuchteten wurden vom Alkohol sofort infiltriert, die beschatteten kaum oder gar nicht. —

Die Angaben über den nächtlichen Spaltenverschluß gehen, obwohl sie von ausgezeichneten Beobachtern herrühren, ziemlich auseinander. So kann nach Leitgeb<sup>1</sup> entgegen der Ansicht früherer Autoren von einem regelmäßig eintretenden Spaltenverschluß zur Nachtzeit keine Rede sein. »Der großen Zahl von Pflanzen, bei denen man bei Nacht die Spaltöffnungen geschlossen findet, steht eine wohl nicht minder große Anzahl anderer unter denselben Vegetationsbedingungen lebender gegenüber, bei welchen es bei Nacht zu keinem Spaltenschlusse kommt«. Und Stahl<sup>2</sup> glaubt Leitgeb's Ergebnisse, die durch die mikroskopische Methode gewonnen worden waren, auf Grund der Kobaltmethode bestätigen zu können.

Zu einem etwas anderen Resultate gelangte F. Darwin mit dem Hornhygroskope. Unter 75 untersuchten Spezies fand er nur 13 Prozent, die ihre Spalten zur Nachtzeit nicht schlossen. In scharfen Gegensatz zu Leitgeb's Ergebnissen stellt sich auch Schellenberg<sup>3</sup>. Er findet, daß die Verdunkelung immer ein Schließen der Spaltöffnungen herbeiführt und daß die natürliche Verdunkelung bei Nacht ebenso wirkt, wie die künstliche bei Tage. Bei dieser Sachlage war es gewiß von Interesse zu prüfen, zu welchen Ergebnissen in dieser Frage die Infiltrationsmethode führt.

<sup>1</sup>) Leitgeb, H., Beitr. zur Physiologie d. Spaltöffnungen. Mitteilungen d. bot. Institut. z. Graz. I, 182.

<sup>2</sup>) Stahl, E., l. c. S. 124.

<sup>3</sup>) Schellenberg, H. C., Beiträge zur Kenntnis von Bau und Funktion der Spaltöffnungen. Bot. Zeitg. 1896. I. Abt. S. 181.

Am 21. Juli 1911 wurden an einem sonnigen Tage um 10 Uhr morgens bei 25° C Schattentemperatur um 9<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Uhr abends bei 23° C die Blätter folgender Pflanzen nach der Infiltrationsmethode untersucht.

Name der Pflanze	Spalten um 10 h a. m.	Spalten um 9 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> h p. m.
<i>Polygonum fagopyrum</i> . . . . .	weit geöffnet	mäßig geöffnet
<i>Polygonum convolvulus</i> . . . . .	mäßig geöffnet	geschlossen
<i>Polygonum lapathifolium</i> . . . . .	weit geöffnet	nahezu geschlossen
<i>Cornus sanguinea</i> . . . . .	mäßig geöffnet	geschlossen
<i>Pirus domestica</i> . . . . .	weit geöffnet	geschlossen
<i>Melandrium album</i> . . . . .	weit geöffnet	weit geöffnet
<i>Solanum tuberosum</i> . . . . .	weit geöffnet	geschlossen
<i>Trifolium pratense</i> . . . . .	weit geöffnet	nahezu geschlossen
<i>Sambucus nigra</i> . . . . .	weit geöffnet	nahezu geschlossen
<i>Chenopodium Bonus Henricus</i> . . . . .	weit geöffnet	nahezu geschlossen
<i>Silene inflata</i> . . . . .	mäßig geöffnet	geschlossen
<i>Saponaria officinalis</i> . . . . .	weit geöffnet	geschlossen
<i>Avena sativa</i> . . . . .	weit geöffnet	geschlossen
<i>Phaseolus sp.</i> . . . . .	mäßig geöffnet	geschlossen

Am 17. August 1911 machte ich denselben Versuch, doch wurden die Blätter im Sonnenschein um 9 Uhr vormittags und dann um 1 Uhr nachts geprüft. Die bei Nacht untersuchten Blätter wurden, wenn nötig, vorher mit Filtrierpapier vom Tau befreit.

Name der Pflanze	Spalten um 9 h a. m.	Spalten um 1 h a. m.
<i>Tropaeolum majus</i> . . . . .	weit geöffnet	geschlossen
<i>Syringa vulgaris</i> . . . . .	weit geöffnet	nahezu geschlossen <sup>1</sup>
<i>Cucumis sativus</i> . . . . .	weit geöffnet	weit geöffnet
<i>Crambe maritima</i> . . . . .	mäßig geöffnet	mäßig geöffnet
<i>Phaseolus m. sp.</i> . . . . .	mäßig geöffnet	mäßig geöffnet
<i>Veronica Beccabunga</i> . . . . .	weit geöffnet	nahezu geschlossen
<i>Salix sp.</i> . . . . .	weit geöffnet	geschlossen
<i>Caltha palustris</i> . . . . .	mäßig geöffnet	geschlossen
<i>Galeopsis tetrahit</i> . . . . .	weit geöffnet	geschlossen
<i>Lythrum salicaria</i> . . . . .	weit geöffnet	geschlossen
<i>Polygonum hydropiper</i> . . . . .	weit geöffnet	mäßig geöffnet
<i>Alnus glutinosa</i> . . . . .	wenig geöffnet	geschlossen
<i>Lycopus europaeus</i> . . . . .	weit geöffnet	mäßig geschlossen
<i>Acer negundo</i> . . . . .	wenig geöffnet	geschlossen
<i>Plantago lanceolata</i> . . . . .	weit geöffnet	geschlossen
<i>Seraphularia nodosa</i> . . . . .	weit geöffnet	mäßig geöffnet
<i>Ligustrum vulgare</i> . . . . .	weit geöffnet	geschlossen
<i>Ranunculus acris</i> . . . . .	weit geöffnet	weit geöffnet

<sup>1</sup>) Im Herbst, kurz vor dem Laubfall, fand ich bei *Syringa vulgaris* die Spalten auch in der Nacht häufig offen. Daraus geht hervor, daß sich ein und dieselbe Pflanze nicht immer gleich verhält.

Aus den beiden Versuchsreihen und einer Reihe anderer Versuche, die ich gemacht habe, geht deutlich hervor, daß bei den meisten der untersuchten Pflanzen die Tendenz besteht, zur Nachtzeit die Spalten teilweise oder ganz zu schließen. Die einen verschließen die Spalten so, daß selbst das Benzol nicht mehr einzudringen vermag, die anderen verengen zwar die Spalten, aber nicht bis zum völligen Verschuß, und endlich gibt es eine Reihe von Blättern, wie z. B. die von *Cucumis sativus*, *Ranunculus acris* und *Melandrium album*, die unter den gegebenen Verhältnissen auch während der Nachtzeit ihre Spalten weit geöffnet lassen. Offenbleiben der Spaltöffnungen während der Nachtzeit beobachtete auch Wiesner bei *Hartwegia comosa*<sup>1</sup>. Meine Beobachtungen stimmen demnach im großen und ganzen mit denen F. Darwins, die er mit der hygroskopischen Methode erhalten hatte, überein.

Unter den Sumpf- und Wasserpflanzen fand der genannte Forscher eine große Zahl, die ihre Spalten in der Nacht offen lassen. Auch ich beobachtete bei einer Untersuchung Ende August, daß *Caltha palustris*, *Acorus Calamus*, *Alisma Plantago*, *Polygonum Hydropiper* und *Menyanthes trifoliata* ihre Spalten auch in der Nacht mehr oder minder weit offen behalten. *Veronica Beccabunga* hingegen zeigte nächtlichen Spaltenverschuß.

Man kommt aber zu verschiedenen Zeiten nicht immer zu demselben Resultate, da die Temperatur, der Wind, die Luftfeuchtigkeit und vielleicht noch andere Faktoren eine Rolle spielen können. So führt z. B. F. Darwin *Caltha palustris* als ein Beispiel einer Pflanze an, die in der Nacht ihre Spalten geschlossen hält, während ich sie offen finde. Beide Beobachtungen können richtig sein, denn Darwin beobachtete im Februar und ich im August. Die äußeren Bedingungen waren also sicher verschieden.

Auch Leitgeb<sup>2</sup> konnte bei seinen Untersuchungen die Wahrnehmung machen, daß dieselben Pflanzen nicht immer dasselbe Verhalten zeigen und daß es gelingt, bei manchen

<sup>1</sup>) Wiesner, J., Untersuchungen über den Einfluß des Lichtes und der strahlenden Wärme auf die Transpiration der Pflanze. Sitzsber. Ak. Wiss. Wien. Math. nat. Kl. 1876. 74. I. Abt. S. 54.

<sup>2</sup>) Leitgeb, H., l. c. S. 182.

Pflanzen das Offen- und Geschlossensein der Spalten im Lichte oder im Dunkeln nach Belieben hervorzurufen. —

## IV.

## Das Verhalten der Spaltöffnungen beim Welken.

Es ist seit langem bekannt, daß sich die Spaltöffnungen welkender Blätter vieler Pflanzen schließen. Die genauesten und umfassendsten Untersuchungen verdanken wir darüber Stahl und F. Darwin<sup>1</sup>. Für mich war es von Interesse zu erfahren, ob sich meine Methode auch für diese Frage verwenden läßt, und wenn dem so wäre, ob sie ebensolche verläßliche Resultate gibt, wie Stahls Kobaltprobe oder F. Darwins hygroskopische Methode. In einzelnen Punkten divergieren die Beobachtungen meiner Vorgänger, gerade in solchen Fällen war es wünschenswert, eine neue Methode zur Prüfung oder eventuell zur Entscheidung heranzuziehen.

Am 25. August 1909, 10 Uhr vormittags wurden die frisch abgeschnittenen Blätter der in der Tabelle angeführten Pflanzen sogleich auf das Offen- oder Geschlossensein der Spaltöffnungen geprüft, gleich darauf auf einem direkt besonnenen Tisch mit der Unterseite des Blattes nach aufwärts zum Welken ausgelegt und nach einiger Zeit wieder geprüft. Der Himmel war wolkenlos, die Schattentemperatur 17<sup>0</sup> C.

Name der Pflanze	Das frische Blatt wird infiltriert mit Benzol	Das nach 2 Stunden welke Blatt wird infiltriert mit Benzol	Das nach 5 Stunden welke oder rauschdünne Blatt wird infiltriert mit Benzol
Senecio vulgaris . . . . .	sehr rasch	rasch	nicht oder wenig
Rosa sp. . . . .	sehr rasch	sehr rasch	sehr rasch
Viola tricolor . . . . .			
Sambucus nigra . . . . .	sehr rasch	nicht	nicht
Sonchus oleraceus . . . . .	sehr rasch	sehr rasch	sehr rasch
Papaver somniferum . . . . .	sehr rasch	sehr rasch	sehr rasch
Galium aparine . . . . .	sehr rasch	nicht	nicht
Lilium bulbiferum . . . . .	sehr rasch	nicht	nicht
Viburnum opulus . . . . .	rasch	nicht	nicht
Ampelopsis quinquefolia . . . . .	rasch	nicht	nicht

Die untersuchten Pflanzen verhielten sich, wie aus der Tabelle zu ersehen ist, nicht gleichartig, sondern verschieden. Die

<sup>1</sup>) Stahl, E., l. c. S. 121. — Darwin, F., l. c. S. 543—555.

einen, dazu gehören: *Senecio vulgaris*, *Viola tricolor*, *Galium aparine*, *Viburnum opulus* und *Ampelopsis quinquefolia* schließen ihre Spaltöffnungen beim Welken; die anderen: *Rosa* sp., *Sambucus nigra*, *Sonchus oleraceus* und *Papaver somniferum* behielten bis zum völligen Eintrocknen die Spalten geöffnet. —

Am 16. August 1911, 9 Uhr a. m. wurde bei Sonnenschein und einer Schattentemperatur von 24° C eine weitere Versuchsreihe durchgeführt.

Name der Pflanze	Das frische Blatt wird mit Benzol infiltriert	Das nach 3 1/2 Stunden welk oder trocken gewordene Blatt wird mit Benzol infiltriert
<i>Acer Negundo</i> . . . . .	wenig	nicht
<i>Galeopsis tetrahit</i> . . . . .	sehr rasch	nicht
<i>Rubus fruticosus</i> . . . . .	wenig	nicht oder wenig
<i>Ligustrum vulgare</i> . . . . .	sehr rasch	nicht
<i>Quercus</i> sp. . . . .	mäßig	nicht
<i>Cornus sanguinea</i> . . . . .	mäßig	nicht
<i>Syringa vulgaris</i> . . . . .	sehr rasch	sehr rasch
<i>Alnus glutinosa</i> . . . . .	mäßig	nicht
<i>Polygonum hydropiper</i> . . . . .	sehr rasch	mäßig
<i>Polygonum lapathifolium</i> . . . . .	sehr rasch	sehr wenig oder rasch
<i>Eupatorium cannabinum</i> . . . . .	sehr rasch	sehr rasch
<i>Caltha palustris</i> . . . . .	sehr rasch	nicht
<i>Trifolium pratense</i> . . . . .	sehr rasch	sehr rasch oder wenig
<i>Lycopus europaeus</i> . . . . .	sehr rasch	nicht
<i>Humulus lupulus</i> . . . . .	mäßig	wenig
<i>Salix</i> sp. . . . .	sehr rasch	sehr rasch
<i>Salix purpurea</i> . . . . .	sehr rasch	sehr rasch
<i>Veronica beccabunga</i> . . . . .	sehr rasch	sehr rasch oder gar nicht
<i>Impatiens noli me tangere</i> . . . . .	sehr rasch	sehr rasch
<i>Girsium oleraceum</i> . . . . .	sehr rasch	wenig
<i>Ranunculus acer</i> . . . . .	sehr rasch	wenig
<i>Plantago lanceolata</i> . . . . .	sehr rasch	sehr rasch
<i>Leontodon hastilis</i> . . . . .	sehr rasch	sehr rasch
<i>Tanacetum vulgare</i> . . . . .	sehr rasch	nicht
<i>Hypericum perforatum</i> . . . . .	sehr rasch	mäßig
<i>Lythrum salicaria</i> . . . . .	sehr rasch	wenig
<i>Tropaeolum majus</i> . . . . .	sehr rasch	sehr rasch
<i>Callistephus chinensis</i> . . . . .	sehr rasch	nicht
<i>Phaseolus</i> sp. . . . .	sehr rasch	wenig
<i>Beta vulgaris</i> . . . . .	sehr rasch	nicht
<i>Cucumis sativus</i> . . . . .	sehr rasch	sehr rasch
<i>Crambe maritima</i> . . . . .	sehr rasch	sehr rasch
<i>Amarantus retroflexus</i> . . . . .	sehr rasch	nicht

Auch hier wieder ein ähnliches Ergebnis, wie bei der 1. Versuchsreihe. Die meisten der untersuchten Pflanzen schließen beim Welken ihre Spaltöffnungen teilweise

oder ganz, einige aber, wie *Syringa vulgaris*, *Eupatorium cannabinum*, *Salix* sp., *Impatiens noli me tangere*, *Plantago lanceolata*, *Leontodon hastilis*, *Tropaeolum majus*, *Cucumis sativus*, haben ihre Spalten selbst in ganz eingetrocknetem Zustande offen, so daß auch bei dem ganz rauschdürr gewordenen Blatte die Infiltration augenblicklich und ausgezeichnet gelingt. —

Nach diesem Ergebnis möchte man glauben, daß die Blätter, die noch im dürrn Zustande die sofortige Infiltration gestatten, beim Welken ihre Spaltweite überhaupt nicht regulieren und unbeweglich bleiben. Dies ist aber nicht der Fall. Wenn man ein Blatt von *Tropaeolum*, *Syringa* oder *Cucumis* während des Welkens in kürzeren Intervallen auf die Spaltweite prüft, als dies in den vorhergehenden Versuchsreihen geschah, so kann man beobachten, daß bei beginnendem Welken, nicht selten schon nach 5—10 Minuten Spaltenverengung eintritt, bei weiterem bis zur Vertrocknung des Blattes führenden Welken aber wieder eine Verbreiterung. Ein welkendes Blatt von *Tropaeolum* gibt demgemäß unmittelbar nach dem Pflücken im Sonnenschein sofortige Infiltration mit Alkohol oder Benzol, 5—10 oder mehr Minuten später nur mit Benzol oder gar keine, und 2 oder mehr Stunden danach, wenn das Blatt eingetrocknet ist, wieder sofortige Infiltration mit Alkohol oder Benzol.

Es kann demnach sogar an dem trockenem, toten Blatte das Offen- und Geschlossensein der Spaltöffnungen mit meiner Methode erkannt werden — ein Fall, in dem die Kobalt- oder Hygroskopmethode natürlich ganz versagen muß.

F. Darwin hat schon früher mittels des Hornhygroskops und neuestens mittels des Porometers<sup>1</sup> die interessante Tatsache gefunden, daß der erste Beginn des Welkens bei manchen Pflanzen mit einer Erweiterung der Spalten verknüpft ist und daß erst bei weiterem Welken die Verengung oder der Verschluß eintritt. In diesem Falle versagt hingegen meine Methode, weil sie derartige geringe Differenzen in der Spaltenweite nicht verrät.

Stahl<sup>2</sup> hat darauf hingewiesen, daß die Fähigkeit, die Transpiration zu regulieren, einer Reihe von auf feuchtem Boden lebenden Bäumen abgeht.

<sup>1</sup>) F. Darwin, On a new method usw. l. c. S. 149.

<sup>2</sup>) Stahl, E., l. c. S. 124.

Auch Darwin<sup>1</sup> hat eine große Anzahl von Sumpf- und Wasserpflanzen auf das Verhalten ihrer Spaltöffnungen beim Welken untersucht und findet, daß die Wasserpflanzen im allgemeinen ihre Spalten nicht in dem Grade verengen, als dies bei den Landpflanzen der Fall ist. Was aber speziell die von Stahl angeführten Bäume anbelangt; so kommt er zu einem von Stahl abweichenden Resultate. Nach Stahl bleiben die Spalten von *Betula alba*, *Alnus glutinosa*, *Salix purpurea*, *S. caprea*, *S. amygdalina*, *S. babylonica* beim Welken offen, während sie sich nach Darwin schließen. Nach meinen mittels der Infiltrationsmethode im August und Anfang September durchgeführten Untersuchungen schließen sich beim Welken die Spalten von *Alnus glutinosa* und *Betula alba*, die der zahlreichen Weidenarten aber bleiben bis zum völligen Eintrocknen offen.

In Übereinstimmung damit steht die Tatsache, daß ein abgeschnittener und ins Wasser eingestellter Zweig von *Salix amygdalina* oder *S. viminalis* alsbald welkt und nach 1—3 Tagen vertrocknet, während ein Zweig von *Betula alba* oder *Alnus glutinosa* viel länger vollkommen frisch bleibt.

Aus dem Offenbleiben der Spalten beim Welken darf aber nicht geschlossen werden, daß diese Spalten überhaupt unbeweglich sind. Die Spalten von *Salix amygdalina* z. B. schließen sich, obwohl sie beim Welken offen bleiben, während der Nacht oder wenn sie bei Tage verfinstert werden.

Die gewonnenen Ergebnisse werden genügen, um zu zeigen, daß die von mir angegebene Methode mit Erfolg beim Studium der Physiologie der Spaltöffnungen verwendet werden kann und daß sie, weil sie auf einem ganz anderen Prinzip beruht als die Kobaltmethode Stahls und die Hygroskop- und Porometermethode Darwins, eben deshalb dem Physiologen willkommen sein dürfte. Denn wenn zwei prinzipiell verschiedene Methoden zu demselben Ergebnis führen, so ist das Resultat jedenfalls viel sicherer begründet, als durch zwei Methoden verwandter Natur.

Wien, den 20. Sept. 1911. Pflanzenphysiolog. Institut der  
k. k. Wiener Universität.

<sup>1</sup>) Darwin, F., *Observations on stomata*, l. c. S. 552 ff.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Zeitschrift für Botanik](#)

Jahr/Year: 1912

Band/Volume: [4](#)

Autor(en)/Author(s): Fitting Hans Theodor Gustav Ernst [Johannes]

Artikel/Article: [Über eigenartige Farbänderungen von Blüten und Blütenfarbstoffen. 81-122](#)