

(Aus dem Institut für Botanik, Gärungsphysiologie und Hefereinzucht der Lehr- und Forschungsanstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau in Geisenheim am Rhein. Vorstand Professor Dr. H. SCHANDERL.)

Papierchromatographische Untersuchungen an Anthozyanen und chymochromen Begleitstoffen zur Frage der Blütenfarbenzüchtung.

Von PETER WERCKMEISTER.

Mit 7 Textabbildungen.

Einleitung.

In einer vorangegangenen kurzen Mitteilung (14) war bereits über papierchromatographische Studien an Anthozyanfarbstoffen berichtet worden, die dem Zwecke dienten, festzustellen, ob mit dieser Methodik eine Prüfung bestimmter Farbvarietäten von Gartenpflanzen möglich ist.

Diese führten zu vielversprechenden Ergebnissen, die es als aussichtsreich erscheinen ließen, die papierchromatographische Methodik für die praktische Blütenfarbenzüchtung einzusetzen. Obwohl eine der Hauptbedingungen der Methodik nicht erfüllt war, daß reine Substanzen mitlaufen müssen, weil diese nicht zur Verfügung standen, konnten viele der Hauptfragen an Hand von Pflanzenmaterial mit bekannten Farbstoffen geklärt werden, die in der Praxis der Blütenfarbenzüchtung interessieren können. Dies war bisher nur mit den Schnelltests nach ROBINSON und ROBINSON (17) möglich, die jedoch in der Praxis nicht bekannt geworden sind. Es wurde nun eine weitere Anzahl von Gartenpflanzen, insbesondere zahlreiche Farbvarietäten von Sortimentspflanzen untersucht, so daß eine Übersicht über die Unterschiede einer großen Zahl von Anthozyanfarben erhalten wurde. Die Ergebnisse werden im folgenden dargestellt und die Möglichkeiten diskutiert, die sich daraus für züchterische und genetische Arbeiten ergeben.

Die Untersuchungen wurden von Herrn Professor SCHANDERL aus Institutsmitteln in großzügiger Weise unterstützt, wofür an dieser Stelle herzlichst gedankt sei. Bei den Arbeiten war mir Herr Gartentechniker NEUBNER behilflich.

Bestimmung der Farben nach der Farbentafel.

Für eine erfolgversprechende Arbeit war zuvor die einwandfreie Festlegung der untersuchten Farbtöne notwendig. Hierzu wurde die englische Horticultural Colour Chart [WILSON Colour Chart] (1) herangezogen. Der Farbkreis ist bei dieser Farbentafel in 64 Teile eingeteilt, wodurch besonders im Bereich der reinen Anthozyanfarben eine ausreichende Unterteilung und damit eine hinreichend genaue Festlegung des Farbtönen möglich ist. Die Farbtöne verschiedener Pflanzen verändern während der Anthese ihre Farbe in charakteristischer Weise, indem sie entweder verblassen oder nachdunkeln, vor allem aber verblauen. Deswegen wurde auf einen Vergleich im gleichen Zustand der Anthese befindlicher Blüten geachtet und bei verblassenden Blüten unmittelbar nach dem Aufblühen, bei nachdunkelnden nach der Erreichung der vollen Farbstärke verglichen.

WIR (2) bestimmte für seine Untersuchungen an der China-Aster die Farben nach BAUMANNs neuer Farbtonkarte (3), die hier auch vorlag. Die reinen Anthozyanfarben sind nach dieser Karte schwer fest-

zulegen, wie auch aus dem Vergleich von WIRs Angaben hervorgeht, und weiterhin geben die Zahlenbezeichnungen dieser Farbtonkarte keine Hinweise auf die Lage der einzelnen Töne im Spektrum. Dagegen lassen sich gedeckte Farben, besonders Brauntöne, die durch das Zusammenwirken von Anthozyanen mit gelben Pigmenten entstehen, hiermit festlegen. Diese fehlen vorläufig in der Horticultural Colour Chart.

Für die Festlegung der Cyclamenfarben wurde von der Versuchs- und Forschungsanstalt in Pillnitz in Zusammenarbeit mit der VdgB, Untergruppe Cyclamen, eine Farbtonkarte des Cyclamen-Standard-Sortimentes (4) herausgegeben, bearbeitet von Gartenbautechniker PAPSDORF, die hier ebenfalls benutzt wurde. Diese enthält jedoch nur die Standardfarben der zur Zeit geschätztesten Handelsrassen, während eine Reihe wichtiger Farbtöne fehlen.

Papierchromatographische Methodik.

Gewinnung der Extrakte.

Um eine schnelle Extraktion der Blütenfarbstoffe zu erreichen, wurden die Blüten anfangs mit Kohlensäureschnee gefroren und in einer Reibschale verrieben. Dabei wurden jedoch sehr viel Farbstoffanteile an das Zellmaterial adsorbiert, sodaß diese für die weitere Arbeit verloren gingen. Später zeigte es sich, daß die Verluste geringer sind, wenn man das nur wenig zerzupfte Material eine längere Zeit durch Salzsäure extrahieren läßt. Da die Farbstoffe sich zum größten Teil nur in der Epidermis befinden, entstehen so in der Tat die geringsten Verluste. Es ließen sich auf diese Weise häufig sehr stark gefärbte Extrakte durch ein Glasfilter abnutschen, wobei der Rückstand nahezu farblos blieb. Da die spätere Untersuchung zeigte, daß auch die für die Farbgebung wichtigen chymochromen Begleitstoffe erfaßt werden können, ist vermutlich eine Extraktion mit Methanol oder Äthanol vorzuziehen. Diese wurden hier jedoch noch nicht verwendet. Aus diesem Grunde konnte auch eine quantitative Auswertung der Chromatogramme noch nicht erfolgen, da die Extraktion in normaler oder einhalb-normaler wäßriger Salzsäure die Mengenverhältnisse der einzelnen Komponenten nicht hinreichend genau wiedergeben dürfte.

Wo es sich darum handelte, verschieden gefärbte Zonen oder Saftmale getrennt zu untersuchen, wurden diese sorgfältig ausgeschnitten und gesondert extrahiert.

Die Extrakte wurden in geschlossenen Flaschen aufbewahrt und erwiesen sich als sehr lange, teilweise bis über ein Jahr haltbar. Es war also einerseits möglich, ein Material zur Blütezeit einzusammeln und erst später zu verarbeiten, andererseits standen aber auch wichtige Vergleichsfarbstoffe zu jeder Jahreszeit zur

Verfügung. In einem Falle wurde beobachtet (*Delphinium nudicaule*), daß die Anthozyane sich nach längerem Stehen zersetzten, so daß verschiedene Flecken festgestellt wurden, die beim Chromatographieren des frischen Extraktes nicht auftraten. Es muß also auch bei anderen Pflanzen unter Umständen damit gerechnet werden, daß solche Zersetzungen auftreten, die das Vorkommen bestimmter Anthozyane vortäuschen, die in Wirklichkeit Artefakte darstellen.

Bei Arbeiten, die eine quantitative Auswertung verlangen, wird es sich unter Umständen empfehlen, die Blüten direkt auf das Papier auszupressen. Dieses wurde hier jedoch noch nicht versucht. Obwohl hier deutliche Unterschiede in den Mengenverhältnissen bestimmter Komponenten zueinander beobachtet wurden, müssen die Angaben vorläufig auf die Bezeichnungen viel oder wenig beschränkt bleiben.

Herstellung der Aglukone.

Zur Kennzeichnung der Anthozyane war die Herstellung der Aglukone notwendig. Nach den Angaben in KLEIN, Handbuch der Pflanzenanalyse (5), werden diese aus den Anthozyanen durch Hydrolyse mit heißer konzentrierter Salzsäure dargestellt. Entsprechend der dort gegebenen Vorschrift wurde folgendermaßen verfahren.

Eine kleine Menge des Blütenextraktes wurde im Reagenzglas zum Sieden erhitzt, dann etwa das gleiche Volumen konzentrierter Salzsäure hinzugefügt und drei Minuten am Sieden erhalten. Die Siedezeitdauer mußte eingehalten werden, da sonst unter Umständen die Hydrolyse nicht vollständig ist und die später im Chromatogramm auftretenden Flecken mehrere Aglukone vortäuschen können. Zur Unterbrechung der Hydrolyse wurde schnell unter fließendem Wasser gekühlt.

Bei den ersten Chromatogrammen stellte sich jedoch heraus, daß die so gewonnenen Hydrolysate infolge der starken Stoffkonzentration zu starker Zungenbildung neigten. Ganz ließ sich dies nie vermeiden. Doch wurde darauf das Verfahren zur Erzielung eindeutiger Schwerpunkte abgeändert. Die drei Minuten am Sieden erhaltenen Hydrolysate wurden nunmehr schnell mit viel kaltem destilliertem Wasser verdünnt. Dann wurde mit so viel wasserfreiem Butanol ausgeschüttelt, daß eine möglichst farbstofffreie Wasserphase zurückblieb, aber doch nur eine geringe Menge Butanolphase verblieb. Die Butanolphase wurde dann nach ihrer Abtrennung im Scheidetrichter, bisweilen mehrmals, mit destilliertem Wasser ausgeschüttelt, bis die ersten Farbstoffverluste in der Wasserphase erkennbar waren. Ob aller Farbstoff ins Butanol ging, ließ sich nicht immer erkennen, da häufig stark braun gefärbte Hydrolysate entstehen. Besonders bei den Delphinidnglykosiden mußten oftmals starke Farbstoffverluste und starke Bräunungen in Kauf genommen werden.

Die Extrakte aus den Blüten von *Cyclamen persicum* ließen sich anfangs nicht hydrolysieren, sondern wurden bei diesem Verfahren durch irgendwelche Begleitstoffe bis zu völliger Farblosigkeit zerstört. Es gelang jedoch auch hier, die Aglukone herzustellen, nachdem die Extrakte durch eine Säule mit Cellulosepulver gelaufen waren und die Anthozyanfraktion abgetrennt worden war. Bei den im Sommer 1953 gewonnenen Cyclamenblütenextrakten konnte diese Erscheinung

nicht wieder beobachtet werden, ohne daß hierfür eine Erklärung gegeben werden kann.

Chromatographisches Verfahren.

Als Papier wurde nach anfänglichen Vorversuchen die Sorte Schleicher & Schüll 2043b verwendet. Später erwies sich die Sorte 2045b als härter und schärfer trennend, welches sich besonders bei der Erkennung der Fluoreszenzfarben der chymochromen Begleitstoffe günstig auswirkte. Verschiedene anfangs nicht klar erkannte Flecken wurden nunmehr in zwei oder mehrere Komponenten aufgelöst. Die Bogen wurden anfangs 40 cm lang verwendet und aufsteigend chromatographiert. Jedoch zeigte es sich, daß eine zu weit gegen die Erdschwere aufgestiegene Front zu stark veränderten Rf-Werten führen kann. Die Bogen wurden deshalb alle zu 29 × 29 cm geschnitten und in der im Wasserzeichen markierten Pfeilrichtung verwendet. Whatman Nr. 1 stand erst spät in einigen Bogen zur Verfügung, die insofern erwähnt werden müssen, als auf dieser Papiersorte vor allem bei den Aglukonen einige der von BATE-SMITH und WESTALL (6) gegebenen Rf-Werte reproduziert werden konnten, was auf den anderen Papiersorten oft nicht gelang.

Chromatographiert wurde mit einem Gemisch aus gleichen Teilen Butanol und doppelt normaler Salzsäure. Später wurden Gemische mit verschiedenen Salzsäurekonzentrationen versucht, um bei Anthozyanen mit niedrigen Rf-Werten zu besseren Unterscheidungen zu kommen. Aus dem gleichen Grunde wurden auch Methanol und Aethanol, sowohl einzeln, wie auch als Zusatz zu den vorstehenden Gemischen verwendet. In diesen liegen zwar die Rf-Werte der einzelnen Anthozyane höher, doch ließen sich keine gut reproduzierbaren Unterschiede beobachten, so daß diese Versuche wieder aufgegeben wurden. Der Zusatz von Essigsäure führt häufig zur Zerstörung der Anthozyane, so daß die Flecken später kaum mehr erkennbar sind. Auch BATE-SMITH und WESTALL führen dies an, so daß ihre Werte für Phenole im Falle der Anthozyane für das Gemisch Butanol-2n-HCl gelten. Jedoch sind viele ihrer Werte mit dem üblichen Butanol-Essigsäure-Wasser-Gemisch besser reproduzierbar, soweit die Anthozyane noch erkennbar bleiben. Es wurde dieses Gemisch nur in einigen Fällen zur Information verwendet.

Die Bogen wurden, zu einem Zylinder zusammengeheftet, mehrere Stunden, meist von morgens bis abends in den Dampfraum gehängt und abends in die Butanolphase getaucht. Die Fronten waren dann meist bis zum nächsten Morgen 22 bis 25 cm weit aufgestiegen. Für die Aufstellung stand ein Thermoraum zur Verfügung, der auf 20° C eingestellt war und dessen Temperatur während der Versuche nie mehr als $\pm 1^\circ$ C schwankte.

Es machte sich jedoch bei den Papieren eine Erscheinung bemerkbar, die eine ganze Anzahl von hier angefertigten Chromatogrammen entwertete. Es war nämlich gerade in der Höhe der chymochromen Begleitstoffe häufig eine zweite, meist hellblau fluoreszierende Front zu beobachten, die verschiedene ungünstige Nebenerscheinungen mit sich brachte. Ersten wurden häufig die Rf-Werte verändert, manchmal in ganz charakteristischer Weise derart, daß die niedrigen zu niedrig, die hohen zu hoch ausfielen. Ferner wurden die in der Nähe dieser Front liegenden

Substanzen ungenügend getrennt, und schließlich konnte es sogar vorkommen, daß die Reihenfolge der Substanzen verändert wurde. So kam es gelegentlich vor, daß Substanzen mit hohen Rf-Werten nicht über diese Front hinausgelangen. Anfänglich wurden die Lösungsmittel für diese Erscheinung verantwortlich gemacht und deshalb stets frisch destilliert. Später wurde die störende Substanz im Papier selbst gefunden. Nunmehr wurden alle Papiere vor der Verwendung in der salzsauren butanolhaltigen Wasserphase gewaschen, derart, daß diese den Bogen einmal durchlief. In den so vorbereiteten Papieren wurde diese störende Front niemals wieder beobachtet. Obwohl

kannter Weise errechnet oder mit dem der zweiten Auflage des Buches von F. CRAMER (7) beigegebenen Rf-Wert-Schlüssel bestimmt.

Identifizierung der Anthozyane.

Das Verfahren der Papierchromatographie setzt in den meisten Fällen für die Identifizierung der Substanzen voraus, daß diese bereits in reiner Form vorliegen und zum Vergleich neben dem zu prüfenden Gemisch mitlaufen. Da reine Anthozyane nicht zur Verfügung standen, mußte ihre Bestimmung auf andere Weise erfolgen. Zunächst wurde die Zusammenstellung von HADDERS und WEHMER (8) in KLEIN, Handbuch der Pflanzenanalyse, über das Vorkommen der bisher untersuchten Anthozyane zugrundegelegt. Darnach konnte eine Auswahl geeigneter Pflanzen getroffen werden, die als Testpflanzen herangezogen wurden. Dann lag aus den Untersuchungen von BATE-SMITH und WESTALL bereits eine Anzahl von Rf-Werten für die wichtigsten rein dargestellten Anthozyane vor. Es kam also in den Untersuchungen darauf an, diese Rf-Werte nach Möglichkeit zu reproduzieren und geeignete Pflanzen mit bekannten Anthozyanen aufzufinden. Weiterhin können nach Abtrennung der Begleitstoffe die Farben der Flecken sowohl bei den Aglukonen wie auch

bei den Anthozyanen die Zuordnung zu einem bestimmten Aglukon erkennen lassen.

Zum Vergleich für die Identifizierung der Aglukone wurden folgende Pflanzen herangezogen: Für Delphinidin *Delphinium*, *Viola*, *Iris* und *Salvia patens*. Für Cyanidin verschiedene rote Polyantha-Rosen und später Cinerarien der Farbe 827 HCC. Paeonidin wurde hier bisher nur in verschiedenen *Paeonia*-Arten aufgefunden (teilweise neben Cyanidin) und Malvidin aus Cyclamin von *Cyclamen persicum* und verschiedenen Traubensorten. Für Pelargonidin wurden *Salvia splendens*, *Delphinium nudicaule* und Cinerarien vom Farbton 820/821 HCC herangezogen.

Der von BATE-SMITH und WESTALL für das Pelargonidin gegebene Rf-Wert von 0,80 ließ sich stets am besten reproduzieren, so daß dieses Aglukon anfangs stets als Kontrolle für die Zuverlässigkeit der Rf-Werte verwendet wurde. Später wurden seine Glukoside, die wegen ihrer niedrigeren Rf-Werte geeigneter erschienen, für diesen Zweck herangezogen. Alle im folgenden neu angegebenen Rf-Werte beziehen sich auf Chromatogramme, bei denen der Rf-Wert von 0,37 für

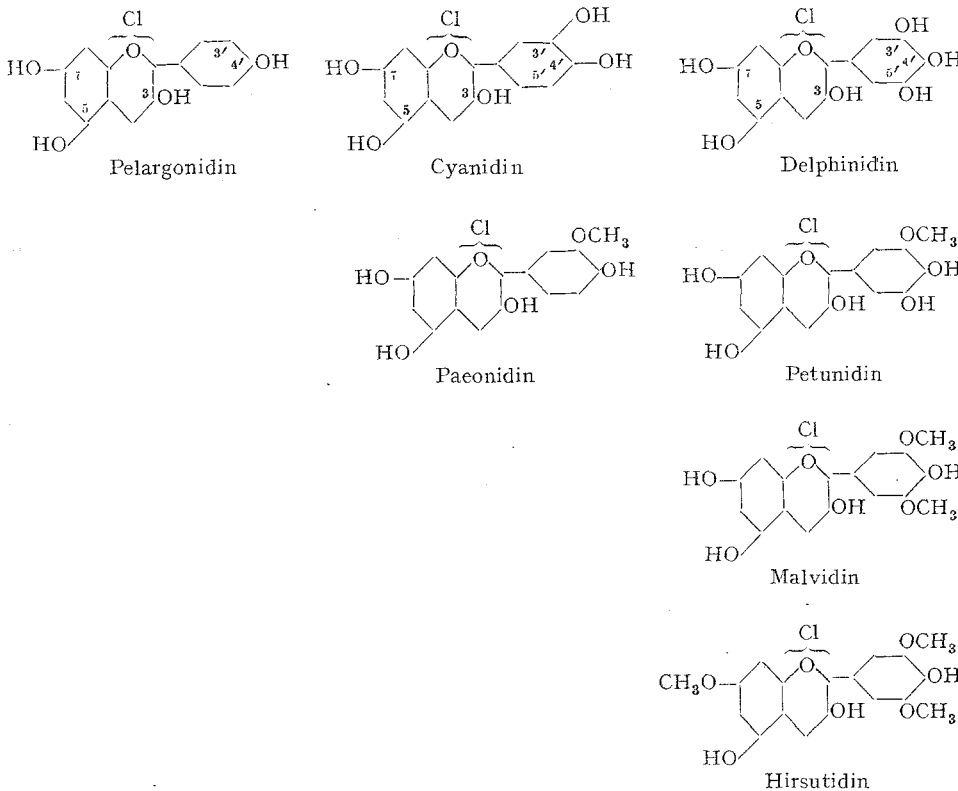


Abb. 1. Konstitutionsformeln der Anthozyanidine nach SCOTT-MONCRIEFF.

dieses Waschen der Papiere in dem der hier verwendeten Methodik zugrunde liegenden Buch von F. CRAMER (7) nicht als notwendig erwähnt wird, halte ich es doch für unerlässlich, besonders, wenn die in dieser Höhe liegenden chymochromen Begleitstoffe untersucht werden sollen. Die Rf-Werte sind auf den so vorbereiteten Papieren meist verändert, die der leicht wasserlöslichen Anthozyane liegen niedriger. Auffallend war in einem besonderen Falle, daß sich die Reihenfolge zweier Stoffe veränderte, und zwar des bei *Iris* vorkommenden Violanins und eines chymochromen Begleitstoffes, so daß dieser nunmehr vor dem Violanin lag. Es mag dies mit der HCl-Behandlung zusammenhängen, denn die Flavonkörper sind im allgemeinen in saurer Lösung weniger löslich als in alkalischer.

Auf den lufttrockenen Chromatogrammen wurden die Flecken der einzelnen getrennten Substanzen mit Bleistift umrandet. Da die meisten Anthozyane fluoreszieren, konnte ihre Lokalisation mit der der chymochromen Begleitstoffe unter der Quarzlampe vorgenommen werden. Später wurde der Rf-Wert in be-

das 3-Monoglukosid aus der Cineria-Rienrasse 820/821 HCC einwandfrei reproduziert werden konnte.

Petunidin konnte nicht aufgefunden werden, da in den zwei hier untersuchten Rassen nur Delphinidin und Cyanidin vorkamen. Die „Karlsruher Rathauspetunie“ ergab Delphinidin entsprechend der Angabe bei HADDERS und WEHMER. *Primula hirsuta* als Testpflanze für Hirsutidin war ebenfalls nicht verfügbar. Da dieses Aglukon nach BATE-SMITH und WESTALL den gleichen Rf-Wert wie Paeonidin aufweist, wäre eine Verwechslung mit diesem denkbar. Jedoch wurde ein Aglukon von dieser Lage im Chromatogramm bisher nur bei *Paeonia* gefunden, und es ist anzunehmen, daß es sich in diesem Falle auch tatsächlich um Paeonidin handelte.

Bei *Adonis aestivalis* wurde ein Aglukon gefunden, das im Chromatogramm höher liegt, aber blauer ist als Pelargonidin und daher nicht mit diesem identisch sein kann. Falls es sich hier nicht um das bisher nicht gefundene Hirsutidin oder um Petunidin handelt, könnte hier möglicherweise ein neues unbekanntes Aglukon vorliegen.

Als gutes Unterscheidungsmerkmal für die gefundenen Aglukone erwies sich die Farbe auf dem Chromatogramm nach der Trennung von den Begleitstoffen. Da jedoch bei unterschiedlicher Behandlung der Säuregrad und damit die Farbe verschieden sein kann, wurden die Farben jeweils nur auf dem gleichen Chromatogramm miteinander verglichen.

Tabelle 1. Rf-Werte von Anthozyanidinen und Anthozyanen nach BATE-SMITH und WESTALL aus CRAMER (7).

| Anthozyanidine | | 3-Monoglukoside | 3,5-Diglukoside |
|----------------|------|-----------------|-----------------|
| Pelargonidin | 0,80 | 0,37 | 0,60 |
| Paeonidin | 0,73 | 0,26 | 0,46 |
| Hirsutidin | 0,73 | 0,48 | 0,62 |
| Cyanidin | 0,68 | 0,15 | 0,37 |
| Malvidin | 0,54 | 0,40 | 0,22 |
| Delphinidin | 0,37 | 0,16 | 0,10 |

Darnach ist das Pelargonidin als am weitesten in den gelbroten Bereich vorstoßend von allen anderen ohne weiteres stets zu unterscheiden. Paeonidin und Cyanidin sind im Farbwert ähnlich. Ihre Farbe sei als karminrot angegeben, wobei auf eine Angabe des Farbwertes nach der Farbentafel bewußt verzichtet werden soll, da nach dem Säuregrad und der Verdünnung Schwankungen vorkommen können. Malvidin und Delphinidin sind demgegenüber als blaustichig-rot anzusprechen und untereinander in der Farbe ähnlich, jedoch stets leicht zu unterscheiden, da sie im Rf-Wert wesentlich verschieden sind.

Die Aglukone ließen sich nach Übereinandertropfen stets leicht wieder voneinander trennen, so daß dieses Verfahren in Zweifelsfällen zur sicheren Unterscheidung angewendet wurde. Vor allem ist dies wichtig für die Unterscheidung von Paeonidin und Cyanidin, da diese sowohl in der Farbe wie im Rf-Wert einander ähnlich sind. Die *Paeonia*-Hydrolysate enthielten stets ein wenig Cyanidin, das sich klar vom Fleck des Paeonidins abhebt. Die genannten fünf Aglukone können also stets einwandfrei unterschieden werden. Ihre Flecken stellen mit Ausnahme vom Pelargonidin, das stets einen distinkten runden Fleck ergibt, meist lange Zungen dar, deren Schwerpunkt nicht immer gut festzulegen ist. Trotzdem ist die Reihenfolge im

Chromatogramm immer die gleiche, so daß die Ermittlung eines Aglukons bei einer bestimmten Farbvarietät als des für die Farbenzüchtung wichtigsten Punktes stets gewährleistet ist.

Die Rf-Werte der meisten Anthozyane liegen wegen ihrer leichten Löslichkeit meist sehr nahe beieinander. Aus diesem Grund ergab sich, daß die Festlegung des Rf-Wertes allein nicht zur Identifizierung eines Anthozyans ausreicht. So besitzt beispielsweise auch das

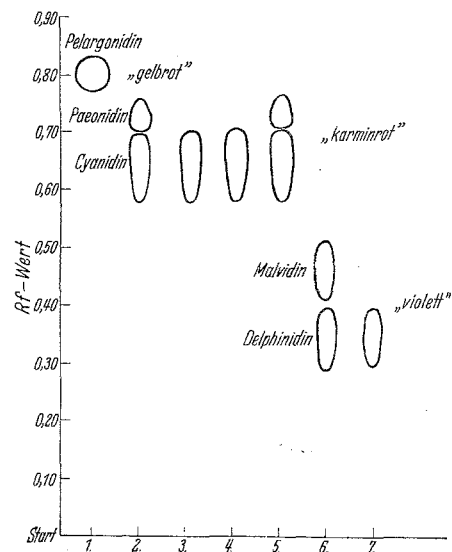


Abb. 2. Prüfung der Aglukone von *Cyclamen*, zugleich Übersicht über die Lage der wichtigsten Anthozyanidine zueinander im Chromatogramm.

1. Pelargonidin aus *Delphinium nudicaule*, *Salvia splendens*, Cinerarie (*Senecio cruentus*), Farbton 820 HCC; 2. Paeonidin aus *Paeonia*-Arten, fast stets neben Cyanidin; 3. Cyanidin aus Polyantha-Rose und Cinerarie, Farbton 827 HCC; 4. Cyanidin: *Cyclamen* „Leuchtfleur“, Spreite + Cinerarie 827 HCC; 5. Cyanidin + Paeonidin: *Cyclamen* „Leuchtfleur“, Spreite + *Paeonia*; 6. Malvidin: *Cyclamen* „Dunkelrot“ + Portugiesertraube (neben Delphinidin); 7. Delphinidin aus *Delphinium*, *Iris Viola*, blau und Cinerarie, Farbton 41 HCC.

Pelargonidin ein Glykosid mit dem Schwerpunkt bei 0,12. An dieser Stelle konnten jedoch weiterhin Glykoside des Paeonidins (aus *Paeonia arborea* und *peregrina*), des Cyanidins (Cinerarie 827 HCC), des Malvidins (Cyclamin aus *Cyclamen persicum*) und vor allem des Delphinidins gefunden werden. Außerdem wurden hier durch die Methode der Papierchromatographie wesentlich mehr Anthozyane aufgefunden, als in der Literatur beschrieben worden sind, und die dementsprechend ihrer Konstitution nach als bekannt angesehen werden dürfen. Es wurde also in jedem Falle das Aglukon bereit und bisweilen auf die Festlegung der Glukosidstufe verzichtet, weil nicht mit Sicherheit entschieden werden konnte, ob es sich um ein bekanntes Anthozyan handelt.

Es fanden sich zwischen einzelnen hier hergestellten Chromatogrammen bisweilen große Unterschiede in den Rf-Werten des gleichen Anthozyans; so daß die Bedeutung des Rf-Wertes allein weiterhin in Frage gestellt und dem Vergleich die größere Bedeutung beigelegt wurde. Als Ursache für die Abweichungen möge zunächst die Papiersorte in Frage kommen, da die Werte auf verschiedenen Papieren deutliche Abweichungen zeigten. Die Temperatur war während des Versuches so weit konstant, daß dieses als Fehlerquelle ausschied. Jedoch kann die unterschiedliche Zusammensetzung der Phasen eine Rolle gespielt haben. So wird auch bei sorgfältiger Einstellung schon nach einmaligem Gebrauch der Butanolphase durch

die Quellungs-fähigkeit des Papierses soviel Wasser entzogen, daß die folgenden Chromatogramme Abweichungen zeigen können. Die wichtigste Ursache für die Unterschiedlichkeit der Rf-Werte dürfte der Quellungs-zustand der Zellulose sein. Dieser ändert sich vor allem mit der Zeitdauer des Einhängens in den Dampf-raum. Doch wurde hier beobachtet, daß nicht voll angefeuchtete Bogen bisweilen bessere Rf-Werte zeigten als solche, die bis zur vollen Sättigung im Dampf-raum gegangen hatten.

Auffallend ist die starke Neigung der Anthozyane zur Zungenbildung, von der allein das Pelargonidin und seine Glykoside abzuweichen scheinen. Diese hängt anscheinend außer von der Stoffkonzentration, von einer spezifischen Adsorbierbarkeit der Anthozyane an einer Säule an Cellulose ab. Bei Versuchen zur Reinigung der Anthozyane an einer Säule aus Cellulosepulver zeigte es sich, daß die Anthozyane nach dem Durchlaufen der mobilen Phase auch mit Wasser niemals vollständig zu entfernen waren. Erst beim Durchspülen mit Lauge zeigte ein scharfer blauer Rand, daß diese vollständig abgelöst wurden. Diese spezifische Eigenschaft der Anthozyane mag sich auch auf dem Papier störend bemerkbar machen. Dementsprechend wurden Abweichungen der verschiedenen Anthozyane innerhalb gewisser Grenzen auch dann beobachtet, wenn die Werte des Pelargonidin-3-Monoglukosids reproduziert wurden. Bisweilen zeigten sich Abweichungen auch zwischen Mitte und Rand des Chromatogramms, weswegen die Kontrolle stets zweimal, einmal am Rande und einmal in der Mitte, aufgetragen wurde.

Versuche mit Säulenchromatographie an Cellulosepulver.

Die scharfen Trennungen, die sich auf den Chromatogrammen auf den Papieren ergaben, legten nahe, eine Trennung auch an Cellulosepulver zu versuchen. Dies erwies sich als notwendig, als sich die Aglukone der Cyclamenextrakte nicht herstellen ließen, weil eine Begleitsubstanz bei der Hydrolyse die Anthozyane zerstörte. Es wurde zunächst mit kleinen Säulen von 15 mm Durchmesser gearbeitet, welches für diesen Zweck ausreichte. Später wurde versucht, das bei *Iris* und *Viola* auftretende Violanin in größeren Mengen abzutrennen, um auch die Zuckerkomponenten vergleichen zu können. Hierfür wurde die Apparatur nach KUHN und BROCKMANN der Firma Hormuth und Vetter in Heidelberg verwendet. Als Cellulosepulver eignete sich am besten die Sorte Macherey und Nagel Nr. 2. Beim Übergang auf den größeren Maßstab ergaben sich Schwierigkeiten durch den Wandeffekt, der die Säule beim Wechsel der Phasen von der Wand abreißen ließ. Dieser wurde auf folgende Weise überwunden: Es wurde eine kleine Menge Kieselgur (Terra silica, geschlämmt und gegläht, MERCK) sowie das Cellulosepulver vorbereitet, indem es längere Zeit in Wasser gekocht wurde, um die letzte kapillare Luft auszutreiben. Dann wurde so viel Kieselgur in den Apparat eingeschlämmt, daß die Höhe des Metallringes gerade erreicht wurde, und langsam soviel Wasser nachgefüllt, bis die überstehende Flüssigkeit nahezu klar blieb. In diese Flüssigkeit (die Säule darf niemals trocken laufen!) wurde nunmehr die Celluloseaufschwemmung eingefüllt und portionsweise zum

Absitzen gebracht. Die Verfestigung der Säule wurde während des Saugens unter der Wasserstrahlpumpe durch einen leichten Druck mit einem Holzpistill gefördert. War nach längerem Durchsaugen größerer Flüssigkeitsmengen die überstehende Flüssigkeit einigermaßen klar, wurde abermals eine kleine Menge Kieselguraufschlammung nachgefüllt, die nun durch sorgfältiges Andrücken nach und nach verfestigt wurde. Vorausgesetzt, daß die Säule nicht trocken lief, riß sie nunmehr im allgemeinen beim Phasenwechsel nicht mehr ab.

Anschließend an diese Vorbereitung wurde die Säule nacheinander mit Lauge, Wasser, Säure, Wasser und salzsaurem butanolhaltiger Wasserphase gewaschen. Dann wurde eine kleine Menge Butanolphase nachgefüllt und, kurz bevor diese die Oberfläche der Säule erreichte, der zu chromatographierende Extrakt über einen Glasstab eingeführt. Der Phasenwechsel vollzog sich auf diese Weise leicht kontrollierbar, ohne daß die Säule trocken lief oder abreißen konnte.

So konnten einige Fraktionen von zuckerfreien Anthozyanen erhalten werden, die die weitere Untersuchung gestatteten.

Zusammenstellung der gefundenen Farbstoffe.

VON BATE-SMITH wurden nach Untersuchungen mit reinen Substanzen bereits verschiedene Rf-Werte für Anthozyane gegeben, doch wurden von jedem Aglukon zunächst nur jeweils das 3-Monoglukosid und das 3,5-Diglukosid untersucht. Die Anzahl der bereits bekannten Glukoside von jedem Aglukon ist jedoch eine weit größere. In der Zusammenstellung von BLANK (9) sind folgende bisher bekannte Glukosidstufen angegeben:

- a) 3-Monoglukoside und 3-Monogalaktoside,
- b) 3-Rhamnoglukoside und andere 3-Pentoseglukoside,
- c) 3-Bioside,
- d) 3,5-Diglukoside,
- e) Säureveresterte Anthozyane.

So konnte bei den zahlreichen hier untersuchten Pflanzen eine große Anzahl verschiedener Anthozyane gefunden werden, die jeweils nur einem Aglukon zuzuordnen waren. Dabei konnten auch viele Glukosidstufen verschiedener Aglukone gefunden werden, die sich in ihrem Rf-Wert voneinander nicht oder kaum unterscheiden. Es kann also aus dem Rf-Wert allein nicht auf das Anthozyan geschlossen werden. Außerdem ist es zum Beispiel fraglich, ob etwa Galaktosid und Glukosid sehr wesentlich in ihrem Rf-Wert abweichen, so daß sie leicht unterschieden werden können. Häufig wird eine Zungenbildung weniger auf starke Stoffkonzentration deuten als vielmehr darauf, daß hier mehrere Glukosidstufen nebeneinander vorliegen, welches vor allem bei den Delphinidin-Glykosiden von Bedeutung zu sein scheint. Natürlich ist dementsprechend die Identifizierung der einzelnen Anthozyane zunächst unsicher, doch dürfte nach Hydrolyse der gereinigten Anthozyane auch die Identifizierung der Zuckerkomponenten möglich sein. Da die Zucker diese Zungenbildung nicht zeigen, dürften sie leichter zu trennen sein als die Anthozyane, wenn sie nahe beieinanderliegen. Auf jeden Fall sind, wenn auch bisweilen die Art des Anthozyans unsicher bleibt, Unterschiede in der Glukosidstufe bei verschiedenen

Farbrassen derselben Pflanze ohne weiteres zu ermitteln. Viele Angaben aus der Literatur über das Vorkommen bestimmter Glykoside, die nach den Schnelltests (17) gegeben wurden, werden wahrscheinlich der Nachprüfung bedürfen. Für den Bedarf der praktischen Blütenfarbzüchtung dürften die gegebenen Möglichkeiten jedoch vorerst ausreichen.

Pelargonidinfarbstoffe.

Pelargonidin ist das am wenigsten wasserlösliche Aglukon, es wandert daher im Butanol-HCl-Chromatogramm am weitesten, und sein Rf-Wert von 0,80 läßt sich fast stets reproduzieren, so daß es anfangs als Kontrolle für die Zuverlässigkeit der Rf-Werte auf jedem Chromatogramm mitverwertet wurde. Jedoch sagt es, wie später erkannt wurde, nichts über die Güte niedrigerer Rf-Werte des gleichen Chromatogramms aus. Außerdem scheinen sowohl das Pelargonidin wie auch seine Glykoside am wenigsten von allen Anthozyanen an Cellulose adsorbierbar zu sein. Jedenfalls neigt es auch bei großer Stoffkonzentration am wenigsten zu Zungenbildung. Die Flecken der Pelargonidinfarbstoffe waren kaum jemals undeutlich und verlaufend, sondern stets scharf gerandet, so daß eine Ermittlung des Schwerpunktes keine Schwierigkeiten machte. Seine beiden wichtigsten Glukoside, das 3-Monoglukosid mit 0,37 und das 3,5-Diglukosid mit 0,60 haben von diesen einfachen Glukosidstufen ebenfalls die höchsten Rf-Werte. Jedoch zeigte sich bald, daß sich bei vielen Pflanzen leichter wasserlösliche Pelargonidinglykoside finden, die den andern Anthozyanen hierin nicht nachstehen und dementsprechend niedrige Rf-Werte aufweisen. Auf welche Art hier die Löslichkeitsänderung erreicht wird, ist unbekannt, jedoch scheinen es kompliziertere Verbindungen zu sein, die bei der Abspaltung bestimmter Teile die bekannten einfachen Glukosidstufen ergeben. So wurde außer dem Hauptanthozyan von *Delphinium nudicaule* bei unvollständiger Hydrolyse deutlich ein Fleck am Orte des 3-Monoglukosids und des 3,5-Diglukosids gefunden.

Alle Pelargonidinglykoside waren auf dem Chromatogramm auch ohne Hydrolyse deutlich als solche an ihrer gelbroten Farbe zu erkennen und mit keinem anderen Anthozyan zu verwechseln.

Das 3-Monoglukosid ist, wie es scheint, der am meisten verbreitete Pelargonidinfarbstoff. Er wurde zunächst bei den Mohnarten *Papaver dubium* und *Papaver glaucum*, sowie bei *Lychnis chalcidonica* aufgefunden. Doch ist er auch bei den pelargonidinfarbenen Gartenmutanten, wie es scheint, der häufigste Farbstoff. So wurde später der Extrakt der beiden roten Cinerarienfarben 820 und 821 HCC, sowie der der roten Garten-Akelei „Crimson Star“ als Testextrakt benutzt. Bei den roten Dahlien und den roten Pelargonien der typischen Pelargonidinfarben konnte er jedoch nicht aufgefunden werden. Hier finden sich neben Anthozyanen anderer Aglukone zwei Glykoside, die möglicherweise mit denen bei *Delphinium nudicaule* und seinem Abkömmling „Pink Sensation“ identisch sind. Bei *Delphinium nudicaule* hat das Hauptanthozyan einen Rf-Wert von 0,13. Daneben findet sich noch ein weiterer, meist nur schwach ausgeprägter Fleck bei 0,22. Die gleichen Anthozyane finden sich bei seinem Abkömmling „Pink Sensation“, nur in um-

gekehrtem Mengenverhältnis. Hier ist das 0,22-Glykosid das Hauptanthozyan. Salvianin aus *Salvia splendens* fand sich als großer Fleck stets vor dem 3-Monoglukosid mit dem Schwerpunkt etwa bei 0,42. Bei den

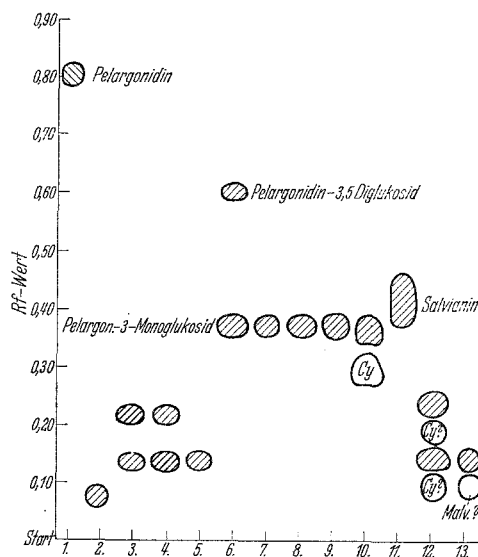


Abb. 3. Pelargonidinfarbstoffe. 1. Pelargonidin; 2. *Delphinium ajacis* u. *consolida*, rosa Gartenformen; 3. *Delphinium* hybr. *Ruysii* „Pink Sensation“; 4. *Delphinium nudicaule*; 5. Cinerarie, (*Senecio cruentus*), Farbton 027/1 HCC; 6. Cinerarie (*Senecio cruentus*), Farbton 820 HCC; 7. *Aquilegia* hybr. „Crimson Star“; 8. *Lychnis chalcidonica*; 9. *Papaver glaucum* Rand; 10. *Papaver glaucum*, schwarzer Grundfleck; 11. *Salvia splendens*; 12. Dahlie, rot; 13. *Pelargonium*, rot.

rosafarbenen Gartenformen von *Delphinium ajacis* und *consolida* ist ebenfalls ein Pelargonidinfarbstoff für die Farbgebung verantwortlich, der anscheinend mit den Farbstoffen aus *Delphinium nudicaule* und

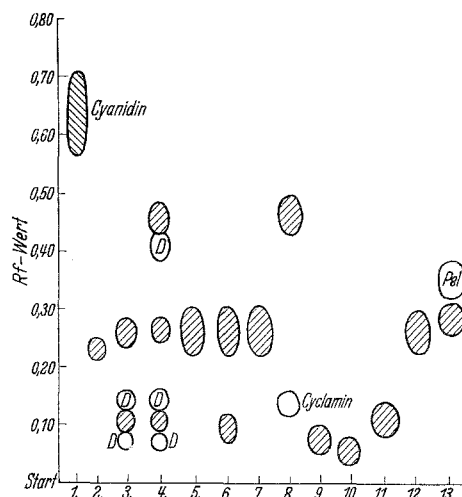


Abb. 4. Cyanidinfarbstoffe. 1. Cyanidin; 2. Süßkirsche „Schwarze Geisenheimer“; 3. *Viola tricolor hiemalis* „Alpenglühn“; 4. *Viola tricolor hiemalis*, violette Gartenrasse; 5. *Astilbe Arendsii* „Fanal“; 6. Cinerarie (*Senecio cruentus*), Farbton 827 HCC; 7. Petunie „Feuerkönig“; 8. *Cyclamen persicum* „Leuchfeuer“; 9. *Cyclamen persicum* „Neulachsrosa“; 10. *Cyclamen persicum* „Neulachsrosa“; 11. *Rosa polyantha*, Gartensorte; 12. *Iris*, Gartensorte, Anthozyangefärbte Blattepidermis, schwarzer Grundfleck; 13. *Papaver glaucum*.

„Pink Sensation“ nicht identisch ist und mit einem Rf-Wert von 0,07 etwas niedriger im Chromatogramm liegt.

Cyanidinfarbstoffe.

Die Anzahl der hier beobachteten Cyanidin-Glykoside ist sehr wahrscheinlich größer, als man nach den beobachteten Orten in den Chromatogrammen ver-

muten möchte. BATE-SMITH und WESTALL geben für das 3-Monoglukosid den Wert 0,15 und für das 3,5-Diglukosid den Wert 0,37 an. Da die Werte fast aller Aglukone hier etwas niedriger gefunden wurden, als bei BATE-SMITH angegeben, diese jedoch trotzdem eindeutig angesprochen werden können, ist anzunehmen, daß auf Grund der anderen Papiersorten oder aus anderen methodischen Gründen dies auch für die Glukosidstufen gilt. Da nach der Literatur bei Rosen das 3-Mono-Glukosid angetroffen wird, möchte ich annehmen, daß der hier bei einer Polyantha-Rose angetroffene Fleck mit einem Schwerpunkt bei 0,10 dem 3-Monoglukosid entspricht. In der Diglukosidstufe jedoch liegen mehrere Anthozyane sehr nahe beieinander. Hier könnte angenommen werden, daß die aus *Astilbe Arendsi* Fanal, aus der Cinerarie 827 HCC,

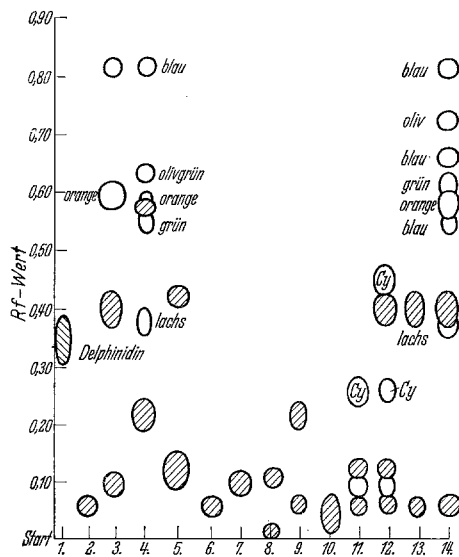


Abb. 5. Delphinidinfarbstoffe. Bei den *Iris*-Varietäten sind die Begleitstoffe eingetragen. Die Farbenbezeichnungen geben die Fluoreszenzfarben an. 1. Delphinidin; 2. *Salvia patens*; 3. *Iris barbata* hort. „Display“, „rot“; 4. *Iris barbata* hort. „Florido“, gedecktes Violett; 5. Petunie „Karlsruher Rathaus“; 6. *Delphinium consolida*, violett; *Delphinium* „Belladonna“; 7. *Delphinium ajacis*, Gartenrasse „hellblau“ und „moderfarben“; 8. Cinerarie (*Senecio cruentus*), Farbtön 741; 9. Cinerarie (*Senecio cruentus*), Farbtön „0836“; 10. *Delphinium Ruysii*, violetter Sämling; 11. *Viola tricolor hiemalis* „Alpenglüh“; 12. *Viola tricolor hiemalis*, violette Gartenrasse; 13. *Viola tricolor hiemalis* „Märzrauber“, blau; 14. *Iris barbata* hort. „Claridad“, blau.

aus der Petunie „Fire King“ und aus den Blattepidermen von *Iris barbata* hort., die nach ihrer Lage im Chromatogramm nicht unterschieden werden können, dem 3,5-Diglukosid entsprechen. Der Schwerpunkt dieser Flecken liegt etwa bei 0,27.

Sehr nahe ist hier das Keracyanin aus der Kirschen-sorte „Schwarze Geisenheimer“ mit einem Schwerpunkt von 0,23 zu finden, sowie das Cyanidinglykosid aus dem schwarzen Fleck von *Papaver glaucum*, ebenfalls mit etwa 0,27, das mit Mekocyacin identisch sein könnte.

Weiterhin findet sich in dieser Stufe ein Cyanidin-Glykosid aus roten und violetten Gartenrasse von *Viola tricolor hiemalis*. Daß diese dem 3,5-Diglukosid entsprechen, ist unwahrscheinlich, da hier drei Cyanidinglykoside mit drei Delphinidinglykosiden gemeinsam vorkommen und man annehmen kann, daß diese drei einander in der Glukosidstufe jeweils entsprechen. Da nun hier für die Delphinidin-Glykoside ein anderer Zucker, vermutlich Xylose, beobachtet wurde, so kann also das in dieser Stufe liegende Delphinidinglykosid zumindest nicht das 3,5-Diglukosid sein. Damit ist auch für das Cyanidinglykosid unwahrscheinlich ge-

worden, daß es sich bei *Viola* um das Cyanidin-3,5-Diglukosid handelt. Es müssen also in dieser Stufe mehrere Cyanidinglykoside zu finden sein, die sich im Rf-Wert nur wenig unterscheiden.

In der Rhamnoglukosidstufe mit hohen Rf-Werten liegt bei einer violetten Rasse von *Viola tricolor* ein Anthozyan, das dem Delphinidin-Rhamnosid Violanin entspricht. Dieses ist also vermutlich auch als das entsprechende Cyanidin-Rhamnosid anzusehen.

Weiterhin wurde bei der *Cyclamen-persicum*-Rasse „Leuchfeuer“ ein Anthozyan gefunden, das wegen seines hohen Rf-Wertes ein Rhamnosid des Cyanidins sein könnte. Bei der *Cyclamen*-rasse „Neulachsrosa“ fanden sich noch zwei weitere Cyanidin-Glykoside mit den sehr niedrigen Rf-Werten von 0,07 resp. 0,05, von denen sich das erste in der Spreite, das zweite im Auge der Blüte findet. Diese beiden sind im Rf-Wert wenig, aber deutlich verschieden. Das erste hat überdies eine mehr gelbrote, das zweite eine mehr blaurote Fluoreszenzfarbe.

Delphinidinfarbstoffe.

Die Delphinidinfarbstoffe unterscheiden sich wesentlich von allen vorigen durch ihre Farbe. Sie geben auf dem Papier, nachdem sie von allen Begleitstoffen getrennt wurden, Flecke von am weitesten in den blauroten Bereich verschobener Farbe. Ferner geben sie, verglichen mit den Pelargonidinglykosiden, längere Zungen, die möglicherweise auf eine spezifische Adsorbierbarkeit an Cellulose und nur teilweise auf starke Stoffkonzentration zurückzuführen sind.

In der Zusammenstellung von GEISSMAN und HINREINER (12) finden sich die folgenden Delphinidinglykoside angeführt: Violanin (3-p-hydroxycinnamoyl-rhamnoglukosid) aus *Viola tricolor*, Gentianin aus *Gentiana acaulis*, Nasunin aus *Solanum melongena* var. *esculentum*, Hibiscin aus *Hibiscus sabbdariffa*, Hyacin (Diglukosid) aus *Hyacinthus orientalis*, Delphin (3,5-Diglukosid) aus *Delphinium*-Arten, *Salvia patens* u. a., Delphinin (Dibenzoyldiglykosid) aus *Delphinium consolida*. Von diesen standen zur Verfügung: Delphin, für das *Salvia patens* verwendet wurde, da bei *Delphinium*-Arten verschiedene anzutreffen sind, Delphinin aus violetter *Delphinium consolida* und Violanin aus *Viola tricolor* (später aus *Iris*-Gartensorten). BATE-SMITH und WESTALL geben für das Delphin (3,5-Diglukosid) den Rf-Wert 0,10 und für das 3-Monoglukosid den Wert 0,16.

Als geeignetes Ausgangsmaterial für Violanin wurden hier die Gartenrasse „Märzrauber“ und die schwarze *Viola tricolor nigra* gefunden, während viele andere Farbenrasse neben diesen noch weitere und vor allem Cyanidinglykoside enthalten. Der Schwerpunkt des Violanin-Flecks lag hier gegen das Pelargonidinglykosid vom Rf-Wert 0,37 als Kontrolle auf den meisten Chromatogrammen bei 0,41, auf gewaschenem Papier 2045 b zumeist tiefer. Es kommt stets mit einem anderen Glykosid gemeinsam vor, das nach seinem Rf-Wert anfangs (6) als Delphinin angesprochen wurde. Auch KARRER und DE MEURON (13) hatten hier ein zweites Delphinidinglykosid gefunden und leicht durch fraktionierte Verteilung abgetrennt. Als Zuckerkomponenten wurden Rhamnose und Gentiobiose, ein Disaccharid aus zwei Molekülen Glukose, angegeben. Nun lag hier daran, sicherzustellen, daß das bei *Iris* gefundene Delphinidinglykosid mit dem

aus *Viola* gewonnenen Violanin identisch ist, da es den gleichen Rf-Wert aufweist. Deshalb wurde die in der Säule gereinigte Violaninfraktion, die sich papierchromatographisch als frei von Zuckern und fluoreszierenden Begleitstoffen erwies, nach der Hydrolyse auf Zucker untersucht. Es wurde für diesen Zweck mit Butanol-Eisessig-Wasser chromatographiert und mit Anilinphtalat nach der bei CRAMER gegebenen Vorschrift (7) entwickelt. Als Kontrolle lief das unhydrolysierte Anthozyan und die Zucker Glukose, Galaktose, Fruktose, Xylose, Mannose und Rhamnose. Auf dem Chromatogramm konnte einwandfrei Rhamnose und Glukose erkannt werden. Außerdem wurde jedoch ein weiterer Zucker gefunden, der mit Xylose identisch sein könnte. Auch die Fraktion, die das Anthozyan der Diglukosidstufe enthielt, wurde untersucht. Sie erwies sich allerdings als nicht frei von Zuckern, doch wurde hier ebenfalls Glukose und möglicherweise Xylose festgestellt. Demnach ist es fraglich geworden, ob es sich, wie früher angegeben (14), wirklich um Delphinin handelt.

Es spricht noch eine weitere Beobachtung dagegen. In dem Extrakt der Violaninfraktion wurde dieses Anthozyan nach längerem Stehen stets wieder beobachtet. Auch ein mit Äther gefälltes und getrocknetes Produkt wies nach einiger Zeit kein Violanin mehr auf, sondern es fand sich das Anthozyan der Diglukosidstufe. Daraus kann geschlossen werden, daß dieses Anthozyan stets durch Zerfall des Violanins, und, da es keine Rhamnose enthält, möglicherweise nur durch Abspaltung der Rhamnose entsteht. Die beiden Violaninfraktionen aus *Iris* und *Viola* unterscheiden sich jedoch auch hinsichtlich der Zucker nicht voneinander, so daß angenommen werden kann, daß das Hauptanthozyan der untersuchten *Iris*-Arten und Sorten ebenfalls Violanin ist.

Jedoch dürfte nach diesen Feststellungen die früher ausgesprochene Vermutung (14) nicht mehr zutreffen, daß bei verschiedenen Sorten verschiedene Mengenverhältnisse der beiden Anthozyane zueinander zu verschiedenen Farbsorten führen können. Zumindest kann dies nicht sichergestellt werden, weil nicht erkannt werden kann, ob es sich bei verschiedenen Mengenverhältnissen um ein Ergebnis der jeweiligen Präparationsmethodik handelt. Es kann nicht einmal mit Sicherheit ausgesagt werden, ob die beiden Anthozyane auch in der Zelle gemeinsam vorkommen, oder ob das Anthozyan der Diglukosidstufe erst bei der Präparation entsteht.

Von Interesse ist es jedoch, daß bei der *Iris*-Sorte „Floridor“ (Cayeux) zwei weitere Delphinidinglykoside nebeneinander gefunden wurden. Davon hat das eine den höchsten bisher bei einem Anthozyan beobachteten Rf-Wert von 0,58. Es scheint aber entweder nur in geringer Menge vorzukommen, oder aber leichter zu zerfallen, denn das andere Glykosid mit einem Rf-Wert von 0,22 ist stets in größerer Menge zu beobachten. Auffallend ist, daß beide schnellen Delphinidinglykoside, das Violanin und das Floridor-Anthozyan, nahezu an der gleichen Stelle liegen wie die zwei bei *Iris* zu beobachtenden lachsfarbenen fluoreszierenden Begleitstoffe. Möglicherweise handelt es sich hier um die den beiden Anthozyanen entsprechenden Flavonkörper.

Bei einer violetten Gartenrasse von *Viola tricolor* konnten drei verschiedene Delphinidinglykoside in

einer Blüte neben drei weiteren Cyanidinglykosiden beobachtet werden, die erst durch zweidimensionales Arbeiten vollständig getrennt werden konnten. Bei einem Sämling von *Delphinium Ruysii* fand sich eine lange Zunge mit einem Schwerpunkt bei etwa 0,07, die möglicherweise mehreren nicht völlig getrennten Farbstoffen zuzuschreiben war. Leider ließ sich dies nicht nachprüfen, da der Sämling inzwischen verlorengegangen. Es scheint aber, daß gerade bei Delphinidinglykosiden mit niedrigen Rf-Werten nicht ohne weiteres auf ein bestimmtes Glykosid geschlossen werden kann. Ob daher alle Glykoside in gleicher Lage aus *Viola*, *Iris*, *Delphinium*, Cinerarien u. a. in gleicher Lage einander entsprechen, kann erst nach ihrer Konstitutionsaufklärung mit Sicherheit gesagt werden. Doch lassen sich bestimmte Unterschiede zwischen Farbvarietäten innerhalb einer Art meist erkennen.

Paeonidin- und Malvidin-farbstoffe.

Bei Gartenformen von *Paeonia albiflora (chinensis)* und *officinalis*, sowie bei *Paeonia peregrina* wurde bisher nur ein einziges Anthozyan gefunden, das demnach mit dem bekannten Paeonin identisch sein dürfte. KARRER und STRONG (10) fanden jedoch, daß der Methoxylgehalt nicht den theoretischen Berechnungen entsprach, und forderten deshalb noch einen geringen Gehalt eines methoxylfreien Anthozyans, den sie auch durch Chromatographieren abtrennen konnten. Nun konnte hier jedoch neben Paeonin kein weiteres Anthozyan an frisch bereiteten Extrakten beobachtet werden. Dagegen fand sich nach der Hydrolyse stets ein zweites Aglukon, das später mit der verbesserten Methodik einwandfrei als Cyanidin erkannt werden konnte. Es muß also offen gelassen werden, ob bei der Präparation nicht stets ein Teil des Methoxyls abgespalten wird, oder ob tatsächlich zwei Anthozyane an der gleichen Stelle vorkommen, die nicht voneinander getrennt werden können. Das Paeonin fand sich stets mit einem Schwerpunkt von 0,07 bis 0,13. Es zeigt unter der Quarzlampe eine sehr starke rote Fluoreszenz.

Auf der Suche nach Malvidin-farbstoffen wurde zunächst eine rote sehr farbstoffreiche Malve untersucht. In dieser fanden sich jedoch nicht weniger als drei Aglukone nebeneinander. Die Anthozyane bildeten eine lange Zunge, die bis über das halbe Chromatogramm reichte, und in der die einzelnen Komponenten derart ineinander übergingen, daß sie an der Farbe nicht eindeutig unterschieden werden konnten. Später konnte in der Schale von Burgunder- und Portugiesertrauben sowie im Saft der Färbertraube Malvidin neben Delphinidin gefunden werden. Das Malvidinglykosid liegt vor dem Delphinidin-farbstoff und ist von diesem stets scharf getrennt. Bei den Hauptcyclamenfarben wurde das von KARRER und WIDMER (11) in seiner Konstitution aufgeklärte Cyclamin aufgefunden mit einem Rf-Wert von 0,13, das bei der Hydrolyse erwartungsgemäß Malvidin ergab.

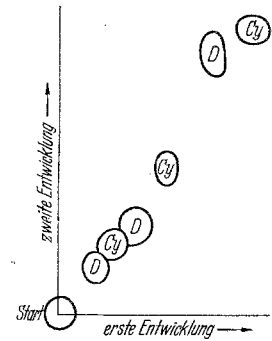


Abb. 6. Zweidimensionale Trennung der Anthozyane einer violetten Gartenrasse von *Viola*.
D = Delphinidinglykoside;
Cy = Cyanidinglykoside.

Das Nebeneinander verschiedener Anthozyane.

Es finden sich zahlreiche Literaturangaben, daß mehrere Anthozyane nebeneinander in den gleichen Blüten oder Blütenteilen vorkommen, wodurch bisher oft die Identifizierung der Anthozyane außerordentlich erschwert wurde. Als auffallendes Ergebnis dieser Studien kann verzeichnet werden, daß diese Vorkommen nunmehr leicht zu erkennen sind.

Dabei kann manchmal eine räumliche Trennung vorliegen, die etwa dann am deutlichsten zum Ausdruck kommt, wenn in den Saftmalen ein anderes Anthozyan gefunden wird als in den übrigen Teilen des Blütenblattes. Bisweilen ist sogar eine Zonenbildung zu beobachten. Durch Zerschneiden des Blütenblattes und getrenntes Extrahieren ließen sich diese Fälle bei dem geringen Materialbedarf leicht untersuchen.

So konnte durch Zerschneiden und getrenntes Extrahieren beim Tulpenmohn, *Papaver glaucum*, leicht nachgewiesen werden, daß der Cyanidin-Anteil der Anthozyane im schwarzen Fleck lokalisiert ist, während die Pelargonidinkomponente im ganzen Blütenblatt angetroffen wurde. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei den Leuchtfeuer-Farben von *Cyclamen persicum*. Besonders ist dies bei der hellachsrosafarbenen Rasse „Rosa von Wandsbek“, (Rose van Aalsmeer) zu beobachten, bei der man schon ohne die Untersuchung die Zonen zweier Farbstoffe übereinander erkennen kann. Hier erwies sich der Malvidinfarbstoff Cyclamin auf das Auge beschränkt. Darüber kann eine weitere Zone eines Cyanidinfarbstoffes erkannt werden, die dann bei verschiedenen Typen zu einem verschieden blassen Rosa ausläuft. Das schwarze Auge der blauen Rasse „Märzzauber“ von *Viola tricolor hiemalis* zeigte dagegen die gleichen Anthozyane.

Außerdem war jedoch ein Nebeneinander verschiedener Anthozyane zu beobachten, bei denen eine räumliche Trennung nicht nachgewiesen werden konnte. Dabei waren einerseits die Anthozyane dem gleichen Aglukon, andererseits auch verschiedenen Aglukonen zugeordnet. In beiden Fällen dürfte der sichere Nachweis und die einwandfreie Trennung erst mittels der Papierchromatographie möglich geworden sein. So konnten etwa bei den Farbstoffen der Weintrauben durch die bisherigen Fraktionierungsverfahren nur Fraktionen mit wechselndem Methoxylgehalt erhalten werden, woraus auf ein Nebeneinander von Malvidin-(Oenin) und Delphinidinfarbstoffen geschlossen werden konnte. Hier ließ sich bei Extrakten aus Schalen der Burgunder- und der Portugiesertraube, sowie aus dem Saft der Färbertraube leicht ein Delphinidin-Anteil hinter dem Oenin auffinden. Vor diesen beiden Anthozyanen findet sich noch ein mehr rot gefärbter Anteil, der vielleicht einem Cyanidin-Farbstoff zuzuschreiben ist. Im Wein läßt sich ein distinkter Oenin-Fleck mit einem leicht zu bestimmenden Schwerpunkt nicht auffinden, wie RUF (15) gezeigt hat. Doch dürften sich Fremdfarbstoffe im Wein, auch Anthozyane, neben Oenin erkennen lassen. Auch in Blüten werden Anthozyane verschiedener Aglukone nebeneinander aufgefunden und, wo eine Zonierung nicht erkennbar war, muß angenommen werden, daß diese auch in einer Zelle nebeneinander bestehen können.

Für die praktische Blütenfarbenzüchtung hat das Nebeneinander verschiedener Aglukone besonderes Interesse, weil zwei verschiedenen Aglukonen auch mit Sicherheit verschiedene Farbtönungen zukommen. Lassen sich verschiedene Aglukon-Anteile ihrem Mengenverhältnis nach durch Selektion verschieben, oder läßt sich gar der eine Anteil rein erhalten, so ist eine Verschiebung des Farbwertes in Richtung auf die Farbe des angereicherten Aglukons möglich. Bisweilen waren auf dem Chromatogramm die einzelnen Komponenten so nahe beieinanderliegend, daß sie nur durch zweidimensionales Arbeiten getrennt werden konnten. In solchen Fällen würde eine Reihenuntersuchung erschwert sein. Mehrere Aglukone und ihr Einfluß auf die Farbe wurden beobachtet bei folgenden Pflanzen:

Cinerarien (*Senecio cruentus*)

Delphinidin allein nur bei reinblauen Tönen.
Delphinidin und Cyanidin bei violetten Tönen zwischen 30 und 37 HCC.
Cyanidin allein bei Rubinrot (827 HCC).
Pelargonidin bei Johannisbeerrot (821 HCC).

Viola tricolor

Rote Rassen viel Cyanidin, wenig Delphinidin;
violette Rassen Delphinidin allein und Delphinidin und Cyanidin;
blaue Rassen Delphinidin allein.

Lathyrus Cuthbertson Rasse (Sorte Coline) (scharlachrot)

Pelargonidin und Cyanidin.

Delphinium nudicaule-Bastarde

Pelargonidin und Delphinidin.

Verschiedentlich wurden mehrere Glykoside des gleichen Aglukons beobachtet, so bei *Iris*, *Viola*, *Delphinium*, Cinerarien. Wie weit diese Vorkommen verschiedener Glykoside nebeneinander einen Einfluß auf die Farbe haben und ob sie züchterisch getrennt werden können, bleibt abzuwarten. Jedenfalls konnte ihr Vorkommen klar erkannt werden.

Chymochrome Begleitstoffe.

SCOTT-MONCRIEFF (16) führt als wichtigsten mutativen Schritt auf dem Wege zu verschiedenfarbigen Gartensorten den Verlust der Copigmentation an. Dadurch, daß die Copigmentation hier vielfach auf dem gleichen Papierchromatogramm erkannt werden konnte, erhält diese Möglichkeit erhöhte Bedeutung. Schon von ROBINSON und ROBINSON (17) ist die blauende Wirkung verschiedener Copigmente erkannt worden. Als Copigmente dieser Art kommen vor allem verschiedene Flavonkörper und Catechine in Frage. Obwohl durch die Untersuchung von GAGE, DOUGLAS und WENDER (18) bereits eine große Zahl von Rf-Werten und Fluoreszenzfarben für die wichtigsten Flavonkörper vorliegen, und auch neuerdings das Studium der Leukofarbstoffe von BATE-SMITH (19) mittels der Papierchromatographie wieder aufgenommen worden ist, wurde eine Bestimmung der beobachteten Copigmente noch nicht versucht.

Die Unterschiede in der Copigmentation bei verschiedenen untersuchten Farbvarietäten von Gartenpflanzen waren jedoch so deutlich, daß der Farbunterschied den Copigmenten zugeschrieben werden kann. Die Feststellung auf dem Papierchromato-

gramm wurde zuerst ermöglicht, indem in einigen Fällen bei bestimmten Pflanzen ein gelblicher Fleck zu beobachten war, der anderen Varietäten fehlte. Die Untersuchung unter der Quarzlampe ergab, daß hier die verschiedensten Fluoreszenzfarben beobachtet werden konnten, die das Wiedererkennen einer bestimmten Substanz ohne weiteres ermöglichte. Als Nachweis für Flavonkörper wurde zunächst Ammoniakdampf und basisches Bleiacetat benutzt. Doch zeigte sich häufig, daß durch Bedampfen oder Besprühen mit Reagenzien klare Fluoreszenzflecken nebeneinander verwischt wurden, sodaß die Zuordnung nicht mehr sicher erkannt werden konnte. Flecken auf dem Chromatogramm wurden mit Bleistift umrandet und die Schwerpunkte später bestimmt.

In verschiedenen Farbenvarietäten konnten keine Unterschiede unter der Quarzlampe erhalten werden. So konnten vor allem blaue und violette ausdauernde Gartenrittersporne und einjährige hellblaue und modelfarbene (graublaue) Rittersporne in der Pigmentation auf dem Chromatogramm nicht unterschieden werden. Es ist jedoch möglich, daß eine sorgfältigere Arbeit mit Reagenzien hier Unterschiede in der Copigmentation auffinden lassen wird, zumal BATE-SMITH (19) einige Leukofarbstoffe auffand, die keine Fluoreszenz aufwiesen.

Die Copigmente konnten bei vielen weißen Gartenvarietäten gefunden werden, während sie bei den gefärbten entweder ganz fehlten oder ein Blauwerden der Blüten bedingten. Die Wirkung der Copigmente bei blauer, roter und weißer *Iris* konnte hier auch im Reagenzglas erkannt werden. Bei *Iris* gibt es dominantweiße und rezessiv-weiße Sorten, deren Verhaltensweise von STURTEVANT (20) beschrieben wurde. Es ist sehr wahrscheinlich, daß sich diese an den Copigmenten unterscheiden lassen. In der Sektion *Pogoniris* wurden fast allgemein zwei lachsfarben fluoreszierende Pigmente beobachtet, die nahezu bei allen Sorten zu finden sind, wenn sie auch den roten Sorten in geringerer Menge zuzukommen scheinen, mit den Rf-Werten von 0,38 resp. 0,58. Der Lage im Chromatogramm nach könnte man vermuten, daß es sich um Flavonkörper handelt, die den beiden schnellen Anthozyanen, die bei *Iris* beobachtet wurden, entsprechen. Das 0,38 Flavon findet sich zumeist hinter Violanin. Diese Reihenfolge wird jedoch auf mit saurer Butanolphase gewaschenen Papieren geändert. Das 0,58-Flavon findet sich zumeist dicht hinter oder vor dem Floridor-Anthozyan. Dieses ändert seine Fluoreszenzfarbe beim Besprühen mit Borsäure in Blaugrün. Um festzustellen, ob hierbei eine wesentlich verschiedene Verbindung entsteht, wurden die mit Borsäure versetzten Extrakte zum Vergleich angesetzt. Es ergab sich eine leichte Verringerung des Rf-Wertes, die aber nicht als gesichert angesehen werden kann. Außer diesen beiden Begleitstoffen wurden vier weitere vor allem blau und blaugrün fluoreszierende Stoffe gefunden, die vor allem bei blauen und dominantweißen Sorten auftreten.

Weitere Fälle von Copigmentation wurden bei Cyclamen und Cinerarien beobachtet, die ebenfalls in gleicher Weise wie bei weißen wie bei entsprechend helleren und blauerer Blüten auftrat. Bei Cinerarien wurde ein weiteres Copigment aufgefunden, das bei Pelargonidinfarben wie bei gedeckten Delphinidinfarben in gleicher Weise auftrat.

Zusammenstellung der untersuchten Pflanzen.

Cinerarien (*Senecio cruentus*).

Die Farbtöne der Cinerarien reichen nahezu vom Spektralrot bis zum Spektralblau. Dieser große Bereich der Farben im Spektralkreis ließ erwarten, daß bei dieser Pflanze besonders viele Verschiedenheiten im Zusammenwirken der Farbstoffe bei der Entstehung der einzelnen Farbtöne anzutreffen sein würden. Deshalb erschienen sie als Untersuchungsobjekt besonders geeignet. Jedoch liegt gerade in dieser außerordentlichen Buntheit auch ihr Verkaufswert, neben der außerordentlichen Leuchtkraft ihrer Farben. Es wird deshalb in der Praxis nur in einzelnen Fällen Wert auf die Durchzüchtung reiner Farbenrassen gelegt. So hatten die Untersuchungen an den Cinerarien hier zunächst nur die Ausarbeitung der Methode zum Ziel. Jedoch dürften die Ergebnisse es in einzelnen Fällen trotzdem ratsam erscheinen lassen, einige Farbtöne getrennt abblühen zu lassen.

Außer einer weißen Pflanze wurden 14 Farbtöne untersucht, deren Farbwerte im folgenden nach der HCC angegeben sind. Wo dies nicht möglich war, weil der betreffende Farbton in der Farbentafel nicht vorlag, wird der Farbton näherungsweise angegeben, wobei entsprechend dem Bezifferungsprinzip der HCC ein Grauwert durch Vorsetzen einer Null und eine Intensivierung des Farbtönen durch Vorsetzen einer Ziffer größer als 7 bezeichnet werden. Zur Untersuchung kamen die Farbtöne: 820 Blutrot und 821 Johannisbeerrot, 027/1 Magentarosa, 827 Rubinrot, 731 Orchideenpurpur, 32 Petuniapurpur, 733 Violett purpur, 634/2 ein helles Kobaltviolett, 0836 ein näherungsweise angegebener, etwa als schieferfarben zu bezeichnender Farbton, ebenso 837 heller als der folgende, 937/2 Akonitviolett, 41 Lobeliablau und 741 etwas farb stärker als voriger. Es sind indessen noch weit zahlreichere Farbtöne zu beobachten, die nicht untersucht wurden, so daß aus jedem Farbenbereich gewissermaßen nur eine Stichprobe vorlag. Die Farbenangaben beziehen sich auf frisch erblühte Blumen, während des Verlaufs der Anthese ist ein Verbläuen zu beobachten.

Der Vergleich der Hydrolysate aus den einzelnen Farbenbereichen ergab als Aglukone Pelargonidin, Cyanidin und Delphinidin, so daß sich aus deren Vorkommen allein die außerordentliche Buntheit erklärt. Man könnte nun vermuten, daß hier alle Farbtöne zwischen Rot und Blau wie auch von der starken Weißaufhellung bis zur intensiven Ausfärbung alle Zwischenstufen in stetigem Übergang zu finden seien. Dies ist jedoch durchaus nicht der Fall. Bei der Arbeit mit der Farbentafel zeigte es sich, daß die Töne im extrem roten Bereich nur wenig um die Werte 820/821 HCC schwanken. Sie wirken häufig etwas grauer als der reine Farbton. Diese Farben sind reine Pelargonidinfarben. Der nächste rote Farbton, der hier aufgefunden werden konnte, war Rubinrot (827 HCC) als reine Cyanidinfarbe, dazwischen wurde bisher vergeblich nach Übergängen gesucht. Die nun folgenden Purpurfarben schließen sich enger aneinander, vielleicht deshalb, weil hier Delphinidin und Cyanidin nebeneinander vorkommen. Die Übergänge werden vielleicht durch wechselnde Mengen der beiden Komponenten vermittelt, was jedoch hier nur vermutet werden kann, da aus den vorstehend mitgeteilten Bedenken die Chromatogramme nicht quantitativ auswertbar sind. Bei der Farbe Lobeliablau (41 HCC) ist Delphinidin allein das den Farbton bestimmende Aglukon. Die in der Tabelle angegebenen Mengenverhältnisse müssen sich deshalb auf die kurze Angabe ‚viel‘ oder ‚wenig‘ beschränken. So ist wohl die vorsichtige Angabe erlaubt, daß der Farbton 733 seine Entstehung dem überwiegenden Gehalt an Cyanidin neben nur wenig Delphinidin verdankt, während etwa bei 937/2 und 837 nur noch wenig Cyanidin neben Delphinidin zu finden ist.

Auch in den Glukosidstufen sind Unterschiede zu beobachten. So fanden sich bei den Pelargonidin-Farben 820/821 HCC offensichtlich das 3-Monoglukosid neben einem geringen Anteil des 3,5-Diglukosids des Pelargonidins nebeneinander. Der Rf-Wert des Pelargonidin-3-Monoglukosids, den BATE-SMITH mit 0,37 angibt, ließ sich bei dieser Farbe fast stets so gut reproduzieren, daß der Cinerarien-Extrakt der Farbe 821 HCC über ein Jahr lang als Test für die Genauigkeit der Rf-Werte auf den einzelnen Chromatogrammen benutzt wurde.

Bei dem Farbton „Magentarosa“ (027/1 HCC) fand sich ein weiteres Glykosid des Pelargonidins mit dem Rf-Wert 0,11—0,13, das wahrscheinlich mit dem später bei *Delphinium nudicaule* gefundenen identisch ist. Hier ist es verwunderlich, daß dieser Farbton, der neben seinem Helligkeitswert doch wesentlich blauer ist, nicht bereits Cyanidin ergab. Es ist dies in verschiedener Hinsicht von Bedeutung. Zunächst kann hier nicht sicher ausgesagt werden, ob dieser Farbton seinen Blauwert der Wirkung der chymochromen Begleitstoffe verdankt. Denn es wurde hier bei fast allen Extrakten beobachtet, daß diese in stärkerer Verdünnung wie auch geringerer Schichtdicke nicht nur heller, sondern auch blauer werden. Es kann also auch dieser Effekt an dem Blauwert beteiligt sein. Weiterhin gibt aber die Tatsache, daß eine im Cyanidinbereich liegende Farbe bei starker Aufhellung bereits dem Pelargonidin ihre Ausprägung verdanken kann, den Hinweis, daß auch bei anderen Pflanzen beim Aufsuchen der meistens recht begehrten Pelargonidin-Mutanten helle Typen schon in diesem Farbenbereich untersucht werden sollten.

Bei der tiefrubinroten Farbe 827 HCC finden sich ebenfalls zwei Anthozyane nebeneinander, die mit ihren Rf-Werten 0,26—0,29 bzw. 0,07—0,09 dem Cyanidin-3,5-Diglukosid und dem 3-Monoglukosid entsprechen könnten, während BATE-SMITH hier die Werte 0,37 bzw. 0,15 angibt. Da die Kontrollen des Pelargonidin-3-Monoglukosid 0,37 den von BATE-SMITH angegebenen Wert bestätigen, liegen diese dann deutlich niedriger. Bei den Farbtönen 731 HCC und 32 HCC wurde dagegen nur ein Anthozyan gefunden, welches dem Rf-Wert 0,13—0,16 entsprechend dem Cyanidin-3-Monoglukosid zukommen würde, da hier im Hydrolysat nur Cyanidin gefunden wurde. Es ist auffallend, daß sich Pflanzen mit reinen Cyanidin-Farben,

vor allem Rubinrot 827 HCC, nur selten in der Mischung aller Farben finden.

Bei den Purpurfarben wurden wiederum zwei verschiedene Anthozyane gefunden, die nun jedoch zwei verschiedenen Aglukonen, Cyanidin und Delphinidin, zuzuschreiben sind, wie ihre Farbe auf dem Chromatogramm und auch die Ergebnisse der Hydrolysate ausweisen. Dabei ist bemerkenswert, daß hier, besonders bei der dunkelvioletteten 837 HCC, das nahe dem Start liegenbleibende Anthozyan der Farbe nach deutlich dem Cyanidin zuzuschreiben ist, während der Delphinidinfarbstoff vom Start an eine lange Zunge mit einem Schwerpunkt etwa bei 0,12 bildet. Im allgemeinen haben die Cyanidinfarbstoffe höhere Rf-Werte als die entsprechenden Delphinidinglykoside, wie sich dies auch vor allem bei der Gattung *Viola* ergab, wo bis zu sechs verschiedene Farbstoffe in einer Blüte nebeneinander beobachtet wurden. In den Zungen sind jedoch die einzelnen Komponenten der Farbe nach schwer zu trennen, so daß sorgfältige Analyse, entweder zweidimensionales Arbeiten oder Durchlaufenlassen notwendig wäre. Bei dem Farbton 0836 findet sich ein Delphinidinglykosid von einer anderen Glukosidstufe wie bei den rein blauen Tönen. Es wäre dies mit einem mittleren Rf-Wert von 0,15 etwa als das Delphinidin-3-Monoglukosid anzusprechen, während bei den anderen das 3,5-Diglukosid mit einem Rf-Wert von 0,09 angetroffen wurde. Bei allen blauen Farben findet sich ein weiterer delphinidinfarbener Fleck am Start.

Es ist nun die Frage, ob aus den Farbstoffen bereits auf die Dominanzverhältnisse geschlossen werden kann, und dementsprechend Voraussagen für die Farbenzüchtung bei Cinerarien gemacht werden können. Nach den Befunden, die bisher gemacht wurden und die bei SCOTT-MONCRIEFF zusammengestellt wurden, läßt sich schließen, daß

Tabelle 2. Cinerarien-Farben und -Farbstoffe.

| Farbton | Anthozyanidin | Anthozyan | Rf-Wert | Chymochrome Begleitstoffe nach Fluoreszenzfarben und Rf-Werten | | | | |
|----------------------------------|------------------------------|---|-----------------------------|--|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | | | | blau I | gelbgrün-grau | blau II | gelbgrün-grau | blau III |
| | | | | 0,92 bis 0,94 | 0,82 bis 0,84 | 0,75 bis 0,77 | 0,70 bis 0,72 | 0,65 bis 0,66 |
| 820 HCC Blutrot | Pelargonidin | viel P-3-Mono, wenig P-3,5-Diglukosid | 0,37 0,60 | + | | + | | + |
| 821 HCC Johannisbeerrot | Pelargonidin | wie vor. | wie vor. | + | | + | + | + |
| 027/1 HCC Magentarosa | Pelargonidin | P-Glykosid. <i>Delphin. nudicaule</i> ? | 0,11—13 | + | | + | + | + |
| 827 HCC Rubinrot | Cyanidin | Cy-3-Mono- u. Cy-3,5 Digl. | 0,09 0,29 | + | | + | | |
| 530/3 HCC Amarantrosa | — | — | — | + | + | + | + | |
| 731 HCC Orchideenpurpur | Cyanidin | Cy-3-Monoglukosid? | 0,11—13 | + | | + | | |
| 32 HCC Petuniapurpur | Cyanidin? | Cy-3-Monoglukosid? | 0,11—13 | + | | + | | |
| 733 HCC Violettpurpur | wenig Delphinidin + Cyanidin | Cy-Glykosid Delph.-Glykosid | Start u. 0,09 | + | | + | | |
| 634/2 HCC Kobaltviolett, hell | — | — | — | + | + | + | + | |
| 0836 schieferfarben | Delphinidin + wenig Cyanidin | Delph.-3,5 | Start u. Zunge bis 0,17 (D) | + | | + | + | + |
| 837 violett, heller als folgende | Delphinidin + Cyanidin | Cy-Gl. = rot Delph.-Gl. = violett | Start u. 0,09 | + | | + | | |
| 937/2 HCC Akonitviolett | Delphinidin + wenig Cyanidin | wie vor. | wie vor. | + | | + | | |
| 741 dunkler als folgende | Delphinidin | D-3-Monogl.? | Start u. 0,09 | + | | + | | |
| 41 HCC Lobeliablau | Delphinidin | wie vor. | Start u. 0,09 | + | | + | | |
| weiß | — | — | — | + | ++ | + | ++ | |

in den meisten Fällen eine Dominanz von Delphinidin über Cyanidin anzunehmen ist. Die Bildung von Pelargonidin dagegen ist zwar häufig rezessiv gegenüber Delphinidin, doch kommt auch gelegentlich ein Gen für spezifische Anthozyanbildung vor, das die Ausbildung von Pelargonidin-Glykosiden neben anderen Anthozyanen ermöglicht. Doch wird hier stets die Farbe der blauerer Farbstoffe den begehrten Pelargonidinton überdecken. Es dürfte sich wohl daher bei den Pelargonidinfarben in jedem Falle empfehlen, diese getrennt abblühen zu lassen. Von größerer Wichtigkeit erscheint dies jedoch auch bei den reinen Cyanidinfarben. Schon die Seltenheit des rubinroten Tones (827 HCC) deutet darauf hin, daß dieser möglicherweise einem rezessiven Faktor seine Entstehung verdankt. Auch bei diesen Farben dürfte deshalb eine Isolierung vorzuschlagen sein.

Chymochrome, fluoreszierende Begleitstoffe finden sich bei allen untersuchten Farbtönen. Sie ergeben, über Ammoniakdampf gehalten, eine deutliche Gelbfärbung und lassen sich auch beim Besprühen mit Bleiacetat auffinden. Schlüsse auf ihre Bedeutung für die Farbausprägung können hier nur aus der Tatsache abgeleitet werden, daß einige von ihnen nur bei bestimmten Farbtönen und bei einer weißen Pflanze aufgefunden wurden. Da sich Flecke, die mit NH_3 -Dampf Gelbfärbung ergaben, jedoch vorher keine Fluoreszenz erkennen ließen, nicht fanden, wurde auf die Untersuchung mit Reagenzien verzichtet, zumal diese nur verwaschene Flecken ergibt, die häufig genug die Zuordnung nicht ermöglicht, während die Untersuchung unter der Quarzlampe eine sichere Identifizierung gestattete.

Bei allen untersuchten Farben fand sich ein blau fluoreszierender Fleck bei 0,92—0,94, der ein Aglukon sein könnte, da er auch in den Hydrolysaten anzutreffen ist. Ein weiteres Aglukon, das in allen Hydrolysaten gefunden wurde, gibt einen lachsfarben fluoreszierenden Fleck bei 0,78—0,82, der bei den roten Tönen im Pelargonidin liegt. Ein weiterer blau fluoreszierender Begleitstoff von einem Rf-Wert von 0,75—0,77 findet sich ebenfalls bei allen untersuchten Farben. Bei der weißblühenden Pflanze fand sich in offensichtlich großer Stoffkonzentration eine gelbgrüngrau fluoreszierende Substanz bei 0,82—0,84, die auch in geringerer Konzentration bei den blassen Farben 530/3 und 634/2 angetroffen wurde. Die gleiche Fluoreszenzfarbe weist eine weitere Substanz auf, ebenfalls reichlich bei weiß, jedoch weiterhin auch bei 821, 0/27/1, 530/3, 634/2, 0836, 741 und 41 aufgefunden, mit einem Rf-Wert von 0,70—0,72. Ein fünfter chymochromer Begleitstoff, der blaugrau bis hellblau fluoresziert, findet sich bei 0,65—0,66, und zwar auffallenderweise bei den Pelargonidinfarben 820, 821, 027/1, jedoch auch bei der schieferfarbenen Pflanze 0836. Wenn die Deckung der reinen Farbe auf diesen Stoff zurückzuführen ist, dann würde zumindest bei den blauen Tönen seine Eliminierung notwendig werden, da die gedeckten Farben bei Cinerarien unerwünscht sind. Es ist immerhin denkbar, daß er auch bei den roten Farben eine Rolle spielt, denn auch diese weichen etwas vom reinen Spektralton ab. Sollte das Auftreten dieses Stoffes auch genetisch bedingt sein, so müßte man hier auch aus diesem Grunde eine Trennung der Pelargonidinfarben von den Delphinidinfarben in Erwägung ziehen, da unter Umständen der Einkreuzung dieser dann die unerwünschte Deckung der Farben zuzuschreiben sein könnte. Dieser Zusammenhang wird gestützt durch die Mitteilung einer genetischen Beziehung zwischen diesen Farben bei der China-Aster von WIT (Tabelle 50, Nr. 544, 545, 550 und Tab. 51, Nr. 980) (2).

Delphinium.

Bei der Untersuchung von Arten und Varietäten der Gattung *Delphinium* interessierte vor allem die Frage der Züchtung eines roten Gartenrittersporns aus *Delphinium nudicaule*, zumal auch bereits verschiedene Artbastarde mit diesem aus eigenen Kreuzungen zur Untersuchung zur Verfügung standen. Die Entstehung des rosa Rittersporns *Delphinium Ruysii* „Pink Sensation“ ist bereits von PROPACH (21) cytologisch untersucht und diskutiert worden. Hinsichtlich der Farbe ist bemerkenswert, daß als Farbe des F_1 -Bastards ein trübes Violett angegeben wurde, während der rosa Farbton erst in den

späteren Aufspaltungen aufgetreten ist. Auch aus „Pink Sensation“ selbst, der ebenfalls noch hochgradig steril ist, wurden gelegentlich einzelne weitere rosa Sämlinge erhalten. Die Überwindung der Sterilität ist also vorläufig die Hauptfrage, die auf dem Wege zu weiteren Gartensorten dieser Richtung zu lösen ist.

Delphinium nudicaule verdankt seine rote Farbe hauptsächlich einem Farbstoff, der bei der Hydrolyse Pelargonidin ergibt. Er ist nicht mit dem 3-Mono- und 3,5-Diglukosid identisch, wie es bei den roten Cinerarien aufgefunden worden ist. Sein niedriger Rf-Wert von 0,13 zeigt es auf gleicher Höhe in Chromatogrammen mit sehr vielen anderen Anthozyanen, vor allem auch neben Delphinidinverbindungen, von denen es aber ohne weiteres durch seine Farbe zu unterscheiden ist. Nun weist das Chromatogramm aber auch noch einen erheblichen Gehalt an Flavonkörpern auf, die sich hier bereits als deutlich gelbe Flecke zu erkennen geben. Eine mikroskopische Untersuchung zeigte, daß der Farbstoff in einer hellrosa Lösung in den Epidermiszellen zu finden ist, so daß sich *Delphinium nudicaule* hierin nicht von seinem Abkömmling „Pink Sensation“ unterscheidet. In den darunter liegenden Parenchymschichten jedoch konnten mikroskopisch weiterhin stark gelb gefärbte Plastiden aufgefunden werden. Die mit Äther ausgezogenen trockenen Blütenblätter nehmen überdies anschließend die schwache Rosafärbung der Blütenblätter von „Pink Sensation“ an. Hieraus kann geschlossen werden, daß zur Erzielung eines roten Gartenrittersporns vor allem die Einführung der gelben Komponenten in das Grundgewebe notwendig ist. Da die Unterschiede zwischen den beiden Pflanzen hinsichtlich der Flavonkörper nach dem Ausweis der Chromatogramme nicht wesentlich zu sein scheinen, wäre also die Einführung der Carotinoide in das Grundgewebe die Hauptbedingung für den Erfolg der Züchtungsversuche. Zwar ist das Anthozyan von „Pink Sensation“ dem Rf-Wert nach von *Delphinium nudicaule* etwas verschieden. Neben einem schwachen Fleck, der dem 0,13 *nudicaule*-Anthozyan entspricht, findet sich die Hauptmenge des Anthozyans bei 0,22, also noch wesentlich hinter dem 3-Monoglukosid. An der Stelle, wo dieses zu erwarten ist, findet sich jedoch manchmal ebenfalls, zumal bei älteren Extrakten, ein schwacher roter Fleck. Da bei anderen Pflanzen intensiv spektralrote Blüten zu finden waren, die ihre Farbe einer starken Konzentration eines Pelargonidinfarbstoffes verdanken, müßten auch hier nur durch Konzentration des Farbstoffes rote Sorten erreicht werden können. Es ist aber auffallend, daß bei *Delphinium nudicaule* ein anderer Weg zur Erreichung dieses Farbwertes beschritten wurde, und es muß deshalb damit gerechnet werden, daß eine starke Konzentration des Farbstoffes bei *Delphinium*, wie sie hierzu erforderlich ist, nicht möglich ist. Gleichzeitig mit dem Versuch einer stärkeren Konzentration des Anthozyans müßte also hier die Rückkreuzung mit *Delphinium nudicaule* zur Anreicherung der Carotinoide vorgeschlagen werden.

Von neu hergestellten F_1 -Bastarden wurden untersucht: *nudicaule* × *tatsienense* und *triste* × *nudicaule*. Weiterhin wurden mir von der Gärtnerei DORN in Aachen noch Blüten von der Kreuzung der weißen Pazifik-Rasse von *Delphinium cultorum* mit *nudicaule* zur Verfügung gestellt. In allen diesen untersuchten Bastarden waren die Delphinidin-Farbstoffe für die Farbgebung entscheidend. Lediglich bei dem Pazifik-Bastard von DORN wurde bei der Hydrolyse neben viel Delphinidin ein schwacher Fleck gefunden, der dem Pelargonidin entsprach. Daraufhin wurde über dem Hauptfleck des Delphinidin-Anthozyans noch ein zweiter schwacher Fleck gefunden, der anfangs übersehen wurde. Dieser könnte mit einem Rf-Wert von 0,23 etwa dem Hauptanthozyan von „Pink Sensation“ entsprechen. Doch vermag sich die geringe Menge dieses Farbstoffes nicht gegen den Delphinidinfarbstoff durchzusetzen. Auch ein violetter Zufalls-Sämling von *Delphinium* „Pink Sensation“, im Wuchscharakter diesem sehr ähnlich, ergab nur Delphinidin. So dürfte also bei allen Bastarden mit einem Delphinidin-Elter diesem der Vorrang zukommen. Von den Eltern der vorgenannten Bastarde ist zunächst *Delphinium triste* interessant, weil dieser neben Delphinidinfarbstoff in der gesamten Blütenhülle noch einen braunen Farbstoff, das Anthophaein [MÖBIUS (22)] besitzt, das bei

anderen *Delphinium*-Arten nur in den Kronblättern, und sonst noch in dem braunen Saftmal von *Vicia faba* und *Coelogyne*-Arten zu finden ist. Dieser Farbstoff ist nur wasserlöslich, nicht in Säure, wird durch Alkali nicht zerstört und bleibt bei den Chromatogrammen am Start liegen. Er ist auch bei dem Bastard *triste* × *nudicaule* nachweisbar. Auch hier entsteht jedoch Delphinidin und kein Pelargonidin.

Die Blütenblätter der weißen Pazifik-Rasse färben sich beim Übergießen mit HCl intensiv rosa, ein Zeichen, daß hier ebenfalls reichlich Anthozyan vorliegt, nur anscheinend als Leukobase, die erst durch Säure ins Anthozyan verwandelt wird (19). Der Weg, der hier zur Erzielung einer weißen Rasse führte, ging also hier nicht über die fehlende Reduktion der vorhandenen Flavone zu Anthozyan, sondern über die Ausbildung des Farbstoffes als Leukobase. Diese Pflanzen zeigen übrigens auch oft beim Verblühen eine blaue Farbe. Sie zeigten im Chromatogramm die gleichen Diglykoside wie die blauen Sorten. Eine Kreuzung mit *nudicaule* wird also vermutlich zu den gleichen Ergebnissen führen und hinsichtlich der Erzielung roter Gartenrittersporne nicht erfolgreicher sein.

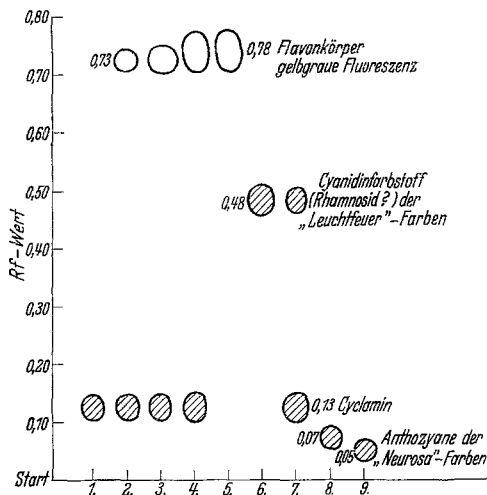


Abb. 7. Cyclamenfarbstoffe. 1. Rasse „Leuchtendrot“, Farbton 824 HCC; 2. Rasse „Rosa mit Auge“, Auge; 3. Rasse „Rosa mit Auge“, Blütenblattspreite; 4. Rasse „Hiederfarben“, ähnlich der Rasse „Cattleya“; 5. Weiße Form; 6. Rasse „Leuchtfleur“, Blütenblattspreite; 7. Rasse „Leuchtfleur“, Auge; 8. Rasse „Neulachsrosa“, Blütenblattspreite; 9. Rasse „Neulachsrosa“, Auge.

Bei einer Kreuzung der weißen Pazifik-Rasse mit *Delphinium chinense*, der etwas großblumiger ist als die *Delphinium-Belladonna*-Sorten, die m. E. aus älteren kleinblumigeren Sorten von *Delphinium cultorum* und *Delphinium grandiflorum* entstanden, wurde eine blaue und eine rosalia Form untersucht. Es wurden jedoch keine Unterschiede in den Farbstoffen zwischen blauen und lila Farben auf dem Chromatogramm festgestellt. Bei beiden wurde mit NH_3 -Dampf ein Flavon festgestellt, welches seine Anwesenheit nicht durch Fluoreszenz verriet.

Bei den einjährigen Ritterspornformen, die zum Teil von *Delphinium ajacis*, zum Teil von *Delphinium consolida* abzuleiten sind, wurden ebenfalls verschiedene Farben verglichen. Der hier vertretene reinrosa Farbton ist ebenfalls auf Pelargonidin zurückzuführen. Doch hat das aufgefundene Anthozyan einen noch niedrigeren Rf-Wert als das von *nudicaule*, es ergibt eine kleine Zunge bei etwa 0,08, die möglicherweise auch bei *nudicaule* zu finden ist, jedoch hier als Schwanzbildung des Hauptanthozyans gedeutet wurde. Die violette *consolida*-Form ergab ein Delphinidin-Anthozyan nahe des Startes von etwa 0,04, während die untersuchten hellblauen und modedfarbenen Pflanzen von *Delphinium ajacis* mit einem Rf-Wert von 0,13—0,15 wesentlich verschieden waren. Möglicherweise besteht also der Unterschied zwischen beiden Farbenrassen in der Glukosidstufe. Ein Unterschied zwischen Hellblau und Modefarben konnte dagegen nicht gefunden werden, obwohl dies wesentlich wäre, denn der allzu große Anteil in einer Mischung setzt den Wert dieser

Gartenpflanze wesentlich herab, da diese in Teppichbeeten zur Erzielung starker Farbeffekte verwendet wird.

Viola tricolor.

Untersucht wurden die Blüten von mehreren Farbenrassen, darunter vor allem die roten Farben der Rasse „Alpenglüh“ im Vergleich zu den blauen und violetten Farbrassen, sowie das schwarze Stiefmütterchen *Viola tricolor nigra*. Ferner konnte der Beweis erbracht werden, daß der schwarze Fleck der blauen Rasse „Märzzauber“ von dem gleichen Farbstoff herrührt wie der hellere Rand. In dieser Rasse kommen nebeneinander zwei Glukoside des Delphinidins vor, von denen das eine mit dem auffallend hohen Rf-Wert von 0,38—0,42 dem Rhamnoglukosid Violanin zuzuschreiben ist, das für *Viola tricolor* als Hauptanthozyan angegeben wird. Auch die Anthozyane der schwarzen Rasse sind nicht hiervon verschieden, lediglich ist die starke Konzentration des intensiv gefärbten Zellsaftes auffallend. Bemerkenswert ist es, daß auch hier das Grundgewebe kein Anthozyan führt, die intensive Farbgebung der Blüte also lediglich der Ausfärbung der Epidermis zuzuschreiben ist. Eine mikroskopische Untersuchung zeigte, daß die schwarze Farbe einem Struktureffekt zuzuschreiben ist. Die Epidermiszellen zeigen hier nicht die gewohnte kegelförmige Papillenform, sondern sind halbkugelig vorgewölbt. Nur an den Stellen, wo der Farbeindruck wieder dem Violett nahekommt, ist die Kegelform wieder anzutreffen.

Bei den roten und violetten Rassen nun kommen jedoch mehrere Anthozyane nebeneinander vor, wobei zunächst nicht klar war, um wieviel verschiedene es sich handelt, und ob es sich mitunter nur um Zungenbildung oder tatsächlich um verschiedene Anthozyane handelt. Die Hydrolysate wiesen zwei Aglukone, Delphinidin und Cyanidin, nebeneinander aus. Deshalb wurden die Extrakte zweidimensional chromatographiert. Hierbei ergaben sich für die violette Form sechs verschiedene Farbstoffe, wobei stets je zwei, vermutlich die gleiche Glukosidstufe der beiden Aglukone, dicht aufeinander folgten. Es ist also anzunehmen, daß hier Mono-, Di- und Rhamnoglukosid des Delphinidins und des Cyanidins in einer Blüte nebeneinander vorkommen. Bei der roten Rasse „Alpenglüh“ wurden vier Farbstoffe nebeneinander gefunden, wobei die Hauptmenge des die Farbe bestimmenden Anthozyans einem Cyanidinanteil zukommt. Durch Zusatz von etwas Äthanol zu der Butanol-2n-HCl-Ausschüttelung wurden die Rf-Werte höher, ohne daß die Reihenfolge geändert wurde. Die Farbstoffe konnten so auf den zweidimensionalen Chromatogrammen gut getrennt werden.

Für die Züchtung ergibt sich die Frage, ob es sich nicht lohnt, die Farbauslese von Chromatogrammen begleiten zu lassen. Vor allem für die Auslese der roten Formen kann dies von Interesse sein, wenn man auf diese Weise die Zurückdrängung der Delphinidin-Anteile verfolgen kann. Auch ist hierbei denkbar, daß das Auftreten von Pelargonidin-Mutanten erkannt werden kann, die immerhin möglich sein müßten, nachdem der Schritt zum Cyanidin bereits vollzogen ist, und der maximale Rotwert noch keineswegs erreicht ist. Infolge des Anteils an Delphinidin sind die roten Pflanzen stets deutlich gedeckt rot.

Cyclamen.

Bei den Cyclamenrassen wird auf Reinzüchtung der Farben besonderer Wert gelegt, weshalb hier die Abhängigkeit der Farben von den Farbstoffverhältnissen von besonderem Interesse ist. Da Carotinoide als farbenbestimmende Farbstoffe bei Cyclamen nicht vorkommen, kann die Frage mit der Kenntnis der chymochromen Farbstoffe gelöst werden.

Der Hauptfarbstoff der Cyclamenblüte, *Cyclamin* genannt, ist durch eine Untersuchung von KARRER und WIDMER (1927) bekannt geworden, die ihn aus dunkelroten Blüten von *Cyclamen persicum* isolierten und in seiner chemischen Konstitution aufklärten. Er ist danach ein Monoglukosid des Malvidins (Önidin). Nach den hier vorgenommenen papierchromatographischen Untersuchungen ist bei fast allen Haupt-Cyclamenrassen ein

Farbstoff stets zugegen, der bei der Hydrolyse im Vergleich zu Hydrolysaten aus Portugieser-Trauben Malvidin ergab, so daß nicht daran zu zweifeln ist, daß hier das von KARRER und WIDMER (10) gefundene Cyclamin vorliegt. Es erscheint auf dem Chromatogramm mit einem Rf-Wert von 0,13. Bei den Rassen „Dunkelrot“, 824 HCC und „Dunkelblutrot“ ist es der allein den Farbton bestimmende Farbstoff. Bei vielen Farbenrassen, so „Rosa mit Auge“ und „Cattleya“ wird der Farbstoff, wie die Chromatogramme ausweisen, durch einen chymochromen Begleitstoff zu einem blauerem Farbton abgewandelt. Bei den Rassen „Weiß mit Auge“, „Leuchtfleur“, „Dunkel-lachs“, „Hellachs“ ist sein Vorkommen auf das Auge beschränkt. So kommt Cyclamin bei fast allen Farbenrassen vor. Nur bei den sogenannten Neurosa-Farben wurde es nicht aufgefunden.

Bei den Lachsfarben findet sich ein weiterer Farbstoff, der über dem von Cyclamin ausgefärbten Auge die Spreite in einem gelbroten Farbton ausprägt, der bei der Rasse „Leuchtfleur“ den Farbton 820 HCC, Blutrot, erreicht. Auch zahlreiche Weißaufhellungen dieser Farbe verdanken ihm ihr Entstehen. Dieses Anthozyan erscheint in den Chromatogrammen mit einem Rf-Wert von 0,48. Es könnte demnach ein Rhamnosid sein. Erstaunlicherweise ergab die Hydrolyse das Aglukon Cyanidin. Es ist dies unter den hier untersuchten Pflanzen der einzige Fall, daß ein Cyanidin-Farbstoff einen solchen Rotwert erreicht, der sonst nur den Pelargonidin-Farbstoffen vorbehalten ist. Da die Möglichkeit bestand, daß eine Verwechslung mit Paeonidin vorlag, wurde diese Frage durch Übereinandertropfen mit dem Extrakt von *Paeonia*-Blüten geprüft. In diesen ist ebenfalls Cyanidin neben Paeonidin enthalten, jedoch kann dieses stets einwandfrei von jenem unterschieden werden, da es deutlich trennbar ist und stets vor Cyanidin liegt. Es kann also als sicher gelten, daß das „Leuchtfleur“-Anthozyan ein Cyanidin-farbstoff ist. Bei den Weißaufhellungen der lachsfarbenen Rassen kann der Farbstoff leicht erkannt werden, weil er oberhalb des Cyclamin-Auges eine hellrote Zone bildet, die allmählich zu einem blassen Rosaton in die Spreite verläuft.

Zwei weitere Anthozyane fanden sich bei den sogenannten „Neurosafarben“, und zwar haben hier augenscheinlich Auge und Spreite zwei verschiedene Farbstoffe, die sich nur unwesentlich in ihren sehr niedrigen Rf-Werten und an ihrer Fluoreszenzfarbe unterscheiden. Der Farbstoff der Spreite hat einen Rf-Wert von 0,07 und fluoresziert lachsrötlich. Der Farbstoff des Auges hat einen Rf-Wert von 0,05 und eine mehr blaurote Fluoreszenzfarbe. Beide sind infolge ihres niedrigen Rf-Wertes deutlich von Cyclamin zu unterscheiden. Ob sie jedoch voneinander wesentlich verschieden sind, d. h. ihr Rf-Wert und ihre Fluoreszenzfarbe sie sicher unterscheidet, bedarf einer genaueren Prüfung, da sie zu nahe am Start liegen bleiben. Es können die Unterschiede deshalb auch etwaigen Begleitstoffen zuzuschreiben sein. Jedoch ergaben beide bei der Hydrolyse ebenfalls Cyanidin. Es sind dies also außer „Reinweiß“ die einzigen Cyclamenrassen, die kein „Cyclaminauge“ besitzen. Ein wichtiger Farbton dieser Farbstoffe ist Krapprosa 823 HCC. Die Augen dieser Farben sind häufig lila gefärbt. Es wurden Farbtöne bis 32 HCC beobachtet, während die „Cyclaminaugen“ fast stets den Farbton 824 HCC haben und nur selten blauer ausfallen. Gelegentlich kommt bei diesen Farbenrassen auch das „Leuchtfleur“-Anthozyan in der Spreite vor.

Von Interesse für die Ausprägung der Farben sind die chymochromen Begleitstoffe. Hier findet sich vor allem bei „Reinweiß“ ein gelbgrau fluoreszierender Stoff mit einem Rf-Wert von 0,73–0,78. Er kann jedoch auch bereits in der gegenüber dem Cyclaminauge blauerem und helleren Spreite der Rasse „Rosa mit Auge“ nachgewiesen werden und nimmt anscheinend bei den „fliederfarbenen Rassen“ (28/29 HCC) an Menge zu. Möglicherweise verdankt auch die Rasse „Sylphide“ ihren hellila Farbton der Einwirkung chymochromer Begleitstoffe auf das Cyclamin. Zwar konnte diese Rasse nicht untersucht werden, jedoch beobachtete ich an Spritzflecken auf den Blüten bei dieser Farbe, daß diese regelrecht grün wurden, was auf Alkali-Einwirkung bei Flavon-Gegenwart hindeutet. Auf einer Tagung der Cyclamenzüchter in Ham-

burg machte mich Herr Dr. QUADT darauf aufmerksam, daß es zwei weiße Cyclamentypen gibt, solche, die rote, und solche, die gelbe Flecken bekommen. Möglicherweise unterscheiden sich diese beiden Typen in ihren chymochromen Begleitstoffen. Diese Frage konnte ebenfalls bisher nicht untersucht werden.

Die salzsauren Extrakte aus Cyclamenblüten fallen bereits dadurch auf, daß sie in dem Farbton gegen die Farbe der Blüte kaum verändert sind. Vor allem bei „Leuchtfleur“ 820 HCC und bei „Dunkelrot“ 824 HCC ist dies augenfällig. Es deutet daraufhin, daß der Zellsaft extrem sauer zu sein scheint. Nur bei den Neurosa-Farben ist dies anscheinend nicht der Fall, da diese beim Ausziehen mit Salzsäure deutlich ihre Farben verändern. Auch beim Herstellen von Anschauungsmaterial fiel dies auf. Hier wurden die Blüten zwischen Cellophan-Folien gepreßt. Beim Glätten dieser Präparate mit destilliertem Wasser veränderten sie während des Trocknens ihre Farbe. Wurde das Wasser dagegen etwas mit Salzsäure angesäuert, so ließen sich die Farben sehr schön reproduzieren.

Die Herstellung der Aglukone stieß anfangs auf Schwierigkeiten, obwohl sie bei allen andern untersuchten Pflanzen stets einwandfrei gelang. Bei den Cyclamen wurde jedoch der Farbstoff beim Aufkochen mit konzentrierter Salzsäure bis zu völliger Farblosigkeit zerstört. Da die Möglichkeit bestand, daß diese Zerstörung auf einen Begleitstoff zurückzuführen war, wurde versucht, diesen abzutrennen. Dies gelang mit einem Durchlauf durch eine Säule aus Cellulose-Pulver. Darnach ließen sich von allen Extrakten ohne weiteres Hydrolysate herstellen. Im Sommer 1953 ließ sich diese Erscheinung gegen die im Winter gemachten Versuche nicht reproduzieren, ohne daß eine Erklärung dafür gegeben werden kann.

Weitere Cyclaminfarbstoffe wurden bisher nicht untersucht. Zur Untersuchung müßten vor allem noch die Rasse „Sylphide“ sowie die beiden vorher genannten weißblühenden Typen herangezogen werden. Weiterhin muß bedacht werden, daß die Züchtung bei dieser winterblühenden Pflanze ganz einseitig auf rote Farben ausgeht. Es sind also bei den gegebenen Farbstoffverhältnissen sicherlich Farbtöne in leuchtendem Violett denkbar, die aber, wo sie beobachtet wurden, nicht ausgelesen wurden. Die zur Zeit im Handel befindlichen Rassen lassen sich nach diesen Untersuchungen ganz einfach mit der Farbenscheibe unterscheiden. Hierbei ist besonders der Umstand eine Erleichterung, daß inzwischen eine Farbenscheibe zur Festlegung der Hauptcyclamenfarben herausgekommen ist. Auf dieser sind alle Hauptfarben wiedergegeben. Es fehlen jedoch die Neurosafarben.

Es ergeben sich darnach für die Farben der Cyclamen folgende Feststellungen:

1. Es kann für die Hauptfarben eine Cyclamin-Reihe unterschieden werden, der die Sorten „Weiß mit Auge“, „Rosa mit Auge“, „Reinrosa“, „Leuchtdrot“, „Safranin mit Silbersaum“, „Dunkelrot“ und „Dunkelblutrot“ angehören. Auch die sogenannten „fliederfarbenen“ Pflanzen, die hier untersucht wurden, etwa der Rasse „Cattleya“ nahestehend (Farbton 28/29 HCC), gehören hierher. Bei ihnen ist deutlich der blauende Einfluß des bei den weißen Pflanzen allein aufgefundenen Flavons nachzuweisen. Bei „Rosa mit Auge“ kann man am Auge stets den reinen Cyclamin-Ton in saurer Lösung beobachten, während der hellere, blauere Farbton vermutlich ebenfalls dem Einfluß des hier nachzuweisenden Flavons zuzuschreiben sein dürfte. Bei „Safranin mit Silbersaum“ läßt sich beobachten, daß hier zwei Farbtöne nebeneinander vorkommen, von denen der eine deutlich blauer ist. Die beiden Typen dieser Rasse wurden hier nicht untersucht, doch besteht die Möglichkeit, daß dieser Unterschied ebenfalls auf Flavonwirkung beruht.

2. Die Lachsfarben, die ich im folgenden als Leuchtfleur-Reihe zusammenfassen möchte, verdanken ihre Farbe vorwiegend einem neuen charakteristischen Anthozyan, das, wie schon mitgeteilt, möglicherweise ein Rhamnoglukosid des Cyanidins sein könnte. Bei allen Rassen ist das deutlich blauer gefärbte Cyclamin-Auge nachzuweisen, auch bei der am intensivsten ausgefärbten Rasse „Leuchtfleur“, obwohl es hier am wenigsten auffällt. Der Farbton des Cyclamins wie des Leuchtfleur-Anthozyans

ist bei allen Pflanzen aus dem Farbton der beiden Anthozyane in saurer Lösung gefunden worden.

In die Leuchtfeuer-Reihe gehören demnach die Rassen „Rosa von Wandsbek“ (Rose von Aalsmeer“, „Silberlachs“), „Hellachs“, „Dunkellachs“ und „Leuchtfeuer“. Diese sind von den Cyclaminfarben stets deutlich zu unterscheiden und nur durch verblühende, verblauende Blüten farblich mit ihnen verbunden. Bei der Auslese nach Farben wären sie natürlich von diesen sorgfältig zu trennen, da sie farbstoffmäßig und demnach sicherlich auch genetisch von ihnen wesentlich verschieden sind. Dies ist besonders bei den blassen Farben der Rasse „Rosa von Wandsbek“ von Bedeutung. Hier kommen Pflanzen vor, die durch deutlich blauerer Hellrosa sich als zur Cyclaminreihe gehörig ausweisen. Mögen diese auch vielleicht hinsichtlich des Verkaufswertes zunächst nicht wesentlich verschieden erscheinen, so dürften sie doch die Reinheit des Saatgutes in Frage stellen. Auffallend ist es, daß sich in einer Leuchtfeuer-Aussaart regelmäßig einige Pflanzen der Farbe „Dunkelblutrot“ finden. Diese entstehen möglicherweise durch Rückmutation zur Cyclaminreihe. Fast alle Cyclamen neigen während des Verblühens stark zum Verblauen, wobei die Blüten der Rasse „Leuchtfeuer“ sich im Farbton etwa der Rasse „Dunkelrot“ nähern. Ob dies durch eine nachträgliche Entstehung von Cyclamin auch in der Spreite des Blütenblattes zustandekommt, wurde nicht untersucht. Für den Farbvergleich wurden stets frisch erblühte Blumen verwendet.

Von den „Silberlachs“-Tönen gibt MAATSCH (23) an, daß diese stets spalten. Unter einem kleinen Bestand der Rasse „Silberlachs“ wurden einmal vier deutlich verschiedene Farbstufen beobachtet. Da Cyclamen zu meist tetraploid sind (24, 25, 26, 27), könnte dies auf einen Dosage-Effekt eines bewirkenden Gens zurückgeführt werden. Da jedoch eine quantitative Untersuchung noch nicht unternommen werden konnte, konnte diese Frage nicht geprüft werden. Jedoch erschien es, als ob distinkte Farbstufen beständen, die nur dadurch durch Übergänge verbunden waren, daß die Zone des Cyanidin-Farbstoffs über dem Cyclamin-Auge mehr oder weniger stark gegen die Spreite verlaufen war. Jedoch war der Bestand zahlenmäßig zu gering, als daß diese Beobachtung als sichergestellt angesehen werden könnte. Später standen mir nur noch ausgesuchte Samenträger-Bestände zur Ansicht zur Verfügung, die natürlich für die Prüfung dieser Frage ungeeignet waren.

3. Von den vorgenannten beiden Reihen weichen eine Reihe von Farben ab, die im folgenden wegen der gemeinsamen Farbstoffverhältnisse als Neurosa-Reihe zusammengefaßt seien, weil diese vor allem bei der Rasse „Neulachsrosa“ angetroffen wurden. Bei ihnen finden sich zwei weitere Cyanidin-Glykoside von niedrigem Rf-Wert. Der wichtigste Farbton ist hier die Farbe „Krapprosa“ 23 HCC, der etwas leuchtender und reiner ist als die dem gleichen Helligkeitswert entsprechende Cyclaminfarbe „Rosa mit Auge“. Die Farbe des Auges wechselt und erreicht im Blauwert bisweilen einen Farbton bis 32 HCC. Auch bei den „Silberblattsorten“ sind diese Farben anzutreffen. Sie sind, vor allem an dem meist etwas lila gefärbten Auge meist deutlich von den Cyclaminfarben zu unterscheiden. Die Blütenblätter dieser Farben verfärben sich stark nach Rot beim Ausziehen mit Säuren.

Nach diesen Befunden erscheint es so, daß mit der einmaligen Kenntnis der Farbstoffverhältnisse den Ansprüchen der Reinzüchtung Genüge getan werden kann, da die entsprechenden Farben stets leicht mit Hilfe der Farbentafel erkannt werden können. Es sind für die Praxis also keine papierchromatographischen Untersuchungen notwendig, zumal ein Interesse an der Herauszüchtung neuer Farben wegen der winterlichen Überschätzung der roten Farbe nicht zu bestehen scheint. Es wäre also nur für eine eingehendere genetische Untersuchung eine genauere Prüfung der Verhältnisse notwendig.

Die Untersuchungen über die Cyclamenfarbstoffe wurden auf einer Sitzung der Deutschen Cyclamenzüchter in Hamburg am 17. i. 1953 vorgetragen. Für die Diskussion

der Ergebnisse möchte ich Herrn Prof. Dr. KAPPERT, Herrn Prof. MAATSCH und Herrn Dr. QUADT meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Iris.

Bei den Schwertlilien werden die Farben durch plasmochrome und chymochrome Farbstoffe bestimmt. Vor allem haben die plasmochromen Farbstoffe hier zuerst zur Ausbildung sehr reiner Farben geführt. Die erste großblumige tetraploide reingelbe Sorte war „Golden Hind“ (Chadburn 1930). Bei allen früheren großblumigen gelben Sorten wirkte das Anthozyan als störende Deckung der Farbe in Form von Adern oder Spritzern. Später folgten als völlig neue Farben Hellzitronengelb mit der Sorte „Elsa Sass“ (H. SASS 1939) und die muschelrosa Farben (seashell pink), die ebenfalls auf ein Carotinoid (STURTEVANT (28)) zurückzuführen sind. Während die Zitronengelben in der Blütenregion meist völlig anthozyanfrei sind, wirkt etwaiges Anthozyan bei den plastidenpigmentierten Rosafarben ebenso trübend wie bei den Gelben. Im günstigen Zusammenwirken chymochromer und plasmochromer Pigmente entstehen sehr warme Brauntöne, wobei als bekannteste Sorten „Casa Morena“ (DE FOREST 1943) und „Bryce Canyon“ (KLEINSORGE 1944) genannt seien. Ein reines Rot ist dagegen bisher nicht bekannt geworden. Schon der bekannte englische Iriszüchter BLISS berichtet im Jahre 1922 (29) über vergebliche Versuche, rote Farbtöne zu erreichen. Aus seiner Mitteilung geht hervor, daß ihm die Arbeiten von WHELDALE-ONSLAW (30, 31) bekannt gewesen sind. Allerdings werden seine Vorstellungen noch von der WILLSTÄTTERschen Auffassung beherrscht, daß vor allem die Indikator-eigenschaft der Anthozyane die Variationsbreite zwischen den roten und blauen Blütenfarben bedinge. Eine Untersuchung des *Iris*-Sortimentes hinsichtlich der Farbstoffe ist bisher nicht bekannt geworden.

Nun stand hier das Geisenheimer *Iris*-Sortiment mit etwa 400 Sorten zur Verfügung. Von diesen wurden die wichtigsten Farbtypen ausgewählt und auf chymochrome Farbstoffe papierchromatographisch untersucht. Dabei wurden ausschließlich Delphinidin-Glykoside gefunden. Bei allen anthozyanfarbten Sorten fand sich mit einer Ausnahme als Hauptanthozyan Violanin, stets gemeinsam mit einem rhamnosefreien Anthozyan. Ein Unterschied dieser Anthozyane bei *Iris* und *Viola* konnte nicht festgestellt werden. Da das zweite Anthozyan auch stets durch Zerfall von Violanin entsteht, kann die Frage nicht geklärt werden, ob die beiden stets gemeinsam vorkommenden Anthozyane bei verschiedenen Sorten in bestimmten charakteristischen Mengenverhältnissen vorkommen, wie von mir anfangs vermutet wurde (14). Bei der Sorte „Floridor“ (САУЕУХ 1929) wurden nun zwei andere Glukosidstufen gefunden, die sich von den beiden vorigen anscheinend nur im Gehalt, nicht in der Art der Zuckerkomponenten unterscheiden. Es ist dies bisher die einzige *Iris*-Sorte, die sich in den Glukosidstufen unterscheidet. Ein zweites Aglukon wurde bisher nicht gefunden.

Die Farbstoff-Verhältnisse sind also bei *Viola tricolor* und *Iris* in gewissem Sinne ähnlich. Doch kommen bei *Iris* noch keine Cyanidinfarbstoffe in der Blüte vor. Dieser Schritt ist bei *Viola tricolor* dagegen bereits vollzogen, und der Unterschied zwischen den Sortimenten der beiden Blütenpflanzen ist vor allem in den Rottönen zu erwarten. Nun sind allerdings auch in den Cyanidin-führenden Blüten von *Viola* noch Delphinidinfarbstoffe zugegen. Infolgedessen ist der Unterschied im Rotwert der Brauntöne beider Pflanzen nicht so augenfällig, wie es zu erwarten wäre. Doch sind die Rottöne von *Viola* bereits mit größerer Berechtigung als rot anzusprechen als die von *Iris*. Bei *Iris* sind also zu unterscheiden die mehr braunen Rottöne, bei denen Plastidenpigmente an der Ausprägung der Farbe beteiligt sind, und reine Anthozyanfarben, die dann vielfach als rot bezeichnet werden, obwohl diese Farbenbezeichnung keine Berechtigung hat, denn sie liegen alle im rotvioioletten Bereich. Über den Farbton 32HCC hinaus nach der roten Seite ist also vorläufig keine nur durch Anthozyan gefärbte *Iris* zu erwarten, wofern nicht eine neue Farbstoffmutante aufgefunden wird. Im Zusammenhang mit Carotinoiden werden Töne erreicht, die

etwa 827 HCC nahekommen, aber stets gedeckt, also braun sind.

Als ersten Schritt auf dem Wege zu Gartensorten bezeichnet SCOTT-MONCRIEFF (16) stets den Verlust der Copigmentierung. Dieser ist es auch bei *Iris*, der die Entstehung der sogenannten roten, nur anthozyanpigmentierten Sorten bedingt. So ist schon bei der Bereitung der Extrakte augenfällig, daß sich diese von blauen und roten Sorten in der Farbe deutlich unterscheiden. So ist etwa der Extrakt der blauen Sorte „Blue Rhythm“ (WHITING 1945) deutlich blauer als der der roten Sorte „Display“ (GRANT 1942). Da die Anthozyane beider Sorten die gleichen sind, pH-Unterschiede im salzsauren Extrakt nicht wirksam sein können, so war zu erwarten, daß der Unterschied der Farbe des Extraktes der Copigmentierung zuzuschreiben ist. Beim Hinzufügen des Extraktes einer weißen Sorte nun erhielt der Extrakt der roten Sorte den gleichen Farbton wie der der blauen. Auf diese Weise konnte auch in vitro gezeigt werden, daß die Copigmentierung bei *Iris* einen entscheidenden Einfluß auf die Ausweitung des Farbenspiels zwischen Blau und Rot ausübt.

Aus diesem Grunde ist das Studium der Copigmente bei *Iris* zur Zeit von größerer Bedeutung als das der Anthozyane selbst. Die auffallendsten Copigmente bei den *Iris* sind zwei lachsfarbenen bis orangefarbenen fluoreszierende Flavonkörper, die auf den Chromatogrammen in der Nähe des Violanins und des „Floridor“-Rhamnosids mit einem Schwerpunkt von 0,38 resp. 0,58 aufgefunden wurden. Ihre Lage läßt vermuten, daß es diesen Anthozyanen in der Konstitution entsprechende Flavonkörper sind. Diese beiden Flavonkörper wurden nun bei fast allen untersuchten Sorten der Sektion *Pogoniris* aufgefunden. Es scheint aber, daß sie mengenmäßig bei den blauen Sorten stärker vertreten sind als bei den roten. Dagegen wurden bei blauen Sorten noch eine Anzahl anderer fluoreszierender Pigmente gefunden, die den roten Sorten fehlen. So liegt bei der blauen Sorte „Clari-dad“ vor dem orangefarbenen fluoreszierenden 0,58-Flavon noch ein hellgrün fluoreszierender Stoff und dahinter ein weiterer mit bläulicher Fluoreszenz. Diese beiden Stoffe lassen sich bei vielen Sorten beobachten, deren Farbe am weitesten in den blauen Bereich vorstößt. Zwei weitere blau fluoreszierende Flecke bei etwa 0,78 und 0,94 sind bei fast allen Sorten der Sektion *Pogoniris* zu beobachten. Der Einfluß dieser Copigmente soll einem eingehenderen Studium unterzogen werden.

Bemerkenswert ist es jedoch, daß die beiden den blauen Sorten zukommenden Copigmente sich auch bei den dominant-weißen Sorten „Anne-Marie Berthier“ und „Gudrun“ finden, während sie bei der rezessiv-weißen „Matterhorn“ zu fehlen scheinen. Möglicherweise ist der Unterschied nur ein quantitativer, was auf den bisherigen Chromatogrammen nicht erfaßt werden konnte. Die ersten Studien zu dieser Frage wurden auf dem Papier 2043 b gemacht, auf welchem die Fluoreszenzfarben nicht scharf getrennt wurden und dementsprechend deutlich unterschieden werden konnten.

Weiterhin wurden aus der Sektion *Apogon* die beiden *Iris-sibirica*-Gartensorten „Mountain Lake“ und „Cäsar's Brother“ untersucht. Bei diesen wurden die gleichen Anthozyane wie bei den *Pogoniris* beobachtet, dagegen fehlten die Copigmente. Statt dieser fanden sich zwei grügraue Flecken bei etwa 0,63 und 0,72. Auch einigen Arten der Sektionen *Oncocyclus* und *Regelia* scheinen die Copigmente zu fehlen.

Zusammengefaßt kann gesagt werden, daß bei *Iris* außer Delphinidinfarbstoffen bisher keine Abkömmlinge eines anderen Anthozyanidins gefunden werden konnten, so daß eine wirklich rote Gartensorte vorläufig nicht erwartet werden kann. Lediglich eine Sorte mit einem deutlichen Unterschied in der Glukosidstufe wurde gefunden. So sind die Unterschiede im Farbenbereich der Delphinidinfarbstoffe zu suchen und durch die Copigmentierung bedingt. Die Buntheit im Sortiment wird durch das Zusammenwirken mit den Karotinoiden bedingt.

Es wurden bisher 71 Sorten aus den Sektionen *Pogoniris*, *Oncocyclus*, *Regelia* und deren Bastarden, sowie zwei Arten aus der Sektion *Apogon* untersucht. Die genauere

Durcharbeitung des Sortiments soll einer späteren Darstellung vorbehalten bleiben.

Auswertung und Diskussion der Ergebnisse.

Der Farbenbereich der Anthozyane.

Für die praktische Züchtung von Farbenrassen innerhalb der Sortimente unserer Gartenblumen interessieren vor allem die Fragen nach der Variation zwischen Blau und Rot. Der Bereich der Anthozyanfarben erstreckt sich nach den hier untersuchten Pflanzen, verglichen mit der Horticultural Colour Chart, zwischen den Farbtönen von etwa 17 HCC („Mandarinrot“) und 42 HCC („Enzianblau“). Nur wenige Pflanzen dringen in Weißaufhellungen noch weiter in den blauen Bereich vor. Bei etwa 16/17 HCC dürften sich Anthozyan- und Carotinfarben überschneiden. Während hier bei *Lychnis chalcidonica* ein Pelargonidin-Glykosid gefunden wurde, ist die Farbe von *Geum Borisii* eine reine Carotinoidfarbe, bei der kein Anthozyan nachgewiesen werden konnte. Bei einigen Gartensorten von *Geum* fand sich Anthozyan neben Carotinoiden. Auch die Farbe von *Lilium chalcidonicum*, dessen Farbton der gleiche ist wie der von *Lychnis chalcidonica*, dürfte bereits eine Carotinoidfarbe sein wie die der Feuerlilien.

Pelargonidinfarben reichen demnach von etwa 16/17 HCC bis 20/21 HCC, in blässeren Rosatönen werden Farben bis 027/2 HCC erreicht. Nur in einem Falle, bei *Cyclamen persicum* „Leuchtfleur“ konnte bei dem Farbton 820/21 HCC bereits ein Cyanidinfarbstoff festgestellt werden. Der Bereich der Cyanidinfarben geht etwa bis 32 HCC, während die violetten Töne in vielen Fällen bereits den Delphinidinfarbstoffen zukommen. Das Nebeneinander zweier oder mehrerer Anthozyanidine bedingt viele Überschneidungen.

Für die Variation innerhalb dieses Bereiches ergeben sich im einzelnen nach den Literaturangaben die folgenden Möglichkeiten:

1. Unterschiede im Aglukon. Diese bedingen die größten Farbenunterschiede und sind demnach für die Variationsbreite der Farbe einer Gartenpflanze entscheidend. Die Aglukonstufe kann nach den geschilderten Methoden ohne weiteres stets leicht unterschieden werden.

2. Unterschiede in der Glykosidstufe. Sind die Aglukone bekannt, so können auch verschiedene Glykoside leicht am Rf-Wert unterschieden werden, wobei vielleicht zu beachten ist, daß diese in vielen Fällen sehr nahe beieinander liegen können, so daß mindestens zur Information Durchlaufenlassen der Chromatogramme oder zweidimensionales Arbeiten zu empfehlen ist.

3. Änderung der pH-Stufe des Zellsaftes. Diese kann naturgemäß im Chromatogramm nicht gefunden werden. Jedoch können mangelnde Unterschiede an Inhaltsstoffen im Papierchromatogramm darauf hinweisen, daß in dieser Richtung der Unterschied zu suchen ist, wenn zwei sich im Rotwert unterscheidende Farbenrassen vorliegen.

4. Anwesenheit blauer Begleitstoffe. Dieser Unterschied kann im Chromatogramm sehr leicht erkannt werden und ist bei den Gartenrassen verbreitet, da er bei fast allen hier untersuchten Sortimentspflanzen gefunden wurde.

5. Blaue Wirkung dreiwertiger Ionen. Diese ist nach CHENERY (32) nur zu erwarten, wenn Cyanidin oder Delphinidin vorliegt. Cyanidin gibt einen violetten, Delphinidin einen blauen Aluminium-Lack. Eisen, das im Reagenzglas in gleicher Weise reagiert, soll nach CHENERY in der Blüte ohne Bedeutung sein. Versuche mit hier künstlich hergestelltem Aluminium-Lack mit Violanin zeigten, daß dieser Lack bei Chromatographie mit 2n-HCl gelöst wird und die Anthozyanflecke unverändert an der gleichen Stelle auftreten, wo sie bei den unbehandelten Extrakten zu erwarten sind. Das Aluminium konnte nahe dem Start mit Morinlösung nachgewiesen werden. Der Lack wurde also in saurer Lösung wieder gespalten.

6. Kolloidaler Zustand des Anthozyans. Dieser wird von vielen Untersuchern als Ursache gerade der extremen Blaus angesehen. Er kann natürlich ebenfalls nicht papierchromatographisch unterschieden werden, weshalb er vor allem bei blauen Delphinidin- und Cyanidin-Blüten in Betracht gezogen werden muß, falls man bei fehlenden Unterschieden in der stofflichen Zusammensetzung auf pH-Unterschiede des Plasmas schließen würde.

7. Verschiedene Schichtdicke oder Konzentration der Anthozyanlösung. Es wurde hier beobachtet, daß Anthozyanlösungen bei geringerer Schichtdicke oder Konzentration nicht nur heller, sondern auch blauer wirken. Dies mag bei verschiedenen Farbenrassen von Bedeutung sein, ohne daß dies natürlich papierchromatographisch nachgewiesen werden kann. Es ist jedoch auffallend, daß es unter den vielen hier bekannten *neglecta*-Sorten der *Iris* nicht eine einzige gibt, bei der die helleren inneren Perigonblätter nicht auch blauer wären, während bei den meisten Sorten, bei denen innere und äußere Perigonblätter den gleichen Farbton aufweisen, diese auch von gleicher Farbstärke sind. Weiterhin fand sich Pelargonidin bei einer blaßrosa Cinerarie vom Farbton 027/2 HCC, wo es nicht mehr erwartet wurde, weil die Grenze der Pelargonidinfarben im allgemeinen bei 24 HCC liegt. Die Farbe 827 HCC ist bei Cinerarien schon eine Cyanidinfarbe. Dies weist jedoch darauf hin, daß man auf der Suche nach Pelargonidin-führenden Mutanten bereits blauere Farbtöne berücksichtigen kann, wenn man diese bei blassen Rosafarben vermutet.

Es können also die wichtigsten Farbenrassen zwischen Blau und Rot in den meisten Fällen papierchromatographisch unterschieden werden, zumindest sind Hinweise auf die Ursache des Farbunterschiedes zu erhalten. Von Bedeutung ist züchterisch weiterhin die Erscheinung des Verblauens während der Anthese, ein Vorgang, der hier zunächst noch nicht untersucht wurde, vermutlich aber in einigen Fällen papierchromatographisch erfaßt werden kann. Er mag zunächst auf einer Verschiebung des pH des Zellsaftes in den weniger sauren Bereich beruhen, oder aber auf einer Adsorption des Farbstoffs an kolloidale alkalische Zellsaftbestandteile während des Zelltodes. Jedoch ist in vielen Fällen, am deutlichsten etwa bei den dunkelroten Gartenrassen von *Primula obconica*, eine Zunahme des Anthozyanfarbstoffes zu beobachten. Es ist also nicht ausgeschlossen, daß bei einzelnen Pflanzen das Verblauen auch auf Zunahme blauender Begleitstoffe zurückzuführen ist.

Möglichkeiten für genetische Voraussagen.

Für diese Untersuchungen stand leider kein genetisch untersuchtes und wohlbekanntes Material zur Verfügung. So können hier nur Hinweise gegeben werden. Doch wird es interessant sein, etwa ein Material wie die Farben der von WIT (2) untersuchten Chinaastern mit dieser Methode zu bearbeiten. WIT hat nicht weniger als 36 verschiedene genetisch untersuchte Farbtöne der Chinaaster beschrieben. Bei seinen Farbstoffuntersuchungen bediente er sich des Schnelltests nach ROBINSON und ROBINSON (17). Es ist aber nach vorstehenden Untersuchungen nunmehr ganz sicher, daß sehr viele Fragen mit der papierchromatographischen Methode sehr viel genauer beantwortet werden können.

Durch die Arbeit von WIT und die verschiedenen von SCOTT-MONCRIEFF zusammengefaßten Arbeiten ergeben sich jedoch einige Gesichtspunkte, die vielleicht auf Grund der Farbstoffuntersuchungen bereits Voraussagen ermöglichen, wie sich eine bestimmte Farbe erblich verhalten wird, oder ob bestimmte gewünschte Farbtöne zu erreichen sind. Hier sind vor allem zwei Fragen von Bedeutung, und zwar die nach den Dominanzverhältnissen und nach der Mindestanzahl der möglichen Farbenrassen. Zunächst könnte es möglich sein, aus der Kenntnis der Farbstoffe allein bereits Voraussagen über die Dominanz einer Farbe zu machen. Es scheint eine Regel zu sein, daß der Schritt zur rezessiven Mutante auch einen Schritt zum einfacher gebauten Aglukon bedeutet. SCOTT-MONCRIEFF führt die folgenden Beispiele an: Malvidin-Pelargonidin bei *Primula sinensis* und *Pelargonium zonale*, Paeonidin-Pelargonidin bei *Pharbitis nil*, Cyanidin-Pelargonidin bei *Papaver rhoeas*, *Tropaeolum majus*, *Antirrhinum majus* und *Cheiranthus Cheiri*. WIT findet drei Allele R , r_1 und r , die zum Delphinidin, resp. Cyanidin oder Pelargonidin führen. Hiernach würde es so erscheinen, als ob Cyanidin, resp. Pelargonidin, die zu den häufig beliebteren roten Farben führen, auch bei anderen Pflanzen in den meisten Fällen auch ohne Kenntnis der genetischen Verhältnisse als rezessive Farbstoffe angesehen werden können. Das würde im vorliegenden Falle bedeuten, daß bei Cyclamen und Cinerarien, bei denen meines Wissens keine genetischen Studien über die Vererbung dieser Farben vorliegen, von vornherein als rezessive Rassen die Leuchtfarben bzw. die Pelargonidinfarben angesehen werden können. Weiterhin wird man bei der Suche nach Pelargonidinfarben zunächst erwarten dürfen, daß diese als rezessive auftreten werden. Doch ist hier zu beachten, daß LAWRENCE und SCOTT-MONCRIEFF (33) bei der polyploiden Dahlie einen bemerkenswerten Fall fanden, wo eine Häufung bestimmter, die Pigmentbildung kontrollierender Faktoren zur Bildung von Pelargonidin führt. Man wird also Pelargonidin nicht stets als rezessive Mutante erwarten dürfen. Da durch eine Veränderung im Aglukon jedoch die Variationsbreite der Blütenfarben am stärksten beeinflußt wird, so dürfte dies für die Praxis auch die wichtigste Frage sein.

Weiterhin wurde von allen Untersuchern gefunden, daß Unterschiede in der Glukosidstufe gelegentlich durch Gene kontrolliert werden, wobei im allgemeinen das 3,5-Diglukosid dominant über das 3-Monoglukosid ist.

Als einen der ersten Schritte auf dem Wege zu farbig verschiedenen Gartentypen führt SCOTT-MONCRIEFF den meist rezessiven Verlust der Copigmentation an, der die Farben gleichfalls nach Rot verschiebt, wenn auch nicht so entscheidend wie eine Änderung des Aglukons.

Nimmt man an, daß jede der drei genannten biochemischen Änderungen zumindest von je einem Allelenpaar kontrolliert wird, so können diese drei, wofern sie bei einer Pflanze vorkommen, zu zwei hoch drei, also sechzehn verschiedenen Farbtönen führen, die durch Kombination hergestellt werden können, wofern sie nicht bekannt sind. Wird man also bei einer Pflanze papierchromatographisch mit Sicherheit Unterschiede im Aglukon, in der Glukosidstufe und in der Copigmentierung auffinden, so wird man dementsprechend Voraussagen über die Anzahl der mindestmöglichen Farbvarianten machen können, die hier zu erwarten sind.

In vielen Fällen wurde ein Gen gefunden, das die generelle Pigmentbildung bestimmt, nur gelegentlich finden sich Gene für spezifische Pigmentbildung, die von diesem also nicht kontrolliert wird. Die Abwesenheit des Gens für allgemeine Pigmentbildung führt also zu weißen Blüten, und diese sind also in den meisten Fällen rezessiv. Es gibt jedoch dominante Gene, die die Pigmentbildung unterdrücken, und es ist denkbar, daß bei diesen Formen verschiedenartige chymochrome Begleitstoffe entstehen, die auf dem Papierchromatogramm erkannt werden können. Dies würde bedeuten, daß man papierchromatographisch verschiedene weiße Typen unterscheiden könnte, wodurch etwa bei *Iris* für bestimmte Klone eine genetische Untersuchung, die mehrere Jahre in Anspruch nehmen würde, durch eine papierchromatographische von wenigen Stunden ersetzt werden könnte. Aus den Gründen, die bei der Besprechung der Befunde in der Gattung *Iris* angeführt wurden, ist diese Unterscheidung noch nicht als sicher anzusehen, doch ist zumindest wahrscheinlich, daß eine solche möglich ist. Diese müßte auch bei anderen Pflanzen die Erkennung solcher Gene für Pigmentunterdrückung ermöglichen.

In vielen Fällen liegt ein Anthozyan in weißen Blüten als Leukobase vor. Die Extrakte färben sich dann beim Behandeln mit Säure schon in der Kälte rot. Dieser Fall wurde hier für die weiße Pazifikrasse von *Delphinium cultorum* festgestellt.

Die Untersuchungen über Leukofarbstoffe wurden von ROBINSON und ROBINSON (17) begonnen und neuerdings von BATE-SMITH (19) wieder aufgenommen. Dieser gibt eine neue Reaktion auf Catechine und Leuko-Anthozyane an, die mit Vanillin in konzentrierter HCl eine rote Färbung geben. Flavone, Flavonole und Flavanone geben die Reaktion nicht. Er fand jedoch die Reaktion überwiegend auf weiße Blüten von Holzpflanzen beschränkt, während er sie bei krautigen Pflanzen mit Ausnahme der Malvaceen nicht erhielt.

Für die biochemisch-genetische Verschiedenheit weißer Blüten ergeben sich bisher die folgenden Möglichkeiten:

1. Es können keine Anthozyane und keinerlei Begleitstoffe nachgewiesen werden.

2. Es können Vorstufen von Anthozyanen der verschiedensten Art vorhanden sein, die jedoch nicht zum

Anthozyan verknüpft werden. Diese Möglichkeit deutet die Erkennung der einzelnen Biosyntheseschritte der Anthozyane an, die aber hier zur Zeit noch nicht verfolgt werden kann.

3. Es kommen in der Blüte an Stelle der Anthozyane farblose Begleitstoffe, im besonderen Flavonkörper vor. Dieser Fall wurde hier bei den meisten weißen Gartensorten anthozyangefärbter Blumen gefunden. Dieser Unterschied kann auf dem Papierchromatogramm an der Gelbfärbung über NH_3 -Dampf meistens auch unter der Quarzlampe leicht erkannt werden.

4. Es kommen verschiedene weiße Rassen vor, die sich hinsichtlich der Begleitstoffe und des erblichen Verhaltens unterscheiden und papierchromatographisch unterschieden werden können.

5. Es kommen in weißen Blüten wohl Anthozyane vor, die jedoch in reduzierter Form vorliegen, und erst bei Extraktion und papierchromatographischer Untersuchung erkennbar werden.

Bemerkenswert ist der von WIR (2) bei der China-Aster gefundene genetische Zusammenhang zwischen schieferfarbenen Delphinidin-Typen und reinfarbigem Pelargonidin-Farben. Da bei Cinerarien hier zwischen den gleichen Farbtönen ein Zusammenhang über die Copigmentierung gefunden worden ist, so ist diese vielleicht in gleicher Weise genetisch bedingt. Da die Schieferfarben im allgemeinen unerwünscht sind, so wäre dieser Zusammenhang bei der Farbenzüchtung zu beachten. Delphinidin-Farben und Pelargonidin-Farben dürften dann also auch aus diesem Grunde nicht gemeinsam abblühen.

Zusammenfassung.

1. An verschiedenen Sortimentpflanzen wie Cinerarie, *Delphinium*, *Viola*, *Iris*, *Cyclamen* und anderen Gartenpflanzen wurde das Zustandekommen bestimmter Farbvarietäten festgelegt. Die Farben wurden mit der Horticultural Colour Chart durch Anthozyane und chymochrome Begleitstoffe papierchromatographisch zu erfassen versucht.

2. Mit dieser Methode konnten der Einfluß der Anthozyanidine sowie Unterschiede in der Glukosidstufe und der Copigmentierung erkannt werden.

3. Der Farbenbereich der Anthozyanfarben reicht demnach von etwa 17 HCC bis etwa 41 HCC. Bei etwa 17 HCC ist die Überschneidung des Farbenbereichs der Pelargonidinfarben und der Carotinoidfarben anzusetzen. Von etwa 17 HCC bis 21 HCC liegt der Bereich der reinen Pelargonidinfarben, von 20 HCC bis 30 HCC der Bereich der Cyanidinfarben und bis etwa 41 HCC der Bereich der Delphinidinfarben. Darüber hinaus sind nur noch wenige Varietäten, vor allem Delphinidinfarben zu beobachten. Überschneidungen kommen durch ein Nebeneinander mehrerer Anthozyane, vor allem mehrerer Aglukone in der gleichen Blüte vor. Zur Festlegung des Bereiches der methoxylhaltigen Anthozyanidine lag nicht ausreichend Material vor.

4. Als papierchromatographisch nicht erkennbare Ursachen müssen beachtet werden: Änderung des pH des Zellsaftes, blauende Wirkung dreiwertiger Ionen, kolloidaler Zustand des Anthozyans und Änderung der Schichtdicke oder der Konzentration der Farbstofflösung.

5. Verschiedenheiten in der Pigmentierung resp. Copigmentierung konnten auch bei weißen Blüten

erkannt werden, so daß vermutet werden kann, daß sich auch genetisch verschiedene weiße Farbenrassen papierchromatographisch untersuchen lassen.

6. Es kann vermutet werden, daß sich mit dieser Methodik Voraussagen machen lassen über die Erzielung bestimmter erwünschter Blütenfarben, über die Mindestanzahl möglicher Farbenrassen und über Dominanzverhältnisse.

7. Züchterische Fortschritte in Richtung auf bestimmte gewünschte Farbtöne erscheinen vor allem möglich durch die Erkennung mehrerer Anthozyanine nebeneinander, da die Einfachheit der Methodik Reihenuntersuchungen für eine Selektion zur Anreicherung eines bestimmten Pigmentes gestattet.

Literatur.

1. Horticultural Colour Chart, I und II, Copyright R. F. WILSON 1938 u. 1941. — 2. WIT, F.: Contributions to the genetics of the China Aster. *Genetica* 19, 1 (1937). — 3. BAUMANN'S Neue Farbtonkarte, Verl. P. Baumann, Aue i. Sa. — 4. Farbtonkarte des Cyclamenstandardsortiments, herausgeg. v. der Versuchs- u. Forschungsanstalt in Pillnitz i. Zusammenarbeit mit der VdgB, Untergruppe Cyclamen, bearb. v. Gartenbautechniker PAPSDORF. — 5. KARRER, P.: Anthozyane, in KLEIN, G.: Hb. d. Pflanzenanalyse, III; II, 2, S. 941 (1932). — 6. BATE-SMITH, E. C. and WESTALL, R. G.: Chromatographic Behaviour and Chemical Structure. I. Some naturally occurring phenolic substances. *Biochim. et Biophys. Acta* 4, 427 (1950). — 7. CRAMER, F.: Papierchromatographie. 2. Aufl. Verl. Chemie, Weinheim 1953. — 8. HADDERS, M. und C. WEHMER: Systematische Verbreitung und Vorkommen der Anthozyane, in KLEIN, G.: Hb. d. Pflanzenanalyse, III; II, 2, S. 985 (1932). — 9. BLANK, F.: The anthocyanin pigments of plants. *Bot. Review* 13, 241 (1947). — 10. KARRER, P. und F. M. STRONG: Reindarstellung von Anthozyanen durch chromatographische Analyse. *Helv. Chim. Acta* 10, 25 (1927). — 11. KARRER, P. und R. WIDMER: Über die Konstitution einiger Anthozyanine. *Helv. Chim. Acta* 10, 5 (1927). — 12. GEISSMAN, T. A. and HINREINER, E.: Theories of the Biogenesis of Flavonoid Compounds. Parts I a. II. *Bot. Review* 18, 77 und 165 (1952). — 13. KARRER, P. und G. DE MEURON: Über

Violanin. *Helv. Chim. Acta* 16, 292 (1933). — 14. WERCKMEISTER, P.: Papierchromatographische Studien zur Blütenfarbzüchtung. *Naturwiss.* 39, 328 (1952). — 15. RUF, W.: Über die Anwendung der Papierchromatographie zum Nachweis von Fremdfarbstoffen im Wein. *Zschr. Lebensmittelunters. u. Forschg.* 94, 190 (1952). — 16. SCOTT-MONCRIEFF, R.: The Genetics and Biochemistry of Flower Colour Variation. *Erg. Enzymforschg.* 8, 277 (1939). — 17. ROBINSON, G. M. and R. ROBINSON: A survey of Anthocyanins I u. II, *Biochem. J.* 25, 1687 (1931) u. 26, 1647 (1932). — 18. GAGE, TH., DOUGLAS, C.E. and S. H. WENDER: Identification of Flavonoid Compounds by Filter Paper Chromatography. *Analytical Chemistry* 23, 1582 (1951). — 19. BATE-SMITH, E. C.: Colour Reactions of Flowers attributed to (a) Flavanols and (b) Carotenoid Oxides. *J. Exp. Bot.* 4, 1 (1953). — 20. STURTEVANT, A. H.: Three Kinds of White Bearded Irises. *Bull. Amer. Iris Soc.* 123, 99 (1951). — 21. PROPACH, H.: Einige Chromosomenzahlen von Delphinien und ihre Auswertung für die Entstehung der Gartenformen. *Gartenbauwiss.* 14, 642 (1940). — 22. MÖBIUS, M.: Die Farbstoffe der Pflanzen, aus LINSBAUER, K.: Hb. d. Pflanzenanatomie, I. Abt., I. Tl., Bd. III (1927). — 23. MAATSCH, R.: Der Stand der deutschen Cyclamenzüchtung. *Gartenwelt* 51, 219 (1951). — 24. GLASAU, F.: Monographie der Gattung *Cyclamen* auf morphologisch-cytologischer Grundlage. *Planta* 30, 507 (1939). — 25. DE HAAN, I. and J. DOORENBOS: The Cytology of the Genus *Cyclamen*. *Meded. Landbouwhoges. Wageningen* 51, 151 (1951). — 26. KAPPERT, H.: Die Bedeutung der Polyploidie in der Cyclamenzüchtung. *Züchter* 13, 106 (1941). — 27. QUADT, F.: Die genetisch-züchterischen Schwierigkeiten der Cyclamenzüchtung und die Möglichkeiten ihrer Überwindung. *Gartenwelt* 51, 227 (1951). — 28. STURTEVANT, A. H.: Notes on the Tangerine Beard. *Bull. Amer. Iris Soc.* 123, 101 (1951). — 29. BLISS, A. J.: Some Results in Hybridization of Bearded *Iris*. *Actes et Comptes Rendus Ière Conf. Intern. des Iris*, Ed. Soc. Nat. Horticult. de France, S. 74, Paris 1923. — 30. WHELDAL-ONSLow, M.: The Anthocyanin Pigments of Plants. 2nd., Cambridge 1925, zit. nach (16). — 31. CHENERY, E. M.: Aluminium in Plants and its Relation to Plant Pigments. *Ann. of Bot.*, N.S. 12, 121 (1948). — 32. LAWRENCE, W. C. J. and R. SCOTT-MONCRIEFF: The Genetics and Chemistry of Flower Colour in *Dahlia*: A New Theory of Specific Pigmentation. *J. Genet.* 30, 156 (1935).

KURZE MITTEILUNG.

Konferenz über Klimaeignung bei Getreide.

(Braunschweig-Gliesmarode, am 22. 4. 1954.)

Die „Stichting voor Coordinatie van Cultuur en Onderzoek van Broodgraan“ (COCOBRO-Wageningen) ist eine „Objektassociation“, an der Vertreter der Landwirtschaft und Züchtung, des Getreidehandels, der Müller und Bäcker, der landwirtschaftlichen Institute und des Landwirtschaftsministeriums der Niederlande beteiligt sind. Sie bemüht sich u. a. in einer besonderen Arbeitsgruppe, die Klimaresistenz bei Getreide zu studieren und zu ihrer Lösung beizutragen. Aus einer losen, freundschaftlichen Zusammenarbeit der COCOBRO mit verschiedenen Instituten und Züchtungsanstalten Westeuropas entstand das Bedürfnis, einen erweiterten Kreis für diese Probleme zu interessieren und den Versuch zu wagen, eine europäische Arbeitsgruppe zu formieren.

Den von der COCOBRO ergangenen Einladungen waren etwa 30 Wissenschaftler und Züchter aus den Niederlanden, Belgien, der Schweiz, Österreich, Dänemark und den beiden Teilen Deutschlands gefolgt. Vertreter aus Frankreich, England, Italien und Schweden, die ebenfalls eingeladen waren, konnten aus äußeren Gründen nicht teilnehmen.

Die Konferenz war durch einen umfangreichen Bericht vorbereitet, der mit den Einladungen versandt worden war.

I. Der Saatzeitenversuch.

II. Das Problem der Kälteresistenz bei Getreide.

III. Kältebedürfnis und Entwicklung in verschiedenen Klimaten.

IV. Einfluß der Tageslänge bei Weizen und Gerste.

V. Der Verlauf der Vernalisation von 6 Winterweizen-sorten bei Novembersaat im Felde.

Die Eröffnung und Leitung der Konferenz war Herrn Prof. A. DUMON-Löwen/Belgien übertragen. Nach der Begrüßung durch den Präsidenten der Biologischen Bundesanstalt, Herrn Prof. Dr. H. RICHTER, der den Tagungsraum im neuen Institut für Virusforschung zur Verfügung gestellt und die Mühen der örtlichen Vorbereitung übernommen hatte, erläuterte Herr Dr. Ir. W. FEEKES als Vorsitzender der Arbeitsgruppe Klimaresistenz der COCOBRO den Bericht.

Die Höhe, Sicherheit und Struktur des Ertrages von Getreidesorten ist in verschiedenen Klimagebieten in Abhängigkeit vom Saattermin bestimmt durch die Befriedigung des Kältebedürfnisses, durch die Reaktion auf die Lichtperiodizität, durch die Kälteresistenz, die Entwicklungsfreudigkeit und -schnelligkeit und die Widerstandsfähigkeit gegen Dürre, Hitze, Feuchtigkeit und gegen alle pilzlichen und tierischen Schädlinge, deren Auftreten ebenfalls witterungsabhängig ist. Die damit umrissenen biologischen Probleme sind so umfangreich und in ihren Wechselbeziehungen schwierig zu überschauen, daß zu ihrer Lösung eine Zusammenarbeit auf breiter Basis als zwingend erscheint. Eine Zusammenarbeit auf diesem Gebiet sollte sich nicht auf den gelegentlichen Austausch von Forschungsergebnissen beschränken. Sie fordert eine