

Blattfarbstoffuntersuchungen an einer grün- und gelbblättrigen Tabak -Varietät

Autor(en): **Heierle, Ernst**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse**

Band (Jahr): **44 (1935)**

PDF erstellt am: **23.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-29536>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Blattfarbstoffuntersuchungen an einer grün- und gelbblättrigen Tabak-Varietät.

Von *Ernst Heierle*, dipl. Ing. agr., Gais (Appenzell).

Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Eidg. Technischen Hochschule
in Zürich.

Laboratorium für tropische und subtropische Nutzpflanzen.

Mit 51 Textabbildungen.

Eingegangen am 15. Januar 1935.

Inhaltsverzeichnis.

| | Seite |
|---|-------|
| Einleitung | 18 |
| I. Methodischer Teil | 20 |
| A. Grundlagen der quantitativen Spektrophotometrie | 20 |
| B. Durchführung der spektrophotometrischen Messungen | 22 |
| 1. Prinzip der Methode von V. Henri | 22 |
| 2. Apparatur | 27 |
| C. Spektrophotometrische Untersuchungen der vier Blattfarbstoffe: Chlorophyll <i>a</i> , Chlorophyll <i>b</i> , Carotin und Xanthophyll | 28 |
| 1. Herstellung der Lösungen | 28 |
| 2. Reinigung der Lösungsmittel | 29 |
| 3. Extinktionskurven von Chlorophyll <i>a</i> , Chlorophyll <i>b</i> , Carotin und Xanthophyll | 29 |
| 4. Lichtextinktion der vier Blattfarbstoffe im Gemisch | 41 |
| 5. Gültigkeit des Gesetzes von Lambert und Beer | 43 |
| D. Trennung und quantitative Bestimmung der Komponenten im Blatt- farbstoffgemisch | 44 |
| 1. Kombinierte spektrophotometrisch-chemische Methode | 45 |
| 2. Spektrophotometrische Bestimmung der Komponenten: Chloro- phyll <i>a</i> , Chlorophyll <i>b</i> und (Carotin + Xanthophyll) im Blattfarb- stoffgemisch | 48 |
| E. Anwendung der beschriebenen Methoden zu Blattfarbstoffbestimmung in Tabakblättern | 50 |
| II. Experimenteller Teil | 51 |
| A. Blattfarbstoffzusammensetzung bei gelb- und grünblättrigem Tabak im Verlaufe der Vegetationsperiode | 51 |
| 1. Untersuchungsmaterial | 51 |
| <i>a</i>) Saatgut | 51 |
| <i>b</i>) Aufzucht der Pflanzen | 52 |
| <i>c</i>) Sortenreinheit | 54 |
| 2. Blattfarbstoffanalysen in erntereifen Tabakblättern | 55 |
| <i>a</i>) Einfluss der Pflanzengrösse | 55 |
| <i>b</i>) Ursachen der hellgelben Farbe bei erntereifen Blättern von W. Burley | 58 |
| 3. Veränderung der Blattfarbstoffzusammensetzung und Wachstum der Pflanzen im Verlaufe der Vegetationsperiode | 60 |

| | Seite |
|---|-------|
| a) Versuchsanordnung | 60 |
| b) Verlauf des Quotienten $\frac{\text{Carotin}}{\text{Xanthophyll}}$ während der Vegetations- periode | 61 |
| c) Veränderungen der Blattfarbstoffzusammensetzung | 62 |
| d) Wachstum und Vergilbung der untersuchten Pflanzen | 66 |
| 4. Gefrierpunktsbestimmungen | 68 |
| B. Einfluss steigender N-Gaben auf die Blattfarbstoffzusammensetzung und den Nikotingehalt im Zeitpunkt der Tabakernte | 71 |
| 1. Versuchsanordnung | 71 |
| a) Allgemeines | 71 |
| b) Apparatur | 72 |
| 2. Aufzucht und Wachstum der Pflanzen | 74 |
| 3. Blattfarbstoffzusammensetzung von erntereifen bei verschiedenen N-Gaben gewachsenen Tabakblättern | 77 |
| 4. Nikotinbestimmungen | 82 |
| C. Zusammenfassung | 83 |

Einleitung.

Bei Anbauversuchen mit den in der Schweiz kultivierten Tabakrassen wurde unsere Aufmerksamkeit auf White Burley gelenkt, der sich durch seine eigenartige Verschiebung der Blattfarbe im Verlaufe der Vegetationsperiode auszeichnete.

Nach Comes¹ ist White Burley eine Mutation des Red Burley, der seinerseits eine Kreuzung von *Nicotiana tabacum* L. var. *lancifolia* × *Nic. tab. L. var. brasiliensis* × *Nic. tab. L. var. habanensis* darstellt.

Die Pflanze wurde zum erstenmal zufällig in der Gegend von Brown (Ohio), auf dem Gute von Georges Webb bei Higginsport, entdeckt. Georges Webb hatte im Jahre 1864 den gewöhnlichen Red Burley gesät. Die Pflanzen wuchsen mit der gewohnten Üppigkeit. Nach dem Auspflanzen blieben einige bleichsüchtige Pflänzchen im Saatbeet zurück, denen weiter keine Beachtung geschenkt wurde. Erst als Webb verschiedene der ausgepflanzten Setzlinge eingingen, sah er sich genötigt, auch die zurückgebliebenen, schwächlichen Pflänzchen zur vervollständigung seiner Anpflanzung heranzuziehen. Während der ersten zwei bis drei Wochen wuchsen diese Pflanzen sehr langsam; kaum hatten sie jedoch recht Wurzel gefasst, so entwickelten sie sich mit grosser Schnelligkeit. Ihre weissen Stengel und Nerven beibehaltend, blühten sie vor den andern normal grünen Pflanzen. Diese neue gelbblättrige Tabaksorte erreichte eine Höhe von 1,80 Meter und wies Blätter mit hellgelber Unter- und goldgelber Oberseite auf. Das feine Gewebe der Blätter veranlasste Webb, sie an der Ausstellung in Cincinnati erstmals zu zeigen.

¹ O. Comes, *Delle razze dei tabacchi*, Napoli 1905.

Im folgenden Jahr konnte er bereits vier Hektaren mit den neuen Pflanzen bebauen und erzielte eine Ernte von 11,000 Pfund Tabakblättern, denen folgende Qualitätsmerkmale zugesprochen wurden: geringer Nikotingehalt, grosse Absorptionsfähigkeit, feine, goldgelbe Blätter. Als man auf dem Markte die Qualität dieses Tabaks erkannt hatte, wurde seine Kultur in Süd-Ohio und Nord-Kentucky sofort ausgedehnt.

Dank ihrer hellen Blattfarbe erfreute sich diese Sorte auch in der Schweiz während der letzten Jahre einer ständigen Ausdehnung.

Bezugnehmend auf die eigenartigen Vergilbungserscheinungen der Blätter, versuchten wir folgende drei Fragen zu beantworten:

1. Welches sind die charakteristischen Unterschiede in der Zusammensetzung der Chloroplastenfarbstoffe zwischen dem gelbblättrigen White Burley und einer normal grünblättrigen Tabaksorte im Zeitpunkt der Tabakernte?
2. Wie verhalten sich die Blätter in verschiedener Höhe am Stengel einer normal grünblättrigen Pflanze und solche der gelbblättrigen Rasse in bezug auf die Zusammensetzung ihres Blattfarbstoffes im Verlaufe einer Vegetationsperiode?
3. Wie weit lässt sich die Farbe bei grün- und gelbblättrigen Pflanzen durch äussere Faktoren beeinflussen?

Vor die Aufgabe gestellt, vergleichende Blattfarbstoffanalysen normalgrüner, sowie extrem chlorophyllarmer Blätter durchzuführen, wurden wir uns bald bewusst, dass die bis jetzt in der Botanik angewandten Methoden von Willstätter und Stoll¹ für unsere Untersuchungen folgende drei Nachteile aufweisen:

1. Je mehr der Farbstoffgehalt abnimmt, desto ungenauer werden die Resultate.
2. Die Analysen erfordern zu grosse Mengen Ausgangsmaterial.
3. Die lange Dauer einer Analyse verunmöglicht die Ausführung mehrerer Blattanalysen je Tag.

Durch die Problemstellung sind wir genötigt worden, eine Methode zur Trennung der Blattfarbstoffe auszuarbeiten, die sich bei geringem Materialverbrauch mit der gewünschten Schnelligkeit durchführen lässt und dem Umstande Rechnung trägt, dass unsere Blattauszüge oft einen sehr geringen Farbstoffgehalt aufwiesen. Für Analysen bei geringem Farbstoffgehalt machen Willstätter und Stoll den Vorschlag, an Stelle der colorimetrischen Messungen spektrographische Messungen vorzunehmen und verweisen auf eine Arbeit von Weigert,² die uns als Grundlage der folgenden methodischen Untersuchungen diene.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wird eine spektrographische Methode zur quantitativen Bestimmung der Blattfarbstoffe ausgearbeitet. Im zweiten Teil findet die Methode ihre praktische Nutzenanwendung bei den zur Beantwortung unserer Fragestellung ausgeführten Versuchen.

¹ R. Willstätter und A. Stoll, Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure, Berlin 1918, S. 11.

² F. Weigert, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft, 1916, S. 1496.

I. Methodischer Teil.

A. Grundlagen der quantitativen Spektrophotometrie.

Um das Verständnis der spektrophotometrischen Untersuchungen, die bis jetzt in der Biologie noch ungenügend Eingang gefunden haben, zu erleichtern, seien im folgenden Abschnitt die notwendigen Grundlagen kurz zusammengefasst.

Gehen die Strahlen einer weissen Lichtquelle durch eine farbige Lösung hindurch, so absorbiert letztere einen ihrer farbigen Eigenschaften entsprechenden Teil der Lichtstrahlen. Wird das weisse Licht, dessen Strahlen die Flüssigkeit passiert haben, mittelst eines Spektroskopes beobachtet, so erkennt man, dass das im Spektroskop erzeugte Spektrum durch dunklere Zwischenräume unterbrochen wird, die dadurch entstanden sind, dass gewisse Strahlen von der Flüssigkeit absorbiert wurden. Ein solches Spektrum wird Absorptionsspektrum genannt. Die selektive Absorption einzelner Spektralgebiete im sichtbaren Teil des Spektrums bedingt (falls die Lichtstreuung vernachlässigt werden kann) die Farbe der durchstrahlten Lösung.

Meistens ist man imstande, den Eindruck eines solchen Absorptionsspektrums durch eine Kurve darzustellen, in der man über einer Wellenlängenskala als Abszisse die mehr oder weniger starke Absorption schätzungsweise in der Ordinatenhöhe ausdrückt (Fig. 1).

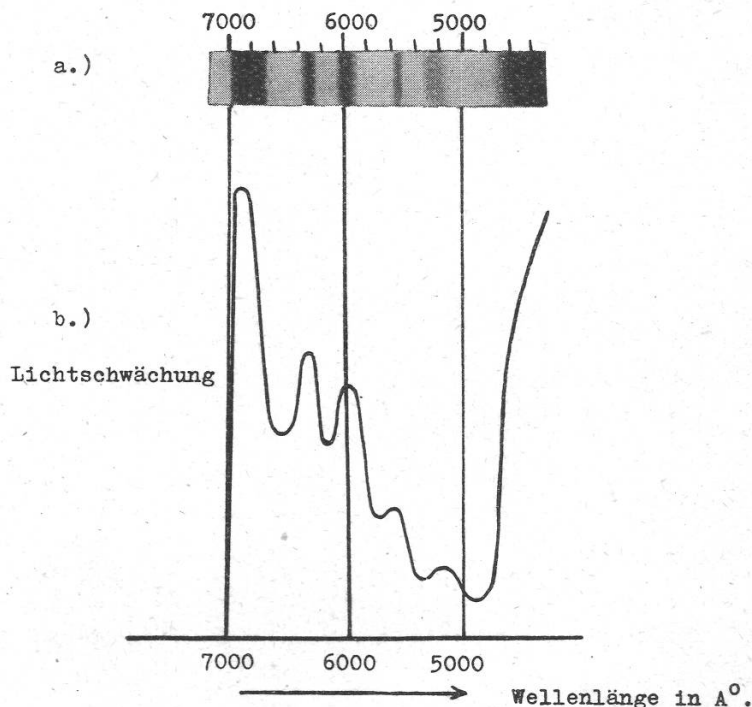


Fig. 1.

Diese Darstellungsweise ist in vielen Fällen geeignet, eine Substanz qualitativ zu charakterisieren. Sobald es sich aber um Substanzen mit ähnlichen Absorptionsspektren handelt, ist man gezwungen,

dieselben in quantitativer Weise zu beschreiben. Zu diesem Zweck müssen spektrophotometrische Methoden angewandt werden.

Die Grundlage der gesamten Spektrophotometrie bilden folgende Gesetze :

$$(1) \quad \varepsilon = \frac{1}{cd} \log \frac{I_0}{I}$$

c = Konzentration Mol/Liter,

d = Schichtdicke in cm,

I_0 = Lichtintensität nach dem Durchgang des Lichtes durch die Schichtdicke d des Lösungsmittels,

I = Lichtintensität nach dem Durchgang des Lichtes durch die Schichtdicke d der Lösung.

Der sog. molare Extinktionskoeffizient ε ist demnach gleich dem Logarithmus des Verhältnisses $\frac{I_0}{I}$, für den Fall, dass die Schichtdicke gleich 1 cm und die Konzentration gleich 1 Mol/Liter beträgt.

Die Voraussetzungen dieser Beziehung sind in dem Lambert'schen und dem Beer'schen Gesetz enthalten.¹ Das Lambert'sche Gesetz besagt, dass die einzelnen Schichtelemente einer homogenen Substanz die Lichtintensität um den gleichen Bruchteil schwächen. Nach dem Beer'schen Gesetz ändert sich die Lichtabsorption einer Lösung nicht, falls man unter Konstanthaltung des Produktes aus der Konzentration c und der Schichtdicke d der Lösung diese zwei Grössen variiert.

Bei gegebener Wellenlänge λ ist ε für jede Substanz eine charakteristische Grösse. In Abhängigkeit von λ verändert sich im allgemeinen der Wert von ε . Diese Abhängigkeit wird durch die Extinktionskurve $\varepsilon(\lambda)$ wiedergegeben.

Kennt man die Extinktionskurve eines Stoffes, dann kann auf spektrophotometrischem Wege seine Konzentration in Lösungen unbekanntes Gehaltes bestimmt werden, da nach (1)

$$(2) \quad c = \frac{\log \frac{I_0}{I}}{d \varepsilon}.$$

Sind in einem Gemisch, wie im Falle der Blattauszüge, mehrere Stoffe an der Absorption beteiligt, so addieren sich (falls keine gegenseitige Beeinflussung stattfindet) ihre Beiträge zur Gesamttextinktion E des Gemisches.

Jede der n -Komponenten des Gemisches liefert einen Beitrag $\log \frac{i_0}{i} = \varepsilon_n c_n d$ zur Lichtschwächung. ε_n ist der Extinktionskoeffizient und c_n die mol. Konzentration der Komponente n des Gemisches. Die Schichtdicke d ist natürlich für alle Komponenten gleich.

¹ Vgl. Weigert, F., Optische Methoden der Chemie, Leipzig, 1927. S. 178.

Die gesamte Lichtschwächung des Gemisches beträgt demnach :

$$\sum \varepsilon_n c_n d = (\varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2 + \dots) d.$$

Auf die Schichtdicke $d = 1$ cm bezogen, erhält man für die Gesamttextinktion des Gemisches :

$$(3) \quad E = \log \frac{I_0}{I} = \sum \varepsilon_n c_n = \varepsilon_1 c_1 + \varepsilon_2 c_2 + \dots$$

Da E in analoger Weise wie ε von der Wellenlänge abhängt, bezeichnen wir die Extinktionskurve des Gemisches mit $E(\lambda)$.

Die Berechnung der einzelnen Konzentrationen c_n mit Hilfe der Gleichung 3 sei am Beispiel der Lösung zweier Stoffe dargestellt:

$$\text{Wellenlänge } \lambda' \dots \dots E' = \frac{1}{d'} \log \frac{I'_0}{I'} = \varepsilon'_1 c_1 + \varepsilon'_2 c_2.$$

$$\text{Wellenlänge } \lambda'' \dots \dots E'' = \frac{1}{d''} \log \frac{I''_0}{I''} = \varepsilon''_1 c_1 + \varepsilon''_2 c_2.$$

Die Auflösung dieser zwei Gleichungen nach c_1 und c_2 ergibt:

$$(4) \quad c_1 = \frac{1}{\frac{\varepsilon'_1 \varepsilon''_2}{\varepsilon'_2} - \varepsilon''_1} \left[\frac{\varepsilon''_2 \frac{1}{d'} \log \frac{I'_0}{I'}}{\varepsilon'_2} - \frac{1}{d''} \log \frac{I''_0}{I''} \right]$$

$$(5) \quad c_2 = \frac{1}{\frac{\varepsilon'_2 \varepsilon''_1}{\varepsilon'_1} - \varepsilon''_2} \left[\frac{\varepsilon'_1 \frac{1}{d'} \log \frac{I'_0}{I'}}{\varepsilon'_1} - \frac{1}{d''} \log \frac{I''_0}{I''} \right]$$

Auf Grund der Gleichungen (4) und (5) können die Konzentrationen c_1 und c_2 der zwei Komponenten des Gemisches berechnet werden, falls man

1. die mol. Extinktion der einzelnen Komponenten bei zwei Wellenlängen λ' und λ'' kennt, und falls man

2. die Lichtschwächung $\frac{I_0}{I}$ des Gemisches an diesen zwei Stellen

des Spektrums, sowie die dazugehörigen Schichtdicken d des Gemisches gemessen hat.

Zur spektrophotometrischen Analyse der Farbstoffe der Tabakblätter bestimmten wir entsprechend diesen Forderungen die Extinktionskurven der Blattfarbstoffe Chlorophyll a, Chlorophyll b, Carotin und Xanthophyll, sowie die $E(\lambda)$ -Kurven einer grossen Anzahl von Blattauszügen, deren Zusammensetzung zur Beantwortung der eingangs gestellten Fragen (s. S. 19) bestimmt werden musste.

B. Durchführung der spektrophotometrischen Messungen.

1. Prinzip der Methode von V. Henri.

Die Bestimmung der Extinktionskurven der einzelnen Blattfarbstoffe, sowie der $E(\lambda)$ -Kurven der Blattauszüge erfolgte nach der spek-

trophotometrischen Methode von V. H e n r i.¹ Wir gingen dabei folgendermassen vor :

Die zu untersuchende Lösung wurde bei einer bestimmten Schichtdicke, z. B. 1 cm, und 60 Sekunden Expositionszeit spektrographisch aufgenommen. Unmittelbar unter diesem Spektrum nahmen wir das Spektrum des Lösungsmittels in der gleichen Schichtdicke und 10 Sekunden Expositionszeit auf. Schliesslich wurde darunter das Lösungsspektrum nochmals bei 1 cm Schichtdicke, jedoch 40 Sekunden Expositionszeit, aufgenommen.

Es ist ohne weiteres einzusehen, dass die photographische Aufnahme des Lösungsmittelspektrums in Spektralbereichen, in welchen das Lösungsspektrum starke Banden aufweist, dunkler als das letztere Spektrum sein wird, trotz der viel kürzeren Expositionszeit. An Stellen schwacher Absorption wird dagegen das Lösungsspektrum infolge der vier- bzw. sechsmal grösseren Expositionszeit dunkler als das Spektrum des Lösungsmittels ausfallen. Bei bestimmten Wellenlängen zwischen diesen Spektralbereichen muss daher die Schwärzung des mittleren und unteren bzw. mittleren und oberen Spektrums übereinstimmen. Man bezeichnet solche Stellen als Punkte gleicher Schwärzung.

Aus der Gleichheit der Schwärzung kann man nach Schwarzschild² schliessen, dass zwischen der Lichtintensität I_0 und der Expositionszeit t_0 (10 Sekunden) des Lösungsmittelspektrums und den entsprechenden zwei Grössen I und t (40 bzw. 60 Sekunden) des Lösungsspektrums folgende Beziehung gilt :

$$(6) \quad \frac{I_0}{I} = \left(\frac{t}{t_0}\right)^p = \left(\frac{60}{10}\right)^p \text{ bzw. } \left(\frac{40}{10}\right)^p.$$

Der Exponent p hängt von der Plattensorte und in gewissem Masse auch von der Wellenlänge und der Intensität des Lichtes ab. Sein Wert liegt bei den meisten käuflichen Platten zwischen 0,8—1,0. Wir benutzen für das gesamte Spektrum den Wert 1, da die von uns benutzte Konzentrationsmessung vom Wert dieser Grösse nicht abhängt.

An Stelle der verhältnismässig schwierigen Messung des Intensitätsverhältnisses $\frac{I_0}{I}$ bestimmt man somit nach V. Henri das Verhältnis der Expositionszeiten $\frac{t}{t_0}$.

In Gruppen von drei Spektren, die (bei jeweils gleicher Schichtdicke) aus zwei Lösungsspektren mit 60 bzw. 40 Sekunden und einem Lösungsmittelspektrum mit 10 Sekunden Expositionszeit bestehen, wird die untersuchte Lösung bei einer abgestuften Reihe von Schichtdicken

¹ Henri V., Methode der quantitativen Messung der Absorption im Ultravioletten. Physik. Z. 14, 1913, S. 515.

² Weigert, F., l. c. S. 79.

aufgenommen. Die Punkte gleicher Schwärzung, die man auf diese Weise erhält, erstrecken sich über grössere Bereiche der Extinktionskurve.

Ausser der Schichtdicke muss man, um die gesamte Extinktionskurve im sichtbaren Spektrum und näheren Ultraviolett zu erhalten, die Konzentration der zu untersuchenden Lösung variieren, da die Schichtdickenveränderungen an enge Grenzen gebunden sind.

Als Beispiel bringen wir auf Fig. 2 die Wiedergabe einer Henri-Aufnahme. Man bemerkt darauf acht Gruppen von kontinuierlichen Spektren, die jeweils durch das Linienspektrum des Eisenbogens getrennt sind. In jeder der acht Gruppen entsprechen die zwei äusseren Spektren dem Blattauszug und das innere Spektrum dem verwendeten Lösungsmittel. Die Wellenlängen der auf der Figur markierten Punkte gleicher Schwärzung werden durch Bezug auf das Eisenspektrum ermittelt. Die Schichtdicke ist auf dieser Aufnahme zwischen 1,0 und 2,3 cm variiert worden. Die Konzentration betrug $\frac{1}{10}$ des unverdünnten Blattauszuges.

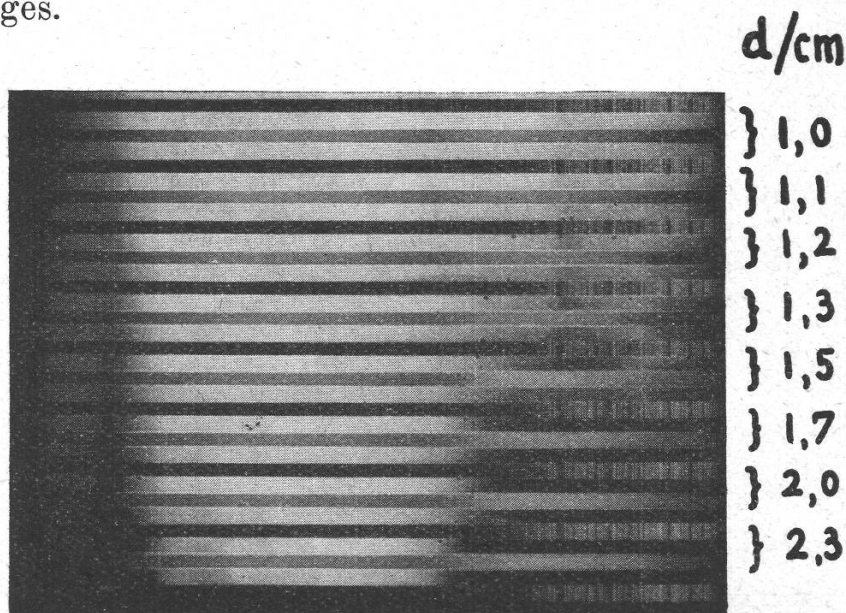


Fig. 2.
Henri-Aufnahme, Blattauszug.

Auf Grund der Gleichungen (1) und (6) berechnet man aus den Henri-Aufnahmen die Extinktion nach folgender Formel :

$$(7) \quad \varepsilon(\lambda) = \frac{p}{cd} \log \frac{t}{t_0}.$$

Die zur Extinktionsmessung nach dieser Methode erforderlichen Bestimmungsgrössen sind demnach : die Wellenlänge der Punkte gleicher Schwärzung, Schichtdicke und Konzentration der Lösung, sowie schliesslich das Verhältnis der Expositionszeiten des Lösungs- und des Lösungsmittelspektrums.

Für Lösungen, die mehrere absorbierende Stoffe enthalten, gilt entsprechenderweise die Formel

$$(8) \quad E(\lambda) = \frac{p}{d} \log \frac{t}{t_0}$$

Den Formeln 4 und 5 (S. 22) entsprechen daher die Beziehungen :

$$(4a) \quad c_1 = \frac{1}{\frac{\varepsilon'_1 \varepsilon''_2}{\varepsilon'_2} - \varepsilon''_1} \left[\frac{\varepsilon''_2 \frac{p}{d'} \log \frac{t'}{t'_0}}{\varepsilon'_2} - \frac{p}{d''} \log \frac{t''}{t''_0} \right]$$

$$(5a) \quad c_2 = \frac{1}{\frac{\varepsilon'_2 \varepsilon''_1}{\varepsilon'_1} - \varepsilon''_2} \left[\frac{\varepsilon''_1 \frac{p}{d'} \log \frac{t'}{t'_0}}{\varepsilon'_1} - \frac{p}{d''} \log \frac{t''}{t''_0} \right]$$

Bei vielen Spektren zeigt die Extinktionskurve eine grössere Anzahl von Maxima. Um solche Extinktionskurven vollständig zu erhalten, ist man oft gezwungen, die Schichtdicke ausserordentlich fein abzustufen. In diesen Fällen ist eine *Hartley*-Aufnahme von Nutzen. Wie

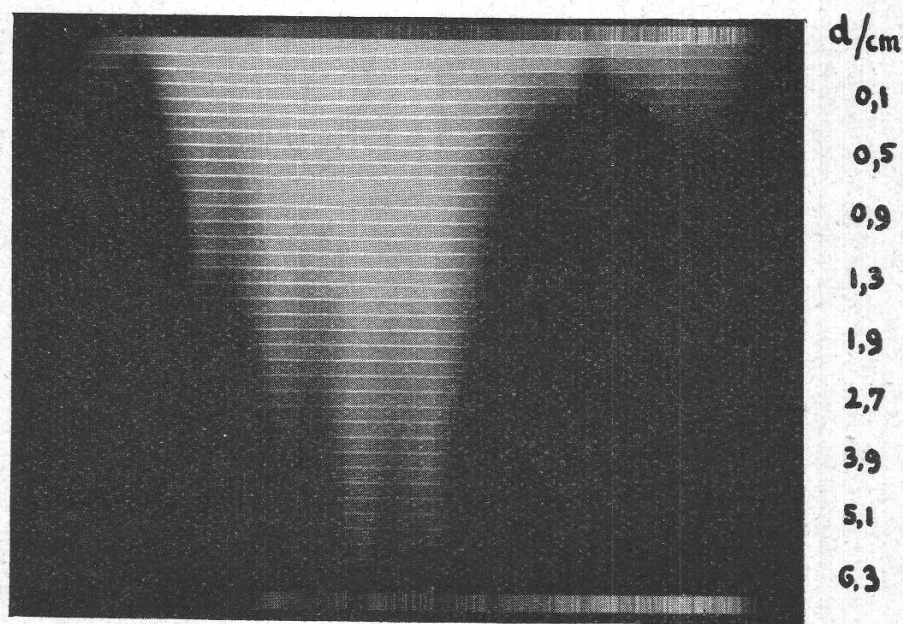


Fig. 3.
Hartley-Aufnahme, Blattauszug.

Fig. 3 zeigt, besteht die Hartley-Aufnahme eines Blattauszuges aus einer Reihe von Spektren, die unter feiner Abstufung der Schichtdicke erhalten worden sind. Die Lage und die ungefähre Intensität der einzelnen Maxima und Minima sind darauf leicht festzustellen, wodurch die Henri-Aufnahme sehr erleichtert wird. Es sei darauf hingewiesen, dass die Minima der Plattenempfindlichkeit auf den Hartley-Aufnahmen Absorptionsbanden vortäuschen können. Bei der quantitativen Extinktionsbestimmung kommt diese Fehlerquelle nicht in Betracht.

Beispiele von $\varepsilon(\lambda)$ bzw. $E(\lambda)$ Kurven sind auf den Figuren 4 und 5 dargestellt. Auf der Abszisse sind die Wellenlängen in Å (Angströmeinheit = 10^{-8} cm) aufgetragen und auf der Ordinate die Werte von ε bzw. E . In vorliegender Arbeit wurden alle ε -Kurven als *molare Extinktionskurven* berechnet; d. h. die Konzentration wurde stets in Mol pro Liter ausgedrückt.

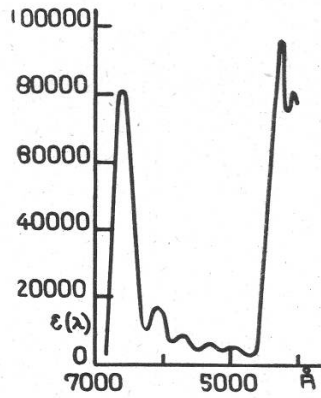


Fig. 4.
 $\varepsilon(\lambda)$ Kurve

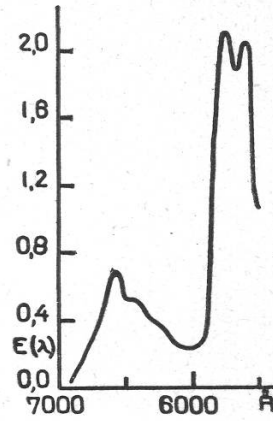


Fig. 5.
 $E(\lambda)$ Kurve

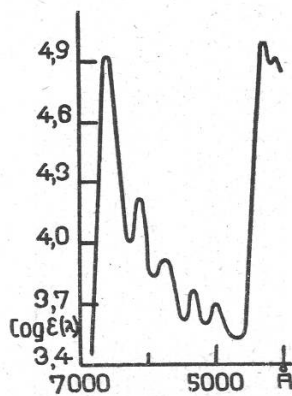


Fig. 6.
Log $\varepsilon(\lambda)$ Kurve

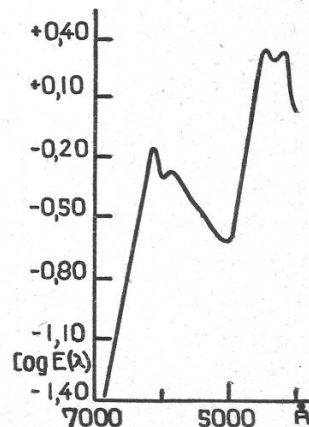


Fig. 7.
Log $E(\lambda)$ Kurve

Häufig bedient man sich der $\log \varepsilon(\lambda)$ und $\log E(\lambda)$ Kurven. Wie Figur 6 und 7 zeigen, die den gleichen Lösungen wie Fig. 4 und 5 entsprechen, sind auf diesen Diagrammen $\log \varepsilon(\lambda)$ bzw. $\log E(\lambda)$ auf die Ordinatenachse aufgetragen, während die Abszissenachse die Wellenlängen enthält. Die $\log E(\lambda)$ Kurven behalten im Gegensatz zu den $E(\lambda)$ Kurven ihre Form bei, falls die Lösungen verdünnt werden, und zeigen lediglich eine Parallelverschiebung in der Richtung der Ordinatenachse.

2. Apparatur.

Zur Aufnahme im sichtbaren Teil des Spektrums wurde ein Gitterspektrograph von Zeiss verwendet. Die Dispersion dieses Instrumentes beträgt zirka 40 \AA pro mm ($0,025 \text{ mm}$ pro \AA).

Als Lichtquelle diente eine Philips-Halbwattlampe (4 V, 25 W), die mit Akkumulatorenstrom gespeist wurde.

Zur Aufnahme der Lösungen dienten sogenannte Baly-Röhre (Fig. 8). Sie bestehen aus zwei ineinander verschiebbaren Glas- oder Quarzröhren, die mit planparallelen Quarzfenstern versehen sind. Durch Verschieben der ineinandergeschliffenen Röhren lassen sich die Schichtdicken in genauer Weise verändern. Zur Messung der Schichtdicke dient eine Ringmarke auf der innern und eine Skala auf der äussern Röhre.

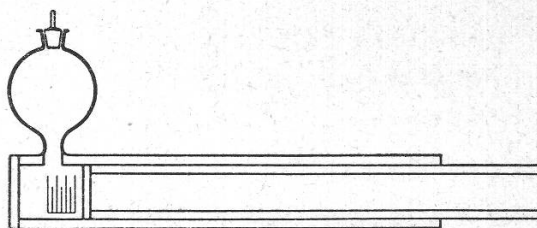


Fig. 8.

Um Verunreinigungen zu verhüten (die bei aufgekitteten Fenstern schwer zu vermeiden sind), benutzten wir ausschliesslich Quarzröhren mit aufgeschmolzenen Quarzfenstern. Die Schichtdicke d dieser Röhren konnte zwischen 1 und 80 mm mit einer Genauigkeit von zirka $0,1 \text{ mm}$ eingestellt werden. Um den Einstellungsfehler vernachlässigen zu können, arbeiteten wir stets mit $d = > 10 \text{ mm}$.

Über die Einzelheiten der Apparatur orientiert die Figur 9. Von der Lichtquelle (1) gelangt das Licht durch die geneigte Blende (2) auf eine achromatische bikonvexe Linse (3) und wird von ihr parallel gerichtet. Im parallelen Strahlengang befindet sich das Baly-Rohr (4) mit der zu untersuchenden Flüssigkeit. Nachdem das Licht die Flüssigkeit passiert hat, werden die Strahlen durch eine zweite Linse (5) zur Erhöhung der Lichtstärke auf dem Spalt (6) des Spektrographen gesammelt. Der Eisenbogen (7) wird mittelst eines Spiegels (8), den man auf der Blende (2) leicht demontierbar befestigt, auf den Spalt projiziert.

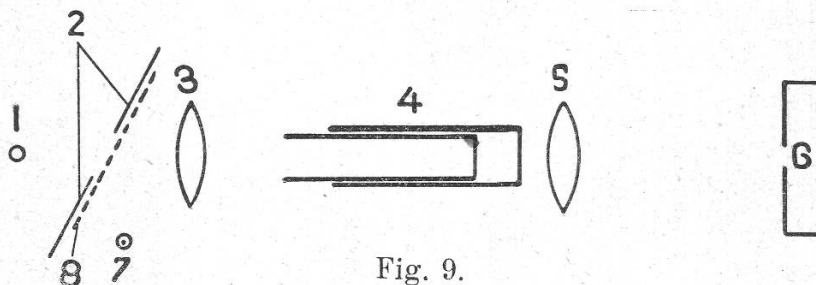


Fig. 9.

Für alle Aufnahmen im sichtbaren Teil des Spektrums wurden « Illford Special Rapid Panchromatic Plates » verwendet.

Im Ultraviolett wurden die Spektren mit einem Hilger Quarzspektrographen Type E 2 aufgenommen. Als Lichtquelle diente ein kondens-

sierter Eisenfunken. Der Funke wurde mit einer Quarzlinse auf den Spalt abgebildet, wobei das schwach konvergente Strahlenbündel das Baly-Rohr in der Nähe des Spaltes passierte. Für das ultraviolette Spektralgebiet sind « Illford Zenith Extra Sensitive Plates » verwendet worden.

C. *Spektrophotometrische Untersuchungen der vier Blattfarbstoffe: Chlorophyll a, Chlorophyll b, Carotin und Xanthophyll.*

Wie wir eingangs erwähnten, mussten in Vorbereitung der spektrophotometrischen Analyse der Blattauszüge die Extinktionskurven der in Betracht kommenden Blattfarbstoffe, sowie eine grössere Anzahl von $E(\lambda)$ Kurven künstlich hergestellter Farbstoffgemische aufgenommen werden. Im folgenden seien diese vorbereitenden Untersuchungen beschrieben.

1. Herstellung der Lösungen.

Reine Präparate der vier Blattfarbstoffe wurden uns in liebenswürdiger Weise von den Herren Prof. P. K a r r e r, Zürich (Carotin und Xanthophyll) und A. S t o l l, Basel (Chlorophyll a und b) zur Verfügung gestellt.

Entsprechend den Extremwerten der Extinktionskurven dieser Farbstoffe und dem Messbereich unserer Baly-Rohre (vgl. S. 27) verwendeten wir Lösungen folgender Konzentration:

| | Lösungsmittel |
|---------------|--|
| Chlorophyll a | 1/270,000—1/30,000 mol. Aether, Aethylalkohol. |
| Chlorophyll b | 1/270,000—1/30,000 mol. Aether, Aethylalkohol. |
| Carotin | 1/500,000—1/50,000 mol. Aether, Hexan. |
| Xanthophyll | 1/500,000—1/50,000 mol. Aether, Methylalkohol. |

Wir untersuchten alle vier Blattfarbstoffe in erster Linie in ätherischer Lösung, da bei der verwendeten Extraktionsmethode von R. Willstätter und A. Stoll¹ die Blattfarbstoffe in Äther gelöst erhalten werden. Die übrigen Lösungsmittel verwendeten wir zum Teil für die Durchführung der auf Seite 45 beschriebenen Analysenmethode. Diese Lösungsmittel erlaubten eine ziemlich weitgehende Auflösung der Spektren in Einzelbanden. Hexan, das infolge seines verschwindend kleinen Dipolmomentes in dieser Beziehung am günstigsten wirkt, konnte nicht in allen vier Fällen benutzt werden, da nur Carotin darin hinreichend löslich ist. Die Extinktionskurven der in Äthylalkohol aufgenommenen Chlorophylle sind für die Analyse der Blattauszüge nicht verwendet worden.

¹ l. c. S. II.

2. Reinigung der Lösungsmittel.

Die für unsere spektrophotometrischen Messungen verwendeten Lösungsmittel wurden aus reinsten Kahlbaumpräparaten nach den Angaben von Castille und Henri¹ wie folgt dargestellt:

Äthylalkohol wird mit Jod (1 gr/Liter) einen Tag stehengelassen und dann fraktioniert destilliert. Die mittlere, allein verwendete Fraktion wird zur Entfernung der letzten Jodspuren über reinem Zinkpulver destilliert. Nach dem Trocknen über Kalk wird der Alkohol nochmals fraktioniert.

Methylalkohol (1 Vol.) wird mit einer gewissen Menge Natronlauge und etwas Jod einen Tag stehengelassen, dann langsam in 10 %ige Silbernitratlösung ($\frac{1}{4}$ Vol.) gegossen und nach mehrstündigem Schütteln destilliert.

Äther wird 12 Stunden mit 10 %igem Natron geschüttelt, über Chlorcalcium getrocknet und über Natrium fraktioniert. Anfangs- und Endfraktion werden verworfen.

Hexan wird in Portionen von zwei Litern mit 300 ccm Schwefelsäuremonohydrat 12 Stunden lang geschüttelt. Nach der Abtrennung des Hexans im Scheidetrichter wird dieselbe Operation noch zweimal mit frischem Monohydrat und einmal mit konzentrierter Schwefelsäure ausgeführt. Hierauf wird aufeinanderfolgend mit destilliertem Wasser gewaschen, mit 300 ccm 10 %igem Natriumkarbonat, mit einer Mischung von 200 ccm konzentriertem Kaliumpermanganat und 100 ccm 10 %igem Natriumkarbonat, und schliesslich mit einer Mischung von 200 ccm Permanganat und 100 ccm 10 %iger Schwefelsäure je 12 Stunden lang geschüttelt. Nach mehrmaligem Auswaschen wird das Hexan über Natrium getrocknet und in einem mit ungefetteten Schliffen zusammengesetzten Apparat fraktioniert.

3. Extinktionskurven von Chlorophyll a, Chlorophyll b, Carotin und Xanthophyll.

Der für die Aufnahme der Farbstoffe verwendete Äther ist entsprechend den bei der Extraktion der Blätter vorliegenden Verhältnissen vorbehandelt worden. Da die Blattfarbstoffe (vgl. S. 50) aus der Acetonlösung durch Zusatz von Äther und Wasser in die ätherische Phase übergeführt werden, haben wir für die Aufnahme der reinen Blattfarbstoffe Äther verwendet, der in analoger Weise mit Aceton und Wasser vorbehandelt worden ist.

Fig. 11 wiedergibt die Extinktionskurve des Carotins in ätherischer Lösung im Spektralbereich von 5150—3700 Å. Die verschiedenen Markierungszeichen entsprechen verschiedenen Lösungen. Der Verlauf die-

¹ A. Castille et V. Henri, Méthodes de purification des solvants organiques: Alcool, éther, hexane. Bulletin de la Société de Chimie Biologique, Paris, 1924.

ser Kurve im Spektralgebiet von 4000—2500 Å, welcher für die spektrophotometrische Analyse nicht in Betracht kam, ist auf Fig. 20 dargestellt.

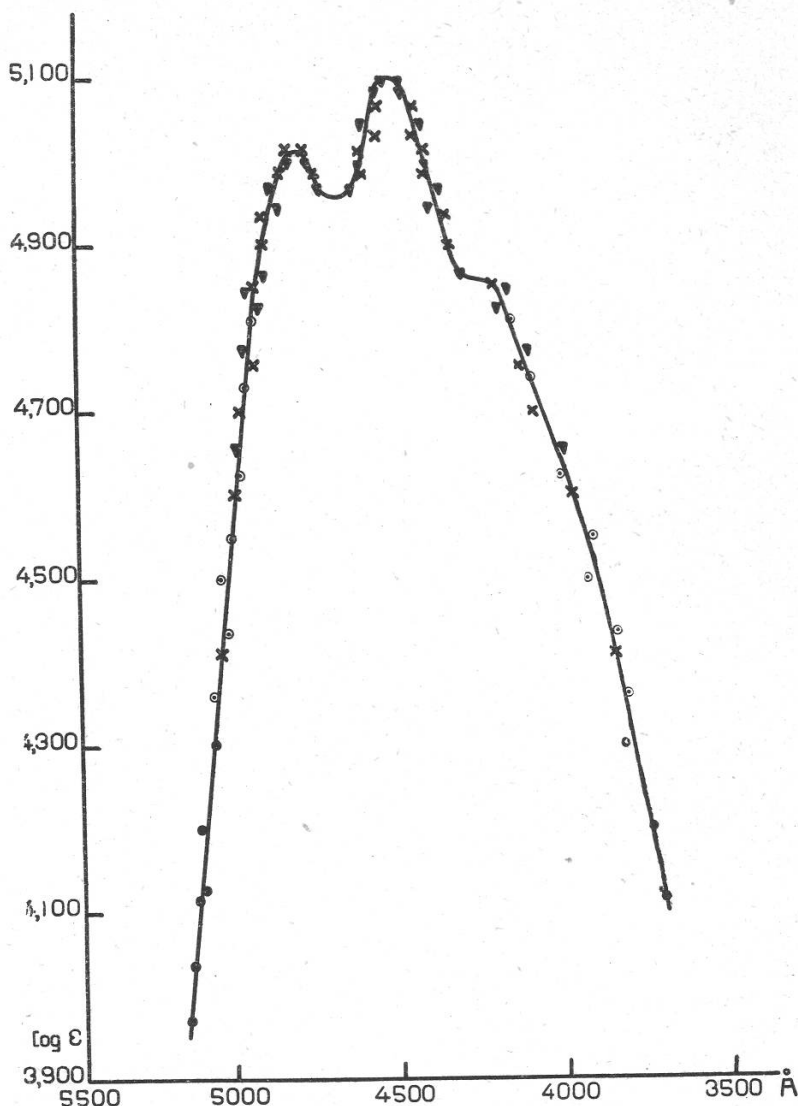


Fig. 11.
Carotin in Aether.

Carotin zeigte in Äther gelöst eine verhältnismässig geringe Reproduzierbarkeit der Messungsergebnisse. Unsere ursprüngliche Annahme, dass es sich hier möglicherweise um eine partielle Oxydation der Lösungen unter dem Einfluss der im Äther oft entstehenden Peroxyde handelt, erwies sich nicht als stichhaltig, da auch die Aufbewahrung des Äthers über blankem Natrium keine Besserung brachte. Nach neueren Untersuchungen von R. Kuhn und Brockman¹, R. Kuhn und Lederer², J. H. C. Smith und H. W. Milner³, stellt Carotin ein Gemisch schwer trennbarer Isomeren dar, die sich in

¹ Kuhn und Brockmann, Ber. d. chem. Ges. 66, 1933, S. 407.

² Kuhn und Lederer, Ber. d. chem. Ges. 64, 1931, S. 1349.

³ Smith und Milner, Journal of Biol. Chem., 104, No. 2, 1934.

ihren optischen Eigenschaften unterscheiden. Möglicherweise sind die Abweichungen unserer Einzelmessungen auf eine derartige Inhomogenität des verwendeten Carotin-Präparates zurückzuführen.

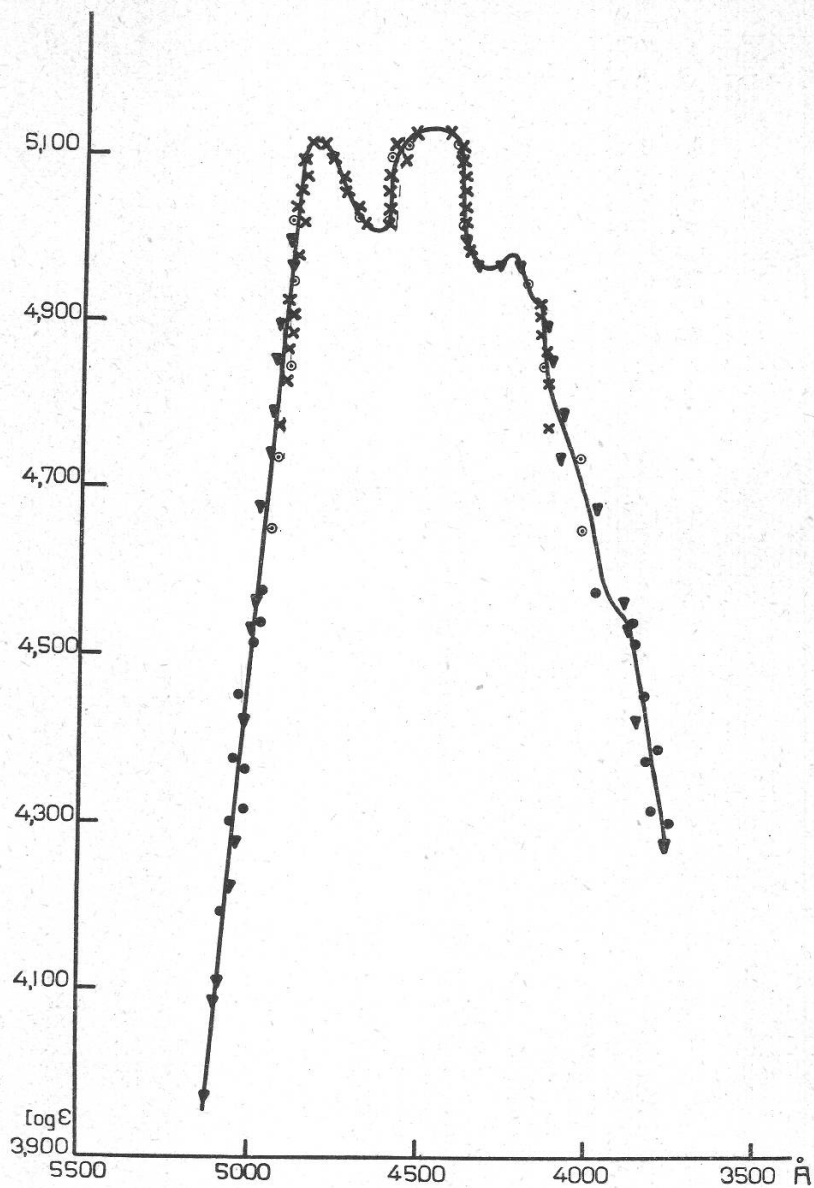


Fig. 12.
Carotin in Hexan.

Fig. 12 zeigt die Extinktionskurve des *in Hexan gelösten Carotins*. Der kurzwellige Teil dieses Spektrums ist nicht aufgenommen worden. Man bemerkt ein stärkeres Hervortreten der einzelnen Banden im Vergleich mit der Extinktionskurve der ätherischen Lösung (Fig. 11).

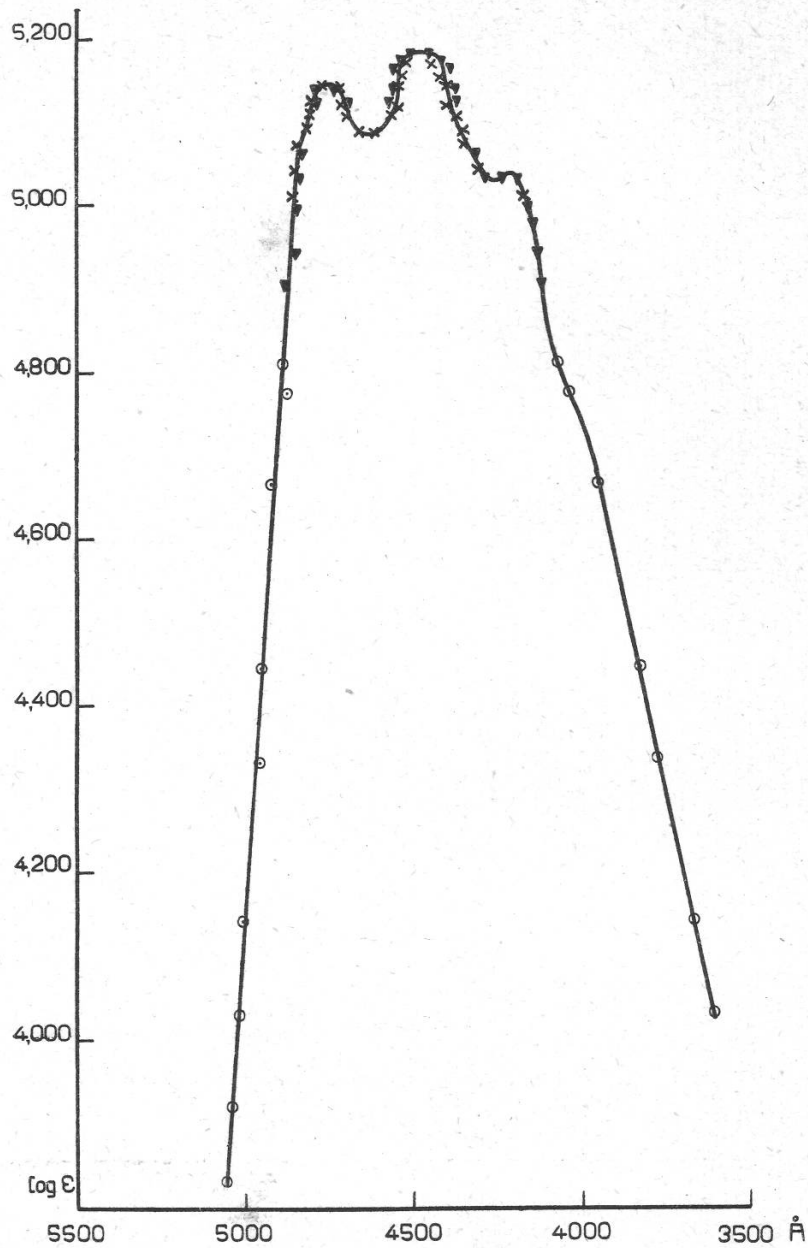


Fig. 13.
Xanthophyll in Aether.

Der Wellenlängenbereich von 5100—3600 Å der Extinktionskurve von *Xanthophyll* in Äther ist auf Figur 13 dargestellt. Fig. 20 zeigt die Fortsetzung der Kurve im Ultraviolett.

Die Extinktionskurve (das Gebiet zwischen 5100—3800 Å) des *Xanthophylls* in *methylalkoholischer Lösung* ist auf Fig. 14 wiedergegeben.

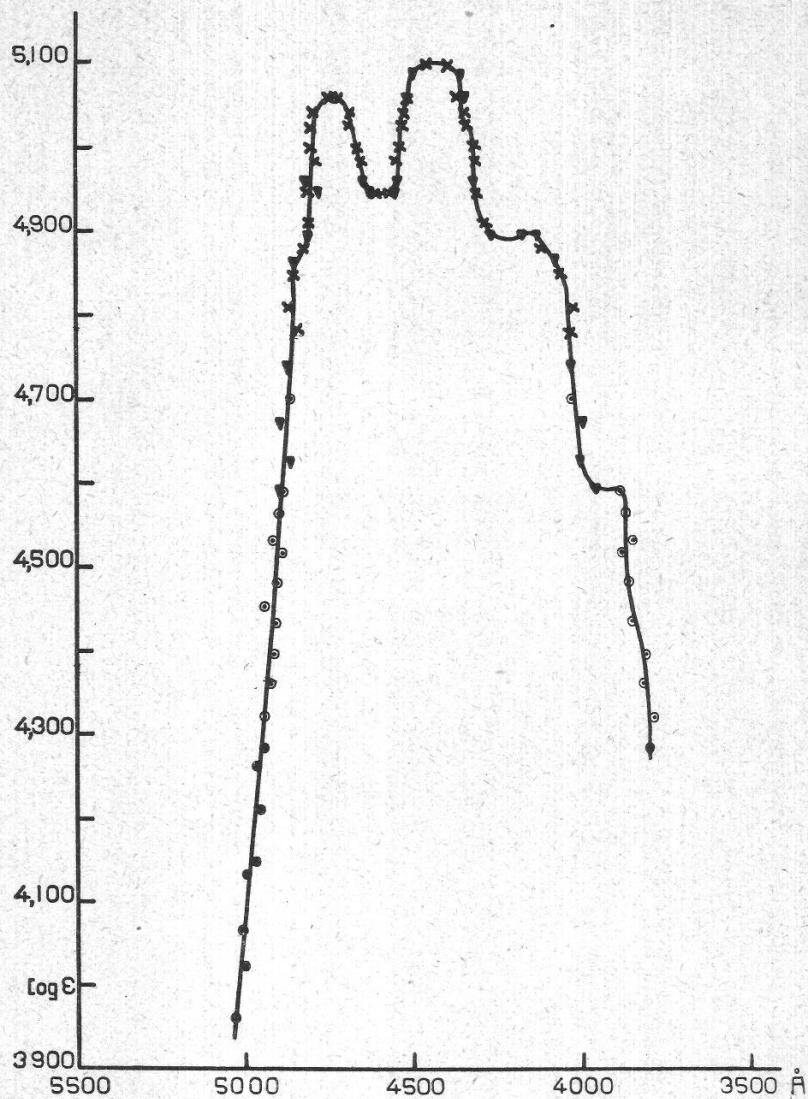


Fig. 14.
Xanthophyll in Methylalkohol.

Man erkennt auf dieser Kurve zwei schwache Banden bei 4155 und 3905 Å, welche in der ätherischen Lösung nur als Inflexionen auftreten.

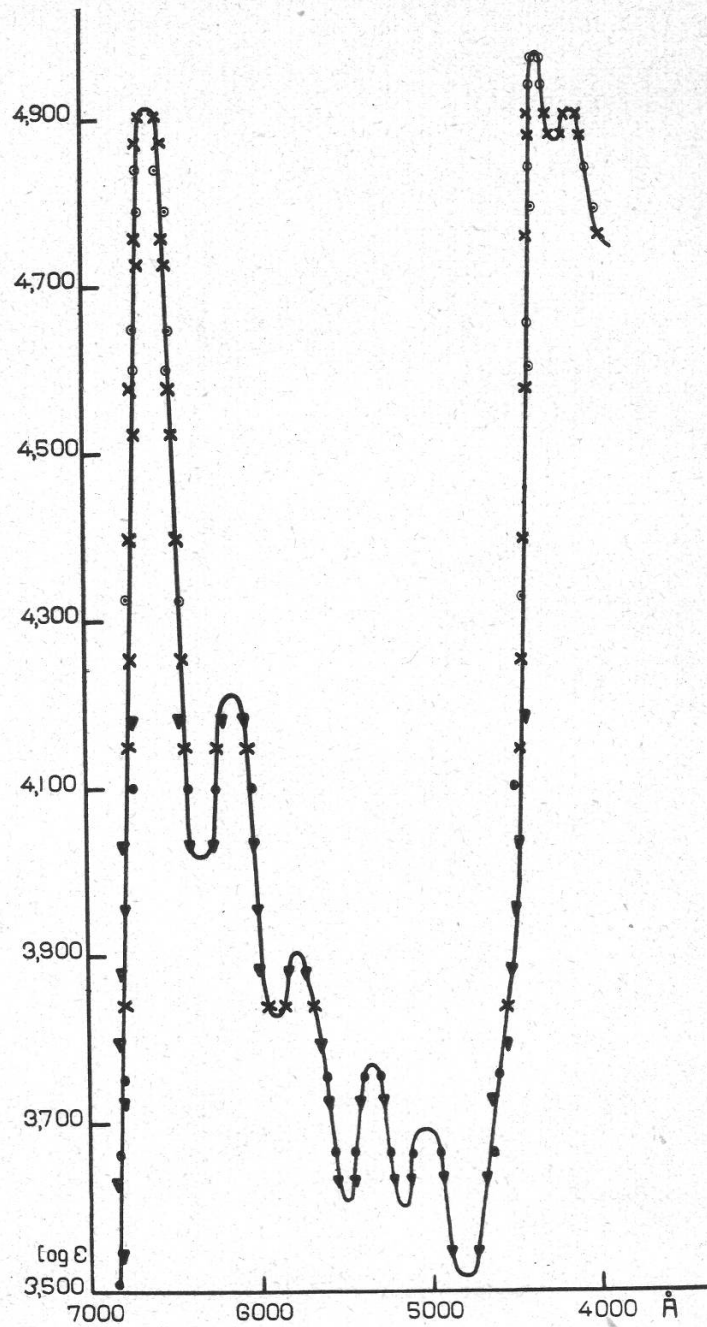


Fig. 15.

Chlorophyll a in Aether.

Figur 15 zeigt die Extinktionskurve *der ätherischen Lösung von Chlorophyll a* im Bereich von 6850—4000 Å. Die Fortsetzung der Kurve im Ultraviolett ist auf Figur 20 dargestellt.

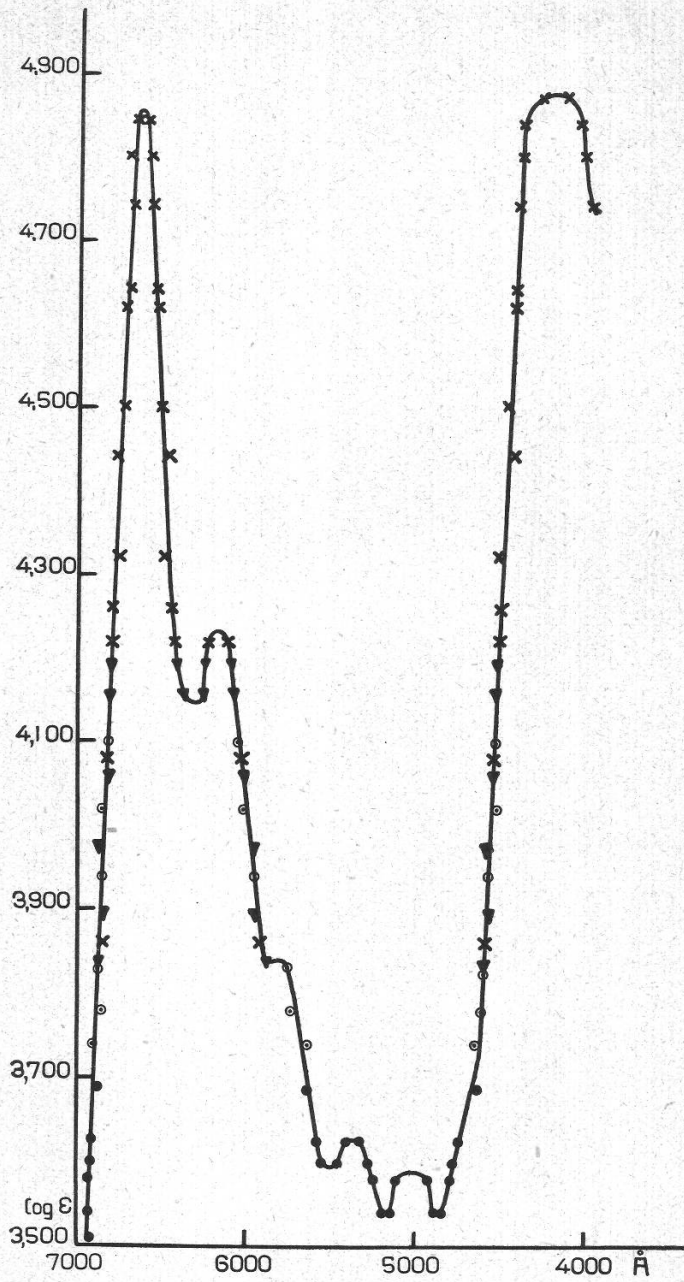


Fig. 16.

Chlorophyll a in Aethylalkohol.

Fig. 16 wiedergibt die Extinktionskurve des *in Alkohol gelösten Chlorophylls a*. Die einzelnen Banden sind hier nicht so gut separiert wie im Falle der ätherischen Lösung.

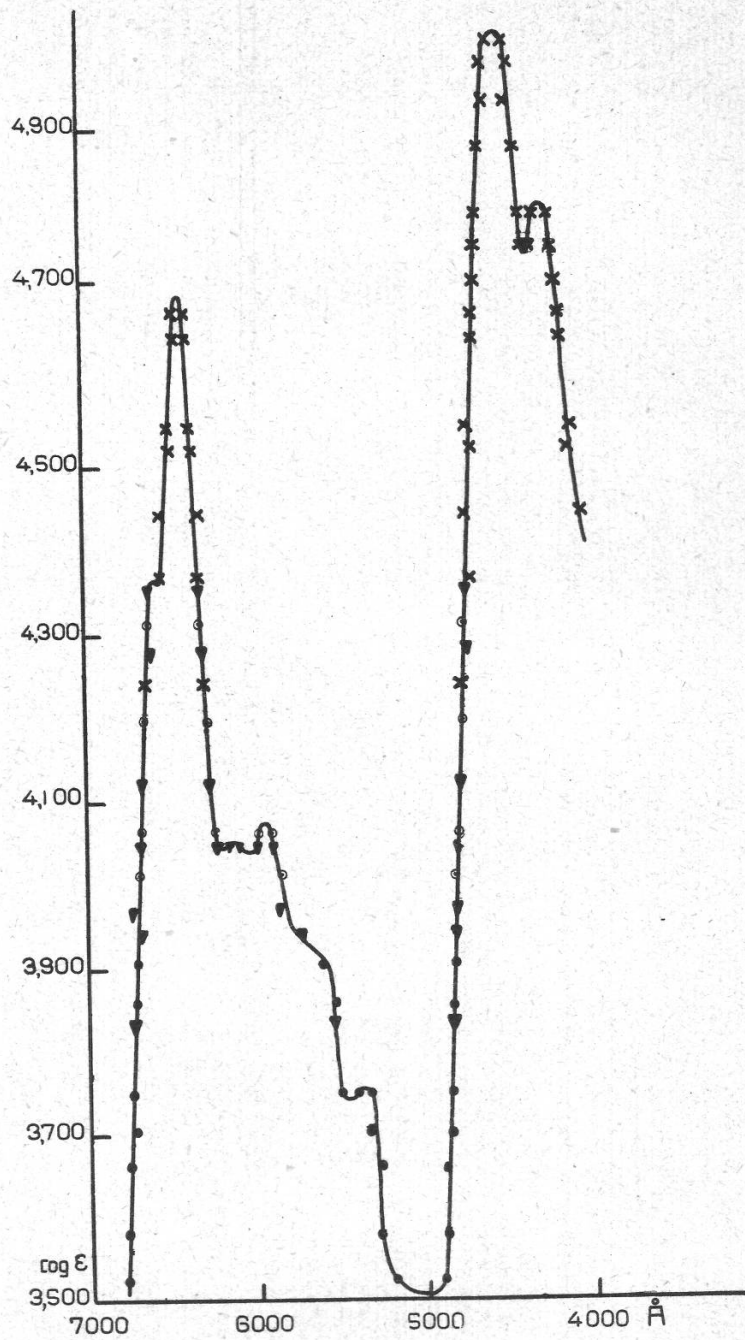


Fig. 17.
Chlorophyll b in Aether.

Die Extinktionskurve von *Chlorophyll b* (Gebiet zwischen 6650 bis 4000 Å) in ätherischer Lösung ist auf Fig. 17 und die entsprechende Kurve der alkoholischen Lösung auf Fig. 18 dargestellt. Das kurzwellige Spektrum der Lösung in Äther ist auf Fig. 20 wiedergegeben. Auch *Chlorophyll b* zeigt in ätherischer Lösung ein besser aufgelöstes Spektrums als in Lösung mit Alkohol.

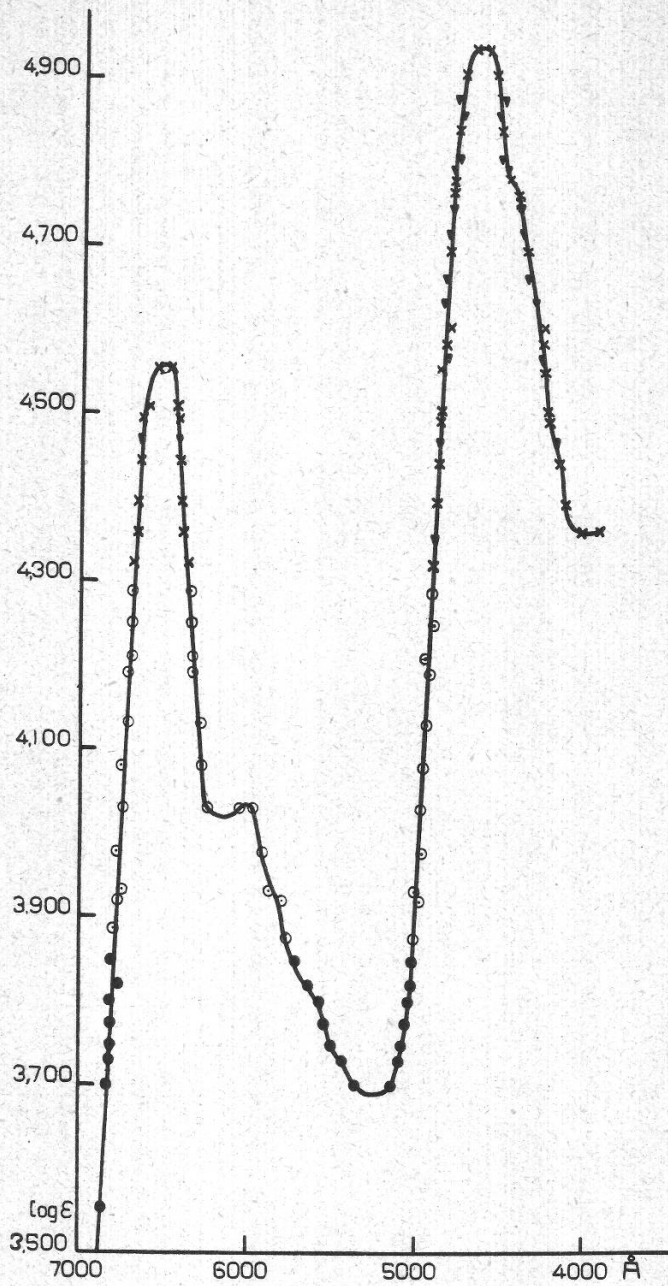


Fig. 18.

Chlorophyll b in Aethylalkohol.

In der folgenden Übersicht (Tab. 1) geben wir die Lage der Maxima und Minima der Extinktionskurven der vier untersuchten Blattfarbstoffe wieder.

Tabelle 1.
Werte der gemessenen Maxima und Minima.

| | | λ | $\log \epsilon$ | λ | $\log \epsilon$ |
|----------------------------|--------|-----------|-----------------|-----------|-----------------|
| 1. Carotin: | | | | | |
| in Aether | Maxima | 4790 | 5,015 | 4510 | 5,102 |
| | Minima | 4675 | 4,950 | | |
| in Hexan | Maxima | 4830 | 5,116 | 4235 | 4,977 |
| | | 4475 | 5,132 | | |
| | Minima | 4635 | 5,007 | 4305 | 4,961 |
| 2. Xanthophyll: | | | | | |
| in Aether | Maxima | 4735 | 5,148 | 4210 | 5,036 |
| | | 4470 | 5,184 | | |
| in Methylalkohol | Minima | 4625 | 5,084 | 4255 | 5,026 |
| | Maxima | 4735 | 5,058 | 4155 | 4,898 |
| | | 4430 | 5,099 | 3905 | 4,592 |
| | Minima | 4595 | 4,942 | 3930 | 4,589 |
| | | 4220 | 4,888 | | |
| 3. Chlorophyll a: | | | | | |
| in Aether | Maxima | 6620 | 4,910 | 5020 | 3,694 |
| | | 6155 | 4,210 | 4300 | 4,984 |
| | | 5780 | 3,906 | 4105 | 4,910 |
| | | 5345 | 3,772 | | |
| | Minima | 6320 | 4,014 | 5155 | 3,597 |
| in Alkohol | | 5895 | 3,824 | 4800 | 3,514 |
| | | 5485 | 3,604 | 4180 | 4,872 |
| | Maxima | 6645 | 4,860 | 5360 | 3,630 |
| | | 6175 | 4,232 | 5020 | 3,590 |
| | Minima | 5800 | 3,840 | 4160 | 4,878 |
| | | 6315 | 4,146 | 5175 | 3,540 |
| | | 5850 | 3,838 | 4875 | 3,538 |
| | | 5500 | 3,590 | | |
| 4. Chlorophyll b: | | | | | |
| in Aether | Maxima | 6595 | 4,364 | 5390 | 3,758 |
| | | 6435 | 4,704 | 4540 | 5,016 |
| | | 6170 | 4,052 | 4295 | 4,812 |
| | | 5965 | 4,077 | | |
| in Alkohol | Minima | 6575 | 4,362 | 5480 | 3,740 |
| | | 6215 | 4,048 | 5050 | 3,504 |
| | | 6065 | 4,037 | 4375 | 4,747 |
| | Maxima | 6515 | 4,558 | 4640 | 4,942 |
| | | 6000 | 4,034 | | |
| | Minima | 6140 | 4,018 | 3980 | 4,362 |
| | | 5250 | 3,690 | | |

Vom Standpunkt der spektrophotometrischen Analyse dieser Blattfarbstoffe interessiert vor allem der allgemeine Verlauf der Extinktionskurven der ätherischen Lösungen. Wir haben deshalb die vier Kurven auf Fig. 19 zusammenfassend dargestellt.

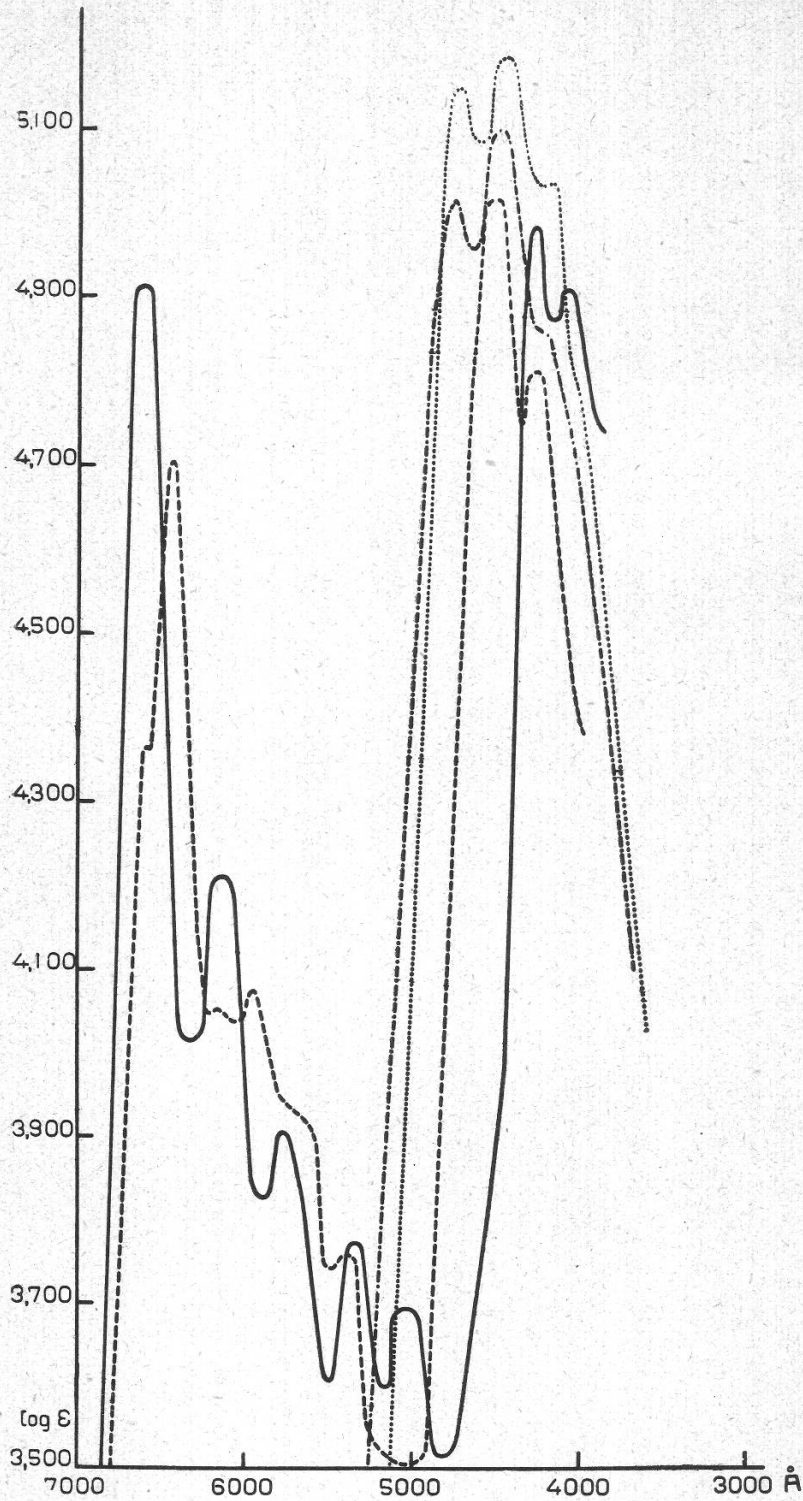
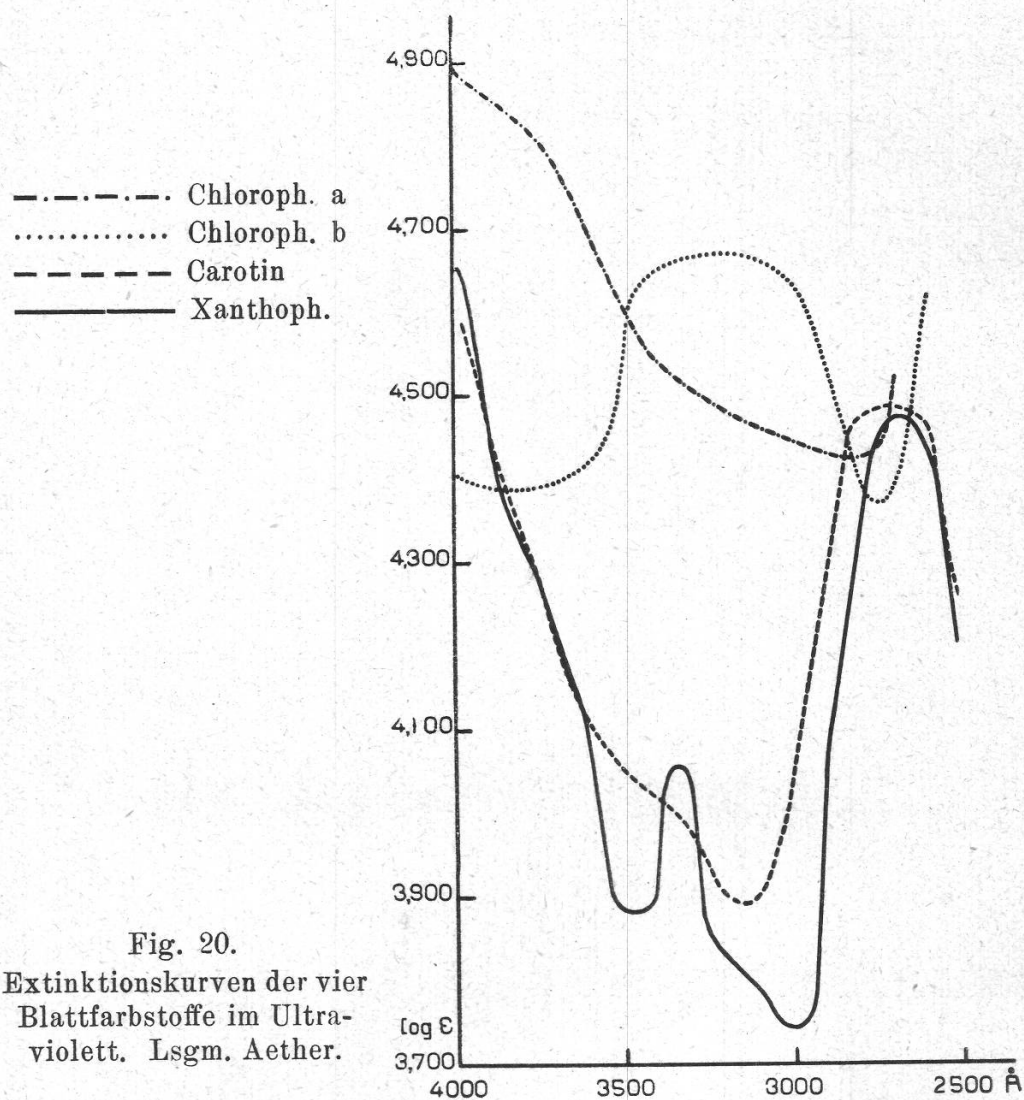


Fig. 19.

Zusammenstellung der in ätherischer Lösung aufgenommenen Extinktionskurven der vier Blattfarbstoffe.

- Chlorophyll a
- - - - - Chlorophyll b
- · - · - Carotin
- Xanthophyll

Die Genauigkeit der spektrophotometrischen Trennung hängt zur Hauptsache vom Verlauf dieser Kurven ab; sie ist um so grösser, je deutlichere Unterschiede die einzelnen Kurven aufweisen. Günstig für die spektrophotometrische Analyse erscheint die verschwindend geringe Absorption der gelben Farbstoffe Carotin und Xanthophyll bei $\lambda > 5500 \text{ \AA}$. Ungünstig liegen die Verhältnisse im kurzwelligeren Teil des sichtbaren Spektrums, wo alle vier Farbstoffe an der Absorption beteiligt sind und lediglich geringe Unterschiede aufweisen. Aus diesem Grunde versuchten wir das ultraviolette Spektrum der Blattfarbstoffe (Fig. 20) aufzunehmen, um eventuell in diesem günstigere Verhältnisse für die Analyse anzutreffen.



Trotzdem die Extinktionskurven der beiden gelben Farbstoffe im Ultraviolett gewisse Unterschiede aufweisen, die eine spektrophotometrische Trennung nicht ausgeschlossen erscheinen lassen, mussten wir diesen Weg aufgeben, da die Blattauszüge stets Spuren von Aceton enthielten (vgl. S. 51), welche die Absorption im Ultravioletten in un-

kontrollierbarer Weise beeinflussten. Überdies weist das Herbstlaub nach den Ergebnissen von Schultze und Schütz¹ einen relativ grossen Gehalt an ätherlöslichen Ölen auf, der vermutlich die Extinktion der Blattauszüge im ultravioletten Spektralbereich beeinflussen dürfte.

4. Lichtextinktion der vier Blattfarbstoffe im Gemisch.

Es war zu untersuchen, ob sich die Extinktionen der einzelnen Farbstoffe in Gemischen addieren, oder ob merkliche Abweichungen von diesem Verhalten festgestellt werden können.

Wir haben zu diesem Zweck folgende Messungen angestellt: Es wurde die $E(\lambda)$ Kurve einer ätherischen Lösung von Carotin und Xanthophyll aufgenommen, die wir aus einer Carotinlösung A (1 Vol.) und einer Xanthophylllösung B (1 Vol.) herstellten.² Ausserdem nahmen wir die $E(\lambda)$ Kurven der mit Äther im Verhältnis 1:1 verdünnten Lösungen A bzw. B auf. Da die letzteren Lösungen nur *eine gelöste Substanz* enthalten, entspricht $E(\lambda)$ dem Ausdruck $\epsilon \cdot c$, d. h. die $E(\lambda)$ Kurven stellen den Verlauf von $\frac{p}{d} \log \frac{t}{t_0}$ in Abhängigkeit von der Wellenlänge dar.

Fig. 21 zeigt die drei *experimentell* erhaltenen Kurven, sowie die aus den $\epsilon c(\lambda)$ Werten der Komponenten *berechnete Kurve des Gemisches*.

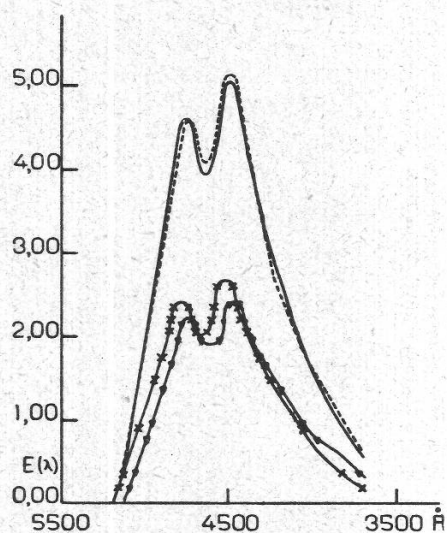


Fig. 21.

- 1 × × × × Messpunkte der Carotinlösung
- 2 ▼ ▼ ▼ ▼ Messpunkte der Xanthophylllösung
- 3 - - - - Gemessene Kurve des Gemisches
- 4 ————— Durch Addition von 1 und 2 berechnete Kurve des Gemisches.

Die Übereinstimmung der berechneten und der experimentell bestimmten Kurve des Gemisches lässt erkennen, dass sich Carotin und Xanthophyll in ätherischer Lösung in bezug auf die Lichtabsorption nicht nennenswert beeinflussen (vgl. S. 42).

¹ Schultze und Schütz, Die Stoffwanderung in den Laubblättern des Baumes. Landw. Versuchsstat. 71, 1909, S. 299 ff.

² Die Konzentrationen dieser zwei Lösungen müssen nicht bekannt sein.

In analoger Weise sind ein Gemisch von Chlorophyll a und Chlorophyll b (Fig. 22) und ein Gemisch von Chlorophyll a, Chlorophyll b, Carotin und Xanthophyll (Fig. 23) aufgenommen worden. Eine erhebliche gegenseitige Beeinflussung konnte auch hier nicht festgestellt werden.

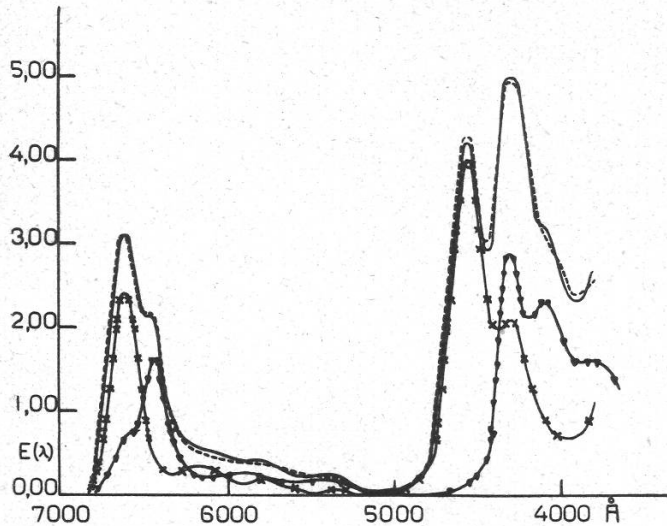


Fig. 22.

- 1 × × × × Messpunkte der Chlorophyll a Lösung
- 2 ▼ ▼ ▼ ▼ Messpunkte der Chlorophyll b Lösung
- 3 - - - - Gemessene Kurve des Gemisches
- 4 ————— Durch Addition von 1 u. 2 berechnete Kurve des Gemisches.

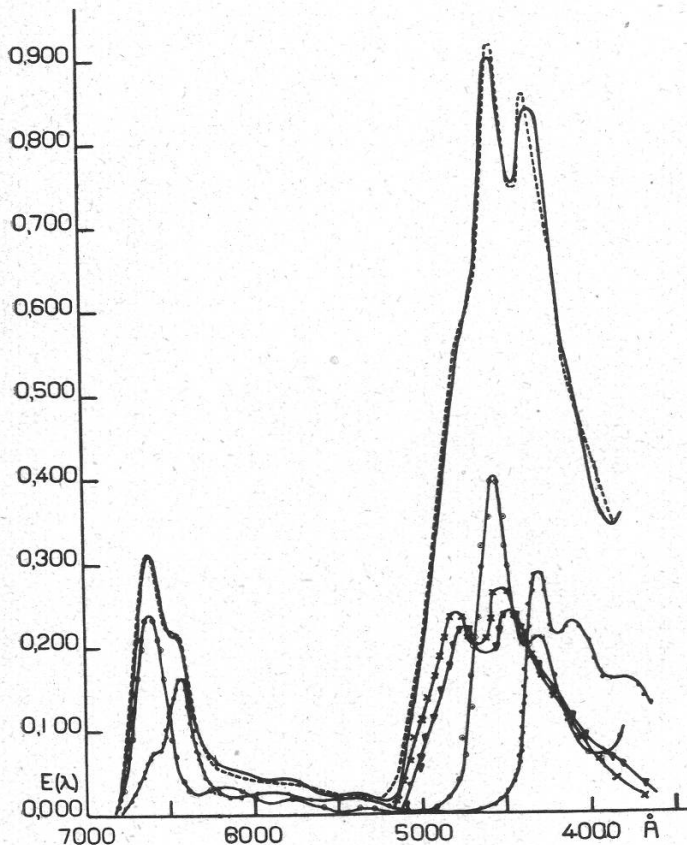


Fig. 23.

- 1 × × × × Messpunkte der Carotinlösung
- 2 ▼ ▼ ▼ ▼ Messpunkte der Xanthophylllösung
- 3 ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ Messpunkte der Chlorophyll a Lösung
- 4 ● ● ● ● Messpunkte der Chlorophyll b Lösung
- 5 - - - - Gemessene Kurve des Gemisches
- 6 ————— Durch Addition von 1, 2, 3 und 4 berechnete Kurve des Gemisches.

Wir haben diese Versuche zwei- bis dreimal wiederholt und konnten dabei stets das eben dargestellte Verhalten der Blattfarbstoffe im Gemisch feststellen. Die Abweichungen vom berechneten Kurvenverlauf betragen im ungünstigsten Falle, bei einem Vierstoffgemisch, 12 Prozent und waren in der Regel kleiner als 7 Prozent.

5. Gültigkeit des Gesetzes von Lambert und Beer.

Wir prüften die Abhängigkeit der Extinktionskurven $\varepsilon(\lambda)$ der vier Blattfarbstoffe von der Konzentration innerhalb eines Messbereiches, der durch die Schichtdicke unserer Baly-Rohre ziemlich eng begrenzt war. Trotzdem die Konzentrationen der einzelnen Farbstoffe in den Blättern während der Vegetationsperiode erhebliche Unterschiede aufweisen, erscheint die Prüfung des Beerschen Gesetzes innerhalb dementsprechend weiter Grenzen nicht unbedingt erforderlich, da wir die spektrophotometrische Analyse an künstlich hergestellten Farbstoffgemischen prüfen konnten.

Es wurden folgende Versuche zur Bestimmung der Konzentrationsabhängigkeit von $\varepsilon(\lambda)$ ausgeführt :

Tabelle 2.

Konzentrationsabhängigkeit der $\varepsilon(\lambda)$ Werte.

a) Carotin.

| Carotin in Aether gelöst | 4300 A° | 4520 A° |
|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1/415 500 mol. | $\varepsilon = 98\ 170$ | $\varepsilon = 125\ 890$ |
| 1/350 400 „ | $\varepsilon = 106\ 910$ | $\varepsilon = 135\ 520$ |
| 1/250 000 „ | $\varepsilon = 101\ 860$ | $\varepsilon = 124\ 450$ |

| Carotin in Hexan gelöst | 4475 A° | 4825 A° |
|----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1/467 650 mol. | $\varepsilon = 134\ 900$ | $\varepsilon = 133\ 980$ |
| 1/321 200 „ | $\varepsilon = 132\ 130$ | $\varepsilon = 127\ 640$ |
| 1/210 340 „ | $\varepsilon = 138\ 040$ | $\varepsilon = 130\ 050$ |

b) Xanthophyll.

| Xanthophyll in Aether gelöst | 4750 A° | 4500 A° |
|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1/463 700 mol. | $\varepsilon = 138\ 690$ | $\varepsilon = 152\ 750$ |
| 1/311 200 „ | $\varepsilon = 133\ 680$ | $\varepsilon = 147\ 590$ |
| 1/233 150 „ | $\varepsilon = 140\ 600$ | $\varepsilon = 155\ 600$ |

| Xanthophyll in Methylalkohol gelöst | 4460 A° | 4740 A° |
|--|--------------------------|--------------------------|
| 1/434 300 mol. | $\varepsilon = 131\ 520$ | $\varepsilon = 118\ 850$ |
| 1/313 200 „ | $\varepsilon = 124\ 460$ | $\varepsilon = 115\ 100$ |
| 1/250 000 „ | $\varepsilon = 126\ 760$ | $\varepsilon = 112\ 730$ |

c) Chlorophyll a.

| Chlorophyll a in Aether gelöst | 6600 A° | 4300 A° |
|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1/321 200 mol. | $\varepsilon = 83\ 180$ | $\varepsilon = 96\ 380$ |
| 1/253 350 „ | $\varepsilon = 79\ 430$ | $\varepsilon = 94\ 410$ |
| 1/123 120 „ | $\varepsilon = 78\ 710$ | $\varepsilon = 92\ 900$ |

| Chlorophyll b in Alkohol gelöst | 6670 A° | 4300 A° |
|------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1/331 340 mol. | $\varepsilon = 71\ 620$ | $\varepsilon = 73\ 790$ |
| 1/257 500 „ | $\varepsilon = 68\ 710$ | $\varepsilon = 74\ 990$ |
| 1/125 340 „ | $\varepsilon = 72\ 610$ | $\varepsilon = 72\ 280$ |

d) Chlorophyll b.

| Chlorophyll b in Aether gelöst | 6435 A° | 4540 A° |
|-----------------------------------|-------------------------|--------------------------|
| 1/361 340 mol. | $\varepsilon = 50\ 580$ | $\varepsilon = 103\ 520$ |
| 1/211 450 „ | $\varepsilon = 48\ 750$ | $\varepsilon = 106\ 660$ |
| 1/130 280 „ | $\varepsilon = 49\ 550$ | $\varepsilon = 102\ 100$ |

| Chlorophyll b in Alkohol gelöst | 6540 A° | 4700 A° |
|------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1/350 280 mol. | $\varepsilon = 35\ 490$ | $\varepsilon = 84\ 100$ |
| 1/210 370 „ | $\varepsilon = 33\ 810$ | $\varepsilon = 82\ 810$ |
| 1/132 160 „ | $\varepsilon = 34\ 280$ | $\varepsilon = 86\ 100$ |

Aus diesen Angaben geht hervor, dass die Lichtextinktion der Blattfarbstoffe bei Konzentrationsveränderungen innerhalb der angegebenen Grenzen praktisch unverändert bleibt, da die Genauigkeit der Henri-Methode etwa 10 Prozent beträgt.

D. Trennung und quantitative Bestimmung der Komponenten im Blattfarbstoffgemisch.

Wir verwendeten zwei verschiedene Methoden der Analyse. Die eine Methode beruht auf der spektrophotometrischen Bestimmung von Chlorophyll a und b im Gemisch der vier Farbstoffe und darauffolgende chemische Isolierung und gesonderte spektrophotometrische Bestimmung von Carotin und Xanthophyll. Die zweite Methode ist rein spektrophotometrisch und liefert durch Auswertung der $E(\lambda)$ Kurven des Vierstoffgemisches den Gehalt desselben an Chlorophyll a, Chlorophyll b und (Carotin + Xanthophyll).

1. Kombinierte spektrophotometrisch-chemische Methode.

Um die Einzelheiten dieser Methode möglichst übersichtlich darzustellen, verfolgen wir an folgendem Beispiel den Verlauf der Analyse.

Analyse nach Methode I.

Es wurden eingewogen :

| | |
|-------------------------|---------|
| Chlorophyll a | 6,85 mg |
| Chlorophyll b | 6,93 mg |
| Carotin | 2,87 mg |
| Xanthophyll | 2,25 mg |

Die Blattfarbstoffe sind in 100 ccm Äther gelöst und die Lösung zehnfach verdünnt worden, so dass sie die einzelnen Komponenten in folgender Konzentration enthielt :

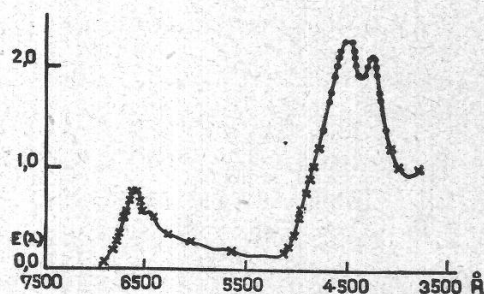
| | |
|-------------------------|----------------|
| Chlorophyll a | 1/131,664 mol. |
| Chlorophyll b | 1/130,866 mol. |
| Carotin | 1/186,457 mol. |
| Xanthophyll | 1/525,512 mol. |

Von diesem Gemisch ist die $E(\lambda)$ Kurve im sichtbaren Teil des Spektrums aufgenommen worden. Zur Bestimmung der Absorption bei $\lambda < 4750 \text{ \AA}$ musste die Lösung nochmals 10fach verdünnt werden.

Die erhaltene Kurve ist auf Fig. 24 dargestellt:

Fig. 24.

$E(\lambda)$ Kurve eines Gemisches von Chlorophyll a, Chlorophyll b, Carotin und Xanthophyll.



Von dieser Kurve wissen wir, dass sie von $\lambda = 6680$ bis $\lambda 5500$ lediglich durch den Gehalt des Gemisches an Chlorophyll a und Chlorophyll b bedingt wird (vgl. S. 39). Es lassen sich somit für beliebige zwei Wellenlängen in diesem Spektralbereich die Gleichungen (4a) und (5a) anwenden, die die Berechnung der Konzentrationen von Chlorophyll a und b erlauben. Diese Wellenlängenpaare werden mit Vorteil in solchen Teilen des Spektrums gewählt, in welchen sich die Extinktionskurven der beiden Farbstoffe deutlich unterscheiden.

Die Auswertung für das bestgeeignete Wellenlängenpaar ($\lambda' = 6620 \text{ \AA}$ und $\lambda'' = 6450 \text{ \AA}$) liefert folgendes Ergebnis :

$$\lambda' = 6620 \left\{ \begin{array}{l} \text{Chlorophyll a} \quad \varepsilon_1 = 81283 \\ \text{Chlorophyll b} \quad \varepsilon_2 = 21680 \\ \text{Gemisch, } E' = \frac{p}{d} \cdot \log \frac{t'}{t_0} \quad = 0,778 \end{array} \right.$$

$$\lambda'' = 6450 \left\{ \begin{array}{l} \text{Chlorophyll a} \dots \dots \dots \epsilon_1 = 19953 \\ \text{Chlorophyll b} \dots \dots \dots \epsilon_2 = 50120 \\ \text{Gemisch, } E'' = \frac{p}{d''} \log \frac{t''}{t_0''} \dots \dots = 0,555 \end{array} \right.$$

Diese Werte in die Formel (5a) eingesetzt ergeben für die Konzentration von Chlorophyll b :

$$c_2 = \frac{1}{\frac{21680 \cdot 19953}{81283} - 50120} \left[\frac{19953 \cdot 0,778}{81283} - 0,555 \right] = 1/124450 \text{ mol.}$$

Entsprechend dem Molekulargewicht 906,9 fanden wir im unverdünnten Gemisch 7,29 mg Chlorophyll b (Einwage 6,93 mg).

Auf gleiche Weise erhält man 6,57 mg Chlorophyll a (Einwage 6,85 mg).

Mit Hilfe eines zweiten Wellenlängenpaares ($\lambda^1 = 6350$ und $\lambda'' = 5900$) wurden entsprechenderweise folgende Werte ermittelt :

| | | |
|---------------|-----------|---------|
| Chlorophyll a | | 6,28 mg |
| Chlorophyll b | | 7,72 mg |

Die direkte spektrophotometrische Bestimmung von Carotin und Xanthophyll im Vierstoffgemisch führte, wie wir auf Seite 40 und 41 bereits erwähnten, zu keinem befriedigenden Ergebnis. Zur gesonderten Bestimmung der zwei gelben Farbstoffe erwies sich die Verseifung der Chlorophylle mit darauffolgender Überführung des Carotins in Hexan und des Xanthophylls in Methylalkohol (Willstätter und Stoll)¹ als gangbarer Weg. Die spektrophotometrische Aufnahme der so erhaltenen Lösungen von Carotin bzw. Xanthophyll erlaubte uns die Bestimmung der Farbstoffe auf Grund der aus Gleichung (7) hervorgehenden Beziehung :

$$(9) \quad c = \frac{\frac{p}{d} \log \frac{t}{t_0}}{\epsilon}$$

Wir erhielten auf diese Weise :

| | | |
|-------------|-----------|---------------------------|
| Carotin | | 3,02 mg (Einwage 2,87 mg) |
| Xanthophyll | | 2,15 mg (Einwage 2,25 mg) |

Tabelle 3 wiedergibt die Ergebnisse einer Anzahl von Analysen, die nach dieser Methode ausgeführt worden sind.

¹ loc. cit. S. 22.

Tabelle 3.
Analysenergebnisse.

| Blattfarbstoffe | eingewogen in mg | gefunden in mg | Differenz | |
|---------------------|---------------------|-------------------|-----------|--------|
| | | | in mg | in % |
| <i>1. Analyse.</i> | | | | |
| Chlorophyll a . . . | 1,21 | 1,15 | — 0,06 | — 4,96 |
| Chlorophyll b . . . | 2,51 | 2,64 | + 0,13 | + 5,18 |
| Carotin | 0,64 | 0,67 | + 0,03 | + 4,69 |
| Xanthophyll . . . | 0,75 | 0,74 | — 0,01 | — 1,33 |
| <i>2. Analyse.</i> | | | | |
| Chlorophyll a . . . | 2,51 | 2,40 | — 0,11 | — 4,38 |
| Chlorophyll b . . . | 1,32 | 1,41 | + 0,09 | + 6,82 |
| Carotin | 1,24 | 1,32 | + 0,08 | + 6,45 |
| Xanthophyll . . . | 0,65 | 0,63 | — 0,02 | — 3,08 |
| <i>3. Analyse.</i> | | | | |
| Chlorophyll a . . . | 1,52 | 1,58 | + 0,06 | + 3,97 |
| Chlorophyll b . . . | 2,14 | 2,05 | — 0,09 | — 4,21 |
| Carotin | 0,98 | 0,94 | — 0,04 | — 4,08 |
| Xanthophyll . . . | 0,95 | 1,00 | + 0,05 | + 5,26 |
| <i>4. Analyse.</i> | | | | |
| Chlorophyll a . . . | 2,86 | 2,69 | — 0,17 | — 5,94 |
| Chlorophyll b . . . | 1,21 | 1,30 | + 0,09 | + 7,44 |
| Carotin | 1,56 | 1,50 | — 0,06 | — 3,85 |
| Xanthophyll . . . | 1,02 | 1,06 | + 0,04 | + 3,92 |
| <i>5. Analyse.</i> | | | | |
| Chlorophyll a . . . | 6,85 | 6,57 | — 0,28 | — 4,09 |
| Chlorophyll b . . . | 6,93 | 7,29 | + 0,36 | + 5,19 |
| Carotin | 2,87 | 3,02 | + 0,15 | + 5,23 |
| Xanthophyll . . . | 2,25 | 2,15 | — 0,10 | — 4,44 |
| <i>6. Analyse.</i> | | | | |
| Chlorophyll a . . . | 3,25 | 3,52 | + 0,27 | + 8,31 |
| Chlorophyll b . . . | 1,26 | 1,19 | — 0,07 | — 5,55 |
| Carotin | 1,65 | 1,56 | — 0,09 | — 5,45 |
| Xanthophyll . . . | 2,12 | 2,27 | + 0,15 | + 7,08 |
| <i>7. Analyse.</i> | | | | |
| Chlorophyll a . . . | 1,35 | 1,23 | — 0,11 | — 8,15 |
| Chlorophyll b . . . | 2,47 | 2,60 | + 0,13 | + 5,26 |
| Carotin | 1,12 | 1,21 | + 0,09 | + 8,04 |
| Xanthophyll . . . | 1,34 | 1,42 | + 0,08 | + 5,97 |

2. Spektrophotometrische Bestimmung der Komponenten: Chlorophyll a, Chlorophyll b und (Carotin + Xanthophyll) im Blattfarbstoffgemisch.

Die Bestimmung von Chlorophyll a und b entspricht auch hier der im vorhergehenden Abschnitt beschriebenen Untersuchungsweise. Nach der Bestimmung der Chlorophylle wird der Gehalt an Carotin + Xanthophyll (Carotinoidgehalt) durch die im folgenden beschriebene Auswertung der $E(\lambda)$ Kurve des Gemisches ermittelt.

Für $\lambda > 5200 \text{ \AA}$ entspricht jeder Punkt dieser Kurve der Summe der Einzelextinktionen der vier gelösten Stoffe. Nachdem die Konzentration der Chlorophylle bekannt ist, können deren ϵc Werte für das betreffende Gemisch auf Grund der Fig. 15 und 17 innerhalb des sichtbaren Spektrums berechnet werden. Subtrahiert man von der Gesamtextinktion $E(\lambda)$ des Gemisches den auf diese Weise erhaltenen Anteil, so entspricht der Restbetrag $(\epsilon_3 c_3)$ Carotin + $(\epsilon_4 c_4)$ Xanthophyll dem Carotinoidgehalt des Gemisches.

Für das vorhin behandelte Beispiel ergibt sich nach Methode II folgende Berechnung :

Analyse nach Methode II.

Die Konzentration der Chlorophylle ermittelt man wie nach der ersten Methode zu :

| | |
|-------------------------|----------------|
| Chlorophyll a | 1/137,290 mol. |
| Chlorophyll b | 1/124,450 mol. |

Zur Berechnung der ϵc Werte der beiden Chlorophylle wählten wir Messpunkte in der Nähe von $\lambda = 4500 \text{ \AA}$, in welchem Gebiet Carotin und Xanthophyll starke Absorptionsmaxima aufweisen. Im vorliegenden Beispiel betrug die Gesamtextinktion E des Gemisches bei 4500 \AA 2,223 (siehe Fig. 24). Von diesem Wert wird die Summe $(\epsilon_1 c_1 + \epsilon_2 c_2)$ der Chlorophylle subtrahiert.

| | |
|---|---|
| Chlorophyll a | $\epsilon_1 c_1 = 0,057$ |
| Chlorophyll b | $\epsilon_2 c_2 = 0,822$ |
| Chlorophyll (a + b) | $\epsilon_1 c_1 + \epsilon_2 c_2 = 0,879$ |
| E Gemisch = $(\epsilon_1 c_1 + \epsilon_2 c_2 + \epsilon_3 c_3 + \epsilon_4 c_4)$ | = 2,223 |

Dem Carotinoidgehalt des Gemisches entspricht :

$$E_{\text{Gemisch}} - (\epsilon_1 c_1 + \epsilon_2 c_2) = \epsilon_3 c_3 + \epsilon_4 c_4 = E_{\text{Carotinoid}} = 1,344$$

Um aus dieser Grösse den Gehalt des Gemisches an Carotin und Xanthophyll in approximativer Weise berechnen zu können, ist die ungefähre Kenntnis des Verhältnisses des Carotiningehaltes zum Xanthophyllgehalt erforderlich. Mit Hilfe der Methode I bestimmten wir in Auszügen von Tabakblättern dieses Verhältnis für verschiedene Zeitpunkte der Vegetationsperiode.

Das (fiktive) *molekulare* $E_{\text{Carotinoid}}$ eines Gemisches, das Carotin ($\epsilon_3 = 125,900$) und Xanthophyll ($\epsilon_4 = 151,400$) im Verhältnis $a : b$ enthält, beträgt :

$$\frac{\epsilon_3 \cdot a + \epsilon_4 \cdot b}{a + b}$$

Für das (fiktive) *Molekulargewicht* dieses Gemisches von Carotin ($M = 536$) und Xanthophyll ($M = 568$) gilt entsprechenderweise :

$$M_{\text{Carotinoid}} = \frac{536 a + 568 b}{a + b}$$

Mit Hilfe dieser Beziehungen lässt sich die molare Konzentration des Carotinoidgemisches berechnen.

Mittelst der Methode I fanden wir :

$$a : b = 3 : 2, \text{ woraus}$$

$$\epsilon_{\text{Carotinoid}} = \frac{125900 \cdot 3 + 151400 \cdot 2}{5} = 134100.$$

Der oben erhaltene Ausdruck $E_{\text{Carotinoid}} = 1,344$ lässt sich, falls man dem Carotinoidgemisch die mol. Extinktion $\epsilon_{\text{Carotinoid}}$ und das Molekulargewicht $M_{\text{Carotinoid}}$ auf die beschriebene Art zuordnet, als Produkt von $\epsilon_{\text{Carotinoid}}$ und der mol. Konzentration $c_{\text{Carotinoid}}$ auffassen. Die letztere Grösse beträgt demnach :

$$c_{\text{Carotinoid}} = \frac{E_{\text{Carotinoid}}}{\epsilon_{\text{Carotinoid}}} = \frac{1,344}{134100} = 1/99776 \text{ mol.}$$

Das mittlere Molekulargewicht des Carotinoidgemisches beträgt :

$$\frac{536 \cdot 3 + 568 \cdot 2}{5} = 548$$

und man erhält schliesslich für den Carotinoidgehalt desselben den Wert von $5,48 \text{ mg}$ (Einwage = $5,12 \text{ mg}$).

Die in Tabelle 3 angeführten Farbstoffgemische sind auch nach dieser Methode analysiert worden. Da die Berechnung der Chlorophylle in beiden Fällen die gleiche ist, seien in folgender Tabelle nur die Ergebnisse der Carotinoidbestimmungen zusammengestellt.

Tabelle 4.
Analysenergebnisse.

| Blattfarbstoffe | eingewogen in mg | gefunden in mg | Differenz | |
|--|---------------------|-------------------|-----------|--------|
| | | | in mg | in % |
| 1. <i>Analyse</i> Carotin + Xanthophyll | 1,39 | 1,30 | — 0,09 | — 6,47 |
| 2. <i>Analyse</i> Carotin + Xanthophyll | 1,89 | 2,02 | + 0,13 | + 6,88 |
| 3. <i>Analyse</i> Carotin + Xanthophyll | 1,93 | 1,87 | — 0,06 | — 3,11 |
| 4. <i>Analyse</i> Carotin + Xanthophyll | 2,58 | 2,75 | + 0,17 | + 6,59 |
| 5. <i>Analyse</i> Carotin + Xanthophyll | 5,12 | 5,48 | + 0,23 | + 7,03 |
| 6. <i>Analyse</i> Carotin + Xanthophyll | 3,77 | 3,54 | — 0,23 | — 6,10 |
| 7. <i>Analyse</i> Carotin + Xanthophyll | 2,46 | 2,25 | — 0,21 | — 8,54 |

E. Anwendung der beschriebenen Methoden zur Blattfarbstoffbestimmung in Tabakblättern.

Um den Farbstoffgehalt in Prozenten der Blattfläche ausdrücken zu können, stanzen wir 10 Proben zu 20 cm² Oberfläche aus den noch am Stengel befindlichen Blättern. Die so erhaltene Blattfläche von 200 cm² wurde jeweils für eine Analyse verwendet.

Die Extraktion der Blattfarbstoffe erfolgte nach der Methode von Willstätter und Stoll.¹ Die Blattausschnitte wurden sorgfältig gereinigt und in einem Mörser unter Zugabe von etwas Calciumcarbonat (zur Neutralisation der Pflanzensäuren) mit 20 ccm 40 vol. prozentigem Aceton und wenig Quarzsand fein zerrieben. Den dünnen Brei spülten wir mit weiteren 50 ccm 40 vol. prozentigem Aceton auf eine Nutsche (gehärtetes Filter und Talkmehlschicht), saugten scharf ab, worauf die Blattsubstanz mit 50 ccm 30—35prozentigem Aceton vollends vor-extrahiert wurde. Sobald das wässerige Aceton farblos ablief, wurde mit der Extraktion der Blattfarbstoffe begonnen. Der Vorextrakt ist nicht weiter verarbeitet worden. Wir extrahierten mit 100 ccm reinem und darauffolgend mit einer geringen Menge 90 vol. prozentigem Aceton. Zum Schluss der Extraktion lief das Filtrat vollkommen klar ab. Die verwendeten Lösungsmittel sind der Blattmasse in möglichst klei-

¹ loc. cit. S. 11.

nen Portionen unter fortwährendem Macerieren zugesetzt worden. Auf diese Weise gelingt es, mit etwa 100 ccm Extraktionsflüssigkeit sämtliche Farbstoffe zu extrahieren. Die Blattsubstanz bleibt vollständig entfärbt auf der Nutsche zurück. Der Acetonextrakt wird mit Äther vermischt und hierauf das Aceton durch 5—8maliges Waschen mit Wasser entfernt. Die so erhaltene ätherische Lösung der Blattfarbstoffe wird auf ein Volumen von 100 ccm gebracht und ist dann zur spektrophotometrischen Aufnahme bereit.

Für Untersuchungen, bei denen es nötig war, an ein und demselben Tage mehrere Analysen auszuführen, verwendeten wir die in experimenteller Hinsicht einfachere Methode II. Die Methode I ist hauptsächlich für die Bestimmung des Verhältnisses $a : b$ (vgl. S. 48 und 49) angewendet worden.

Die beschriebenen Methoden der Blattfarbstoffanalyse weisen in ihrer Anwendung auf die im zweiten Teil der Arbeit behandelten Fragen folgende Vorzüge gegenüber den chemischen Methoden auf :

1. Möglichkeit der Anwendung bei geringen Mengen von Ausgangsmaterial.
2. Praktisch hinreichende Genauigkeit bei der Verarbeitung grosser sowie auch kleiner Mengen von Blattsubstanz.
3. Durchführbarkeit einer grösseren Anzahl von Analysen am gleichen Tag.
4. Möglichkeit der nachträglichen Kontrolle der photographisch festgehaltenen Ergebnisse.

II. Experimenteller Teil.

A. Blattfarbstoffzusammensetzung bei gelb- und grünblättrigem Tabak im Verlaufe der Vegetationsperiode.

1. Untersuchungsmaterial.

a) Saatgut.

Für die folgenden, sich hauptsächlich mit den Blattfarbstoffverhältnissen in gelben und grünen Tabakblättern befassenden Versuche wurde von den in der Schweiz angebauten Tabaksorten White Burley als Vertreter gelbblättriger und Ammersforter als Vertreter grünblättriger Varietäten gewählt.

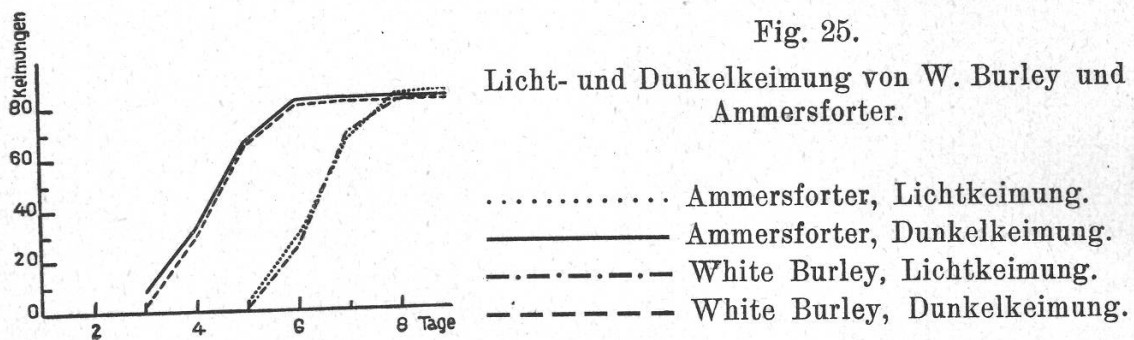
Bei den ersten Anbauversuchen im Jahre 1931 zeigte sich, dass das von schweizerischen Tabakbauern bezogene W. Burley-Saatgut für unsere Zwecke nicht verwendet werden konnte. Die Pflanzungen zeigten ein Hybriden-Gemisch, in dem reine W. Burley-Pflanzen nur vereinzelt auftraten. Dieser rein visuelle Befund bestätigte sich durch die gefundenen Variationskurven, die für Pflanzenhöhe, Blattlänge und -breite zweigipflige Kurven ergaben.

Von Herrn B o l e n s , Direktor des Instituts Mt. Calme in Lausanne, erhielten wir im folgenden Jahr Original-W. Burley- und Ammersfortersaatgut, das unsern Anforderungen an Sortenreinheit entsprach.

Das Tausendkorngewicht des Originalsaatgutes betrug :

| | |
|------------------------|----------|
| Ammersforter | 0,0856 g |
| White Burley | 0,0672 g |

Da die einzelnen Tabakarten und -varietäten bei der Keimung auf Licht und Dunkel verschieden reagieren,¹ haben wir die Keimfähigkeit und Keimungsenergie bei unseren beiden Varietäten im Licht und Dunkel bestimmt.



Aus den Kurven geht mit Deutlichkeit hervor, dass das Licht auf die Keimfähigkeit (83 %) keinen Einfluss ausübt, während die Keimungsenergie durch Belichtung bei beiden Sorten etwa im gleichen Masse vermindert wird.

Der rasche Pilzbefall der gekeimten Samen veranlasste uns, eine Desinfizierung des Saatgutes vorzunehmen.

Die Samen wurden mit steigenden Konzentrationen von HgCl und AgNO₃ desinfiziert und gelangten auf sterilen Tonplatten in Petrischalen zur Keimung. Die besten Resultate wurden bei 5 Minuten langer Behandlung mit 1 ‰ AgNO₃ erzielt. Eine Beeinträchtigung der Keimfähigkeit gegenüber Parallelversuchen mit unbehandelten Samen war nicht festzustellen. Die Keimungsenergie wurde bei beiden Sorten durch die Behandlung mit AgNO₃ stimuliert. Nach dreiwöchiger Versuchsdauer waren alle sterilisierten Kulturen noch keimfrei, während die unbehandelten Parallelversuche stark unter Pilzbefall gelitten hatten.

b) Aufzucht der Tabakpflanzen.

Desinfiziertes Saatgut beider Sorten wurde am 26. März 1932 in heizbare Mistbeetkästen ausgesät. Das Verhalten der Pflänzchen wurde bei drei verschiedenen Temperaturen beobachtet.

¹ Honing, J. A., Bot. Zeitschr. 47, 1918, S. 21 ff.

Die Keimungsenergie oder Keimungsgeschwindigkeit bis zum Durchbrechen der Erde betrug bei folgenden Mitteltemperaturen :

| | 23° C | 19° C | 17° C |
|--------------|---------|---------|---------|
| Ammersforter | 9 Tage | 10 Tage | 10 Tage |
| White Burley | 10 Tage | 11 Tage | 13 Tage |

Die Keimungsenergie von White Burley war somit bei allen angewandten Temperaturen geringer und sank mit fallender Wärme stärker als die Keimungsgeschwindigkeit von Ammersforter.

Nach 20 Tagen macht sich zwischen W. Burley und Ammersforter bereits bei allen Temperaturen ein deutlicher Unterschied in der Farbe bemerkbar. Die White Burley-Pflanzen zeigen ein helleres Grün als die unter denselben Bedingungen gewachsenen Ammersforter-Setzlinge. Ein Unterschied in der Farbe zwischen den einzelnen Temperaturstufen ist bei White Burley ebenfalls festzustellen. Während Ammersforter bei allen Temperaturen dieselbe grüne Farbe aufweist, nimmt die hellgrüne Farbe der White Burley-Pflanzen von 23° C bis 19° C ab und geht bei 17° C in eine gelbliche Färbung über. Merkwürdigerweise konnten wir kein ganz gelbes Pflänzchen finden; entweder waren die ersten Blattanlagen grün und die Keimblätter gelb, oder es fanden sich, was weniger häufig der Fall war, grüne Keimblätter und gelbe Blattanlagen.

Das Abnehmen der grünen Blattfarbe von White Burley bei sinkenden Temperaturen veranlasste uns, Messungen der bei verschiedenen Temperaturen gewachsenen Blätter vorzunehmen. Von je 300 Pflanzen wurde mit der Schublehre die Länge der ersten beiden Blätter gemessen. Die Resultate sind in Fig. 26 und 27 zusammengestellt.

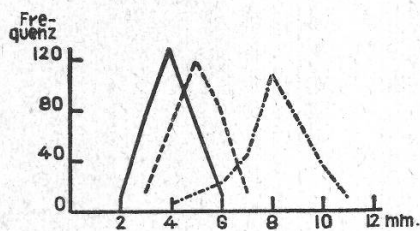


Fig. 26.

Blattlänge White Burley.

— 17° C.
 - - - 19° C.
 - . . . 23° C.

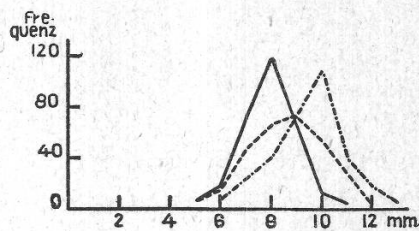


Fig. 27.

Blattlänge Ammersforter.

— 17° C.
 - - - 19° C.
 - . . . 23° C.

Die Mittelwerte der einzelnen Kurven betragen :

| | 23° C | 19° C | 17° C |
|----------------|-----------|-----------|-----------|
| Ammersforter : | 9,5733 mm | 8,6300 mm | 7,9167 mm |
| White Burley : | 8,0200 mm | 5,0400 mm | 3,9933 mm |

Die Wachstumsdifferenzen bei den drei Temperaturstufen sind demnach :

| | 23—19° C | 19—17° C | 23—17° C |
|----------------|-----------|-----------|-----------|
| Ammersforter : | 0,9433 mm | 0,7133 mm | 1,6566 mm |
| White Burley : | 2,9800 mm | 1,0467 mm | 4,0267 mm |

Analog der Keimungsenergie nimmt auch die Blattgrösse mit fallender Temperatur bei beiden Sorten ab. W. Burley wird bei denselben Temperaturunterschieden jedoch weit stärker betroffen. Mit einer Hemmung des Wachstums durch äussere Faktoren findet gleichzeitig eine Vergilbung der Blätter statt; eine Tatsache, die sich bei späteren Versuchen an grösseren Pflanzen genauer nachweisen liess.

Anfangs Mai wurden die Pflanzen pikiert und je 300 davon Mitte Juni ins Freie gesetzt, um später das Material zur Untersuchung der Blattfarbstoffe erntereifer Blätter zu liefern.

c) Sortenreinheit.

1932 zeigten die Bestände bei beiden Sorten eine grosse Ausgeglichenheit, was durch die Variationskurven für Kapselgewicht und Pflanzenhöhe bestätigt wurde.

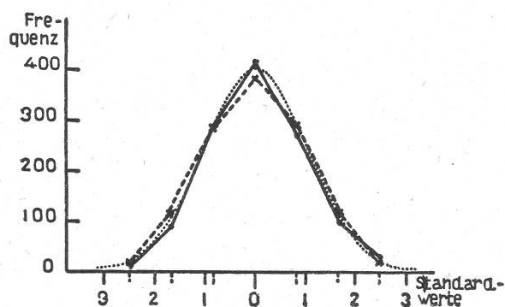


Fig. 28.
Höhe (Ammersforter).

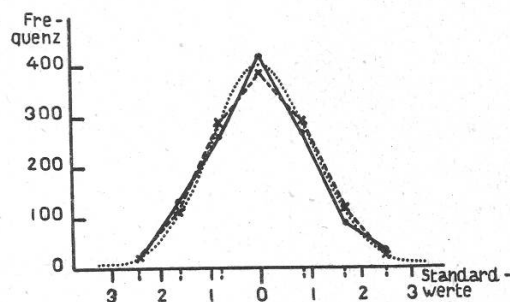


Fig. 31.
Höhe (White Burley).

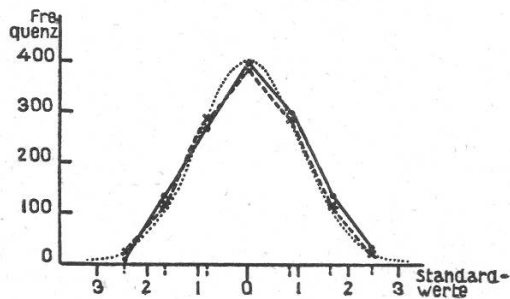


Fig. 29.
Kapseln (Ammersforter).

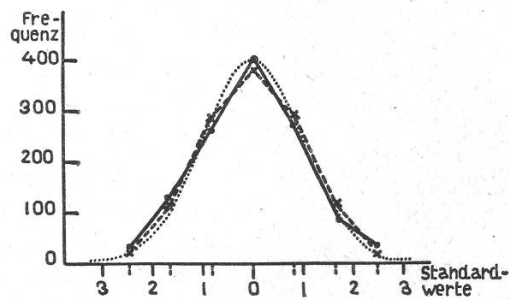


Fig. 30.
Kapseln (White Burley)

• • • • • Ideale
 - - - - - $(1+1)^6$ } Kurve
 ——— Empir. }

• • • • • Ideale
 - - - - - $(1+1)^6$ } Kurve
 ——— Empir. }

In Figur 28—31 sind die Variationskurven der erwähnten Eigenschaften beider Sorten mit der idealen Verteilungskurve und der binominalen Kurve verglichen. Zu diesem Zweck wird zuerst der Mittelwert berechnet, daraus die Standardabweichung ermittelt, um den Klassen spielraum in Standardwerten festlegen zu können.¹ Dieses Vorgehen erlaubt uns den graphischen Vergleich der gefundenen empirischen Variationskurve mit der idealen Verteilungskurve und dem dazugehörigen Binom.

Die empirischen Kurven zeigen in allen Fällen eine gute Übereinstimmung mit der idealen Verteilungskurve und bestätigen die Ausgeglichenheit des Untersuchungsmaterials in messbaren Grössen.

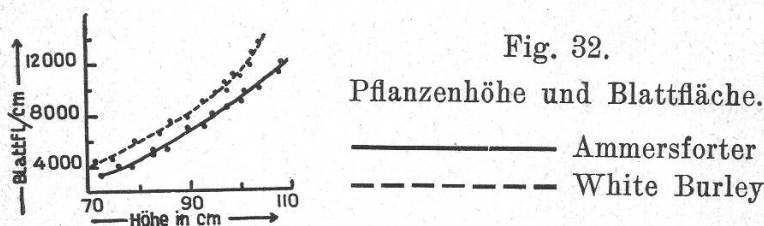
2. Blattfarbstoffanalysen in erntereifen Tabakblättern.

a) Einfluss der Pflanzengrösse.

Als erntereif werden Tabakblätter bezeichnet, bei denen die Blattspitzen sich zu verfärben beginnen. Wurden solche Blätter von verschiedenen Pflanzen auf ihre Blattfarbstoffzusammensetzung untersucht und miteinander verglichen, so zeigten sich grosse Unterschiede in ihrem Chlorophyllgehalt. Erst bei Einteilung der Pflanzen nach der Grösse ihrer Blattfläche in verschiedene Klassen, war innerhalb der einzelnen Klassen eine Übereinstimmung der Blattfarbstoffzusammensetzung festzustellen.

Die nachfolgenden Tabellen geben über die Abhängigkeit der Blattfarbstoffzusammensetzung von der Blattgrösse der Pflanzen Aufschluss. Die Blattfläche wurde mit einem Planimeter von Amsler ausgemessen. Als Anhaltspunkt zur Flächenberechnung diente die Pflanzenhöhe.

Die Beziehung zwischen Pflanzenhöhe und Blattfläche ist für beide Sorten in Fig. 32 zusammengestellt.



Die Variationsbreite der Blattfläche beträgt für

| | |
|------------------------|----------------------------|
| Ammersforter | 9800 cm ² , für |
| White Burley | 9950 cm ² . |

Bei einem Klassenspielraum von 1500 cm² entstehen beiderseits sieben Klassen. Wir untersuchten bei beiden Sorten die 1., 4. und

¹ Kronacher, C., Biometrik. P. Parey, Berlin 1930.

7. Klasse auf ihre Blattfarbstoffzusammensetzung. Da die Farbe des Blattes in der Hauptsache durch den Farbstoffgehalt je Flächeneinheit bedingt ist und die Verwendung von Prozentzahlen (bezogen auf Asche oder Trockensubstanz) Fehler in sich schliesst, sobald zu verschiedenen Zeiten entnommene Blattproben auf eine Zu- oder Abnahme der in Frage kommenden Stoffe verglichen werden,¹ wurden die Farbstoffkonzentrationen immer auf Einheiten der Blattfläche berechnet.

1. Ammersforter-Tabak, Blattgrössen-Klassen : 1, 4 und 7.

Tabelle 5.

Erste Klasse (Klassenspielraum 2000—3500 cm²).

| Vers.-Pfl. Nr. | Blattfläche cm ² | Höhe cm | Chlorophyll a mg/qm | Chlorophyll b mg/qm | Carotin mg/qm | Xanthophyll mg/qm |
|----------------|-----------------------------|---------|---------------------|---------------------|---------------|-------------------|
| 17 | 2800 | 73 | 27,42 | 9,80 | 3,65 | 11,62 |
| 18 | 3250 | 75 | 28,35 | 10,02 | 3,53 | 10,74 |
| 82 | 2500 | 73 | 28,92 | 10,48 | 3,48 | 10,52 |
| 116 | 3100 | 74 | 26,43 | 9,45 | 3,52 | 10,55 |
| 205 | 2350 | 71 | 27,32 | 10,05 | 3,47 | 10,25 |
| 276 | 3050 | 73 | 28,65 | 10,12 | 3,74 | 11,32 |
| Mittel | 2842 | 73,2 | 27,85 | 9,99 | 3,57 | 10,83 |

Tabelle 6.

Vierte Klasse (Klassenspielraum 6500—8000 cm²).

| Vers.-Pfl. Nr. | Blattfläche cm ² | Höhe cm | Chlorophyll a mg/qm | Chlorophyll b mg/qm | Carotin mg/qm | Xanthophyll mg/qm |
|----------------|-----------------------------|---------|---------------------|---------------------|---------------|-------------------|
| 20 | 7300 | 94 | 30,02 | 10,43 | 3,85 | 11,75 |
| 21 | 7150 | 94 | 28,24 | 10,15 | 3,42 | 10,25 |
| 23 | 6890 | 93 | 29,65 | 10,21 | 3,38 | 10,13 |
| 25 | 7350 | 95 | 29,53 | 10,74 | 3,32 | 10,20 |
| 28 | 6800 | 94 | 28,95 | 10,42 | 3,53 | 10,51 |
| 31 | 7400 | 94 | 29,42 | 10,32 | 3,64 | 10,92 |
| Mittel | 7148 | 94 | 29,30 | 10,38 | 3,52 | 10,63 |

Tabelle 7.

Siebte Klasse (Klassenspielraum 11,000—12,500 cm²).

| Vers.-Pfl. Nr. | Blattfläche cm ² | Höhe cm | Chlorophyll a mg/qm | Chlorophyll b mg/qm | Carotin mg/qm | Xanthophyll mg/qm |
|----------------|-----------------------------|---------|---------------------|---------------------|---------------|-------------------|
| 7 | 12,200 | 108 | 38,88 | 14,35 | 4,47 | 12,15 |
| 36 | 11,850 | 107 | 37,27 | 13,29 | 4,26 | 12,12 |
| 37 | 11,530 | 107 | 38,32 | 13,72 | 4,32 | 12,02 |
| 80 | 12,150 | 109 | 38,96 | 14,41 | 4,37 | 11,96 |
| 113 | 11,750 | 106 | 39,62 | 14,29 | 4,57 | 12,21 |
| 158 | 12,360 | 106 | 39,17 | 13,96 | 4,41 | 12,07 |
| Mittel | 11,973 | 107 | 38,70 | 14,00 | 4,40 | 12,06 |

¹ Swart, N., Die Stoffwanderung in ablebenden Blättern. Jena 1914, S. 2.

2. *White Burley-Tabak, Blattgrößen-Klassen: 1, 4 und 7.*

Tabelle 8.

Erste Klasse (Klassenspielraum 4000—5500 cm²).

| Vers.-Pfl. Nr. | Blattfläche cm ² | Höhe cm | Chlorophyll a mg/qm | Chlorophyll b mg/qm | Carotin mg/qm | Xanthophyll mg/qm |
|----------------|-----------------------------|---------|---------------------|---------------------|---------------|-------------------|
| 16 | 5150 | 74 | 3,00 | 1,17 | 2,01 | 10,75 |
| 34 | 4580 | 72 | 3,18 | 1,14 | 2,12 | 11,42 |
| 95 | 5250 | 76 | 3,20 | 1,20 | 2,09 | 10,65 |
| 111 | 4820 | 73 | 3,55 | 1,21 | 1,98 | 10,74 |
| 143 | 5210 | 77 | 3,19 | 1,26 | 2,15 | 11,62 |
| 148 | 4760 | 76 | 3,28 | 1,07 | 2,05 | 10,48 |
| Mittel | 4961 | 74,7 | 3,23 | 1,18 | 2,07 | 10,94 |

Tabelle 9.

Vierte Klasse (Klassenspielraum 8500—10,000 cm²).

| Vers.-Pfl. Nr. | Blattfläche cm ² | Höhe cm | Chlorophyll a mg/qm | Chlorophyll b mg/qm | Carotin mg/qm | Xanthophyll mg/qm |
|----------------|-----------------------------|---------|---------------------|---------------------|---------------|-------------------|
| 3 | 8950 | 92 | 3,82 | 1,39 | 2,39 | 11,96 |
| 5 | 9550 | 94 | 3,31 | 1,34 | 2,27 | 10,94 |
| 6 | 8750 | 92 | 3,82 | 1,33 | 2,35 | 11,68 |
| 9 | 9540 | 95 | 3,74 | 1,28 | 2,29 | 11,05 |
| 12 | 9120 | 93 | 3,68 | 1,30 | 2,40 | 11,28 |
| 15 | 9340 | 91 | 3,65 | 1,27 | 2,37 | 10,50 |
| Mittel | 9208 | 92,8 | 3,67 | 1,32 | 2,35 | 11,24 |

Tabelle 10.

Siebente Klasse (Klassenspielraum 13,000—14,500 cm²).

| Vers.-Pfl. Nr. | Blattfläche cm ² | Höhe cm | Chlorophyll a mg/qm | Chlorophyll b mg/qm | Carotin mg/qm | Xanthophyll mg/qm |
|----------------|-----------------------------|---------|---------------------|---------------------|---------------|-------------------|
| 2 | 13,450 | 105 | 5,74 | 2,11 | 3,51 | 11,35 |
| 18 | 14,050 | 103 | 5,83 | 2,12 | 3,53 | 11,52 |
| 27 | 13,850 | 104 | 5,85 | 2,12 | 3,17 | 10,31 |
| 76 | 14,250 | 104 | 5,63 | 2,04 | 3,41 | 10,98 |
| 95 | 13,450 | 102 | 5,92 | 2,16 | 3,62 | 11,50 |
| 118 | 14,270 | 104 | 5,72 | 2,10 | 3,41 | 11,42 |
| Mittel | 13,887 | 103,7 | 5,78 | 2,11 | 3,44 | 11,18 |

Tabelle 11.

Zusammenstellung der Mittelwerte.

1. Ammersforter.

| Klasse | Chlorophyll a mg/qm | Chlorophyll b mg/qm | Ges. Chlorophyll mg/qm | Q $\frac{a}{b}$ | Carotin mg/qm | Xanthophyll mg/qm | Ges. Carotinoide mg/qm | Q $\frac{C}{X}$ |
|--------|---------------------|---------------------|------------------------|-----------------|---------------|-------------------|------------------------|-----------------|
| 1 | 27,85 | 9,99 | 37,84 | 2,79 | 3,57 | 10,83 | 14,40 | 0,33 |
| 4 | 29,30 | 10,38 | 39,68 | 2,82 | 3,52 | 10,63 | 14,15 | 0,33 |
| 7 | 38,70 | 14,00 | 52,70 | 2,76 | 4,40 | 12,06 | 16,46 | 0,37 |

2. White Burley.

| Klasse | Chlorophyll a mg/qm | Chlorophyll b mg/qm | Ges. Chlorophyll mg/qm | $Q \frac{a}{b}$ | Carotin mg/qm | Xanthophyll mg/qm | Ges. Carotinoide mg/qm | $Q \frac{C}{X}$ |
|--------|------------------------|------------------------|---------------------------|-----------------|------------------|----------------------|---------------------------|-----------------|
| 1 | 3,23 | 1,18 | 4,41 | 2,74 | 2,07 | 10,94 | 13,01 | 0,19 |
| 4 | 3,67 | 1,32 | 4,99 | 2,78 | 2,35 | 11,24 | 13,59 | 0,21 |
| 7 | 5,78 | 2,11 | 7,85 | 2,74 | 3,44 | 11,18 | 14,62 | 0,31 |

Bei gleicher Blattfläche zeigen alle Blätter einer gegebenen Rasse eine grosse Übereinstimmung ihres Farbstoffgehaltes. Mit steigender Blattfläche ist bei Ammersforter eine Zunahme des Chlorophylls um 39,3%, bei White Burley um 78,0% festzustellen. Die Carotinoide beider Pflanzen zeigen ungefähr dasselbe Verhalten: zwischen Pflanzen mit kleinster und mittlerer Blattfläche gibt es keinen Unterschied und einen ansteigenden Wert bei Pflanzen mit grösster Blattfläche.

Das Verhältnis von $\frac{\text{Chlorophyll a}}{\text{Chlorophyll b}}$ schwankt zwischen den Werten 2,74—2,82.

Der Quotient $\frac{\text{Carotin}}{\text{Xanthophyll}}$ sinkt bei beiden Sorten mit dem Fallen der Blattfläche und erreicht die kleinsten Werte von 0,21 und 0,19 bei White Burley.

b) Ursachen der hellgelben Farbe bei erntereifen Blättern von White Burley.

Im weiteren Verlauf der Arbeit werden nur noch Blätter von Pflanzen der mittleren Blattflächenklassen untersucht. Die bei ihnen festgestellten Veränderungen der Blattfarbstoffzusammensetzung dürfen als die für die betreffenden Sorten charakteristischen normalen Vergilbungserscheinungen betrachtet werden. Das verschiedene Verhalten der Plus- und Minusvarianten ist auf Einflüsse äusserer Faktoren, die im Feldversuch nicht konstant gehalten werden können, zurückzuführen.

Eine Gegenüberstellung der Blattfarbstoffanalysen normal vergilbter erntereifer Blätter beider Sorten zeigt, was anzunehmen war, einen grossen Unterschied im Chlorophyllgehalt.

| | Ammersforter | White Burley |
|-----------------------------|--------------|--------------|
| Chlorophyll a | 29,30 mg/qm | 3,67 mg/qm |
| Chlorophyll b | 10,38 " | 1,32 " |
| Gesamtchlorophyll | 39,68 " | 4,99 " |
| $Q \frac{a}{b}$ | 2,82 " | 2,78 " |
| Carotin | 3,52 " | 2,35 " |
| Xanthophyll | 10,63 " | 11,24 " |
| Gesamtcarotinoide | 14,15 " | 13,59 " |
| $Q \frac{c}{x}$ | 0,33 " | 0,21 " |

Im Zeitpunkt der Ernte enthält unser grünes Ammersforterblatt achtmal mehr Chlorophyll als das sich im gleichen Reifestadium befindliche gelbe White Burley-Blatt. Die Carotinoide sind bei beiden Blättern etwa gleich stark vertreten.

Der Quotient $\frac{\text{Chlorophyll a}}{\text{Chlorophyll b}}$ bleibt unverändert; derjenige von $\frac{\text{Carotin}}{\text{Xanthophyll}}$ zeigt bei den gelben Blättern eine Abnahme als Folge des geringeren Carotingehaltes.

Ob eine achtfache Verdünnung des Chlorophylls allein für den Umschlag der Blattfarbe von hellgrün bis gelb verantwortlich gemacht werden kann, schien uns fraglich. Da der Abtransport des Chlorophylls in den Blattnerven verfolgt werden kann, trennten wir in Blattproben gelber Blätter die Nerven vom Blattgewebe, brachten Nerven und Blattspreiten getrennt zur Untersuchung und fanden 70—100 % des vorhandenen Chlorophylls in den Blattnerven.

Von verschiedenen Autoren¹ werden die bei der Extraktion im Vorextrakt erhaltenen Farbstoffe für die Gelbfärbung des Blattes mitverantwortlich gemacht. Bei White Burley treten neben hellgelben Blättern oft Blätter auf, die gar keine Farbstoffe mehr zu besitzen scheinen. Auszüge von solchen farblosen Blättern enthielten ebensoviel wasserlösliche Farbstoffe als die aus gelben Blättern. Da die ersteren Blätter trotzdem keine Farbe besitzen, so ist anzunehmen, dass die braunen wasserlöslichen Farbstoffe im Verlaufe der Extraktion aus ursprünglich farblosen Stoffen hervorgehen. Unterstützt wird diese Annahme durch die Tatsache, dass bei längerer Extraktionszeit eine beträchtliche Zunahme der wasserlöslichen Farbstoffe festzustellen ist. Eine Beteiligung dieser Farbstoffe an der Gelbfärbung unserer Blätter ist somit ausgeschlossen.

Wir kommen zum Schluss, dass der grosse Unterschied der Blattfarbe erntereifer White Burley- und Ammersforter-Blätter durch den beinahe vollständigen Chlorophyllrückzug aus den Blattspreiten der White Burley-Pflanzen entsteht.

Derselbe Carotinoidgehalt, der bei White Burley die Farbe verursacht, wird bei Ammersforter durch das noch vorhandene Chlorophyll verdeckt.

¹ Willstätter, R. und Stoll, A., Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. S. 29. 1918. — Lubimenko, W., Über die Verwandlung der Plastidenfarbstoffe im lebenden Pflanzengewebe. 1916. (Russisch.) — Görrig, E., Carotin und Xanthophyll. Diss. Essen 1917.

3. Veränderungen der Blattfarbstoffzusammensetzung und das Wachstum der Pflanzen im Laufe der Vegetationsperiode.

a) Versuchsanordnung.

Einem Tabakblatt konnten im Verlaufe einer Vegetationsperiode mit einem 20 cm² umfassenden Ausstechring nicht mehr als zwei bis drei Blattproben entnommen werden, ohne eine sichtbare schädigende Wirkung auf das Blatt auszuüben. Dass eine Verminderung der Blattfläche auch die übrigen Blätter in ihrem Stoffwechsel beeinflusst, haben Versuche von W. Saposchnikoff,¹ P. Sorauer² und S. Rywosch³ bewiesen. Wir waren somit gezwungen, unsere Blattproben verschiedenen Pflanzen zu entnehmen. Diese Versuchsanordnung, bei der die Veränderungen im Laufe der Vegetationsperiode nicht am selben Blatt festgestellt werden können, sondern an analogen Blättern verschiedener Pflanzen, ist von den durch äussere Faktoren hervorgerufenen Unterschieden der einzelnen Individuen abhängig und somit fehlerhaft. Dass beträchtliche Farbunterschiede vorkommen, haben wir bereits festgestellt, aber gleichzeitig bemerkt, dass diese Unterschiede an die Wuchskraft und der damit zusammenhängenden Blattflächengrösse gebunden sind, innerhalb bestimmter Blattflächengrenzen aber äusserst geringe Abweichungen zeigen. Um die Fehler auf ein mögliches Minimum zu beschränken, wählten wir zur Untersuchung nur Pflanzen mit mittlerer Wuchskraft und entnahmen die Blattproben analogen Blättern zehn verschiedener Pflanzen, unter möglichster Berücksichtigung auch der Lichtverhältnisse.

Je zehn Pflanzen lieferten die einmalige, zur Analyse der Farbstoffe benötigte Blattfläche von 200 cm². Jedem zweiten, fünften und zwölften Blatt von je 10 White Burley- und Ammersforter-Pflanzen wurden in 14tägigen Intervallen mit einem Ausstechring⁴ 20 cm² Blattfläche entnommen. Zur Untersuchung gelangten für jede Sorte somit drei Mischproben von je 200 cm² Blattfläche, bestehend aus je zehn Einzelproben des zweiten, fünften und zwölften Blattes verschiedener Pflanzen.

Da wir unter diesen Versuchsbedingungen gezwungen waren, an bestimmten Tagen sechs Blattfarbstoffanalysen auszuführen, begnügten wir uns mit der Bestimmung von Chlorophyll a, Chlorophyll b und dem

¹ Saposchnikoff, W., Bildung und Wanderung der Kohlehydrate in den Laubblättern. Ber. d. d. bot. Ges. 1903. 8, S. 233 ff.

² Sorauer, P., Zur anatomischen Analyse der durch saure Gase beschädigten Pflanzen. Ber. d. d. bot. Ges. 1903. 21, S. 526 ff.

³ Rywosch, S., Zur Stoffwanderung im Chlorophyllgewebe. Bot. Zeitg. 1908, 66, S. 125 ff.

⁴ Stahl, E., Zur Biologie des Chlorophylls. Jena 1909. S. 143, 144.

Gesamtcarotinoidgehalt. Zur Bestimmung des Verhältnisses Carotin : Xanthophyll wurde denselben Blättern in der Zeit zwischen den Probenentnahmen eine zweite Blattprobe entnommen.

b) Verlauf des Quotienten $\frac{\text{Carotin}}{\text{Xanthophyll}}$ während der Vegetationsperiode.

Ueber das Verhalten des Quotienten $\frac{\text{Carotin}}{\text{Xanthophyll}} \left(\frac{c}{x} \right)$ im Laufe der Vegetationsperiode bei Blättern in verschiedener Höhe am Stengel geben die Kurven in Fig. 33 und 34 Aufschluss.

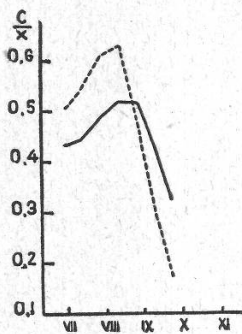


Fig. 33.

———— Ammersforter 2. Blatt
 - - - - - White Burley 2. Blatt

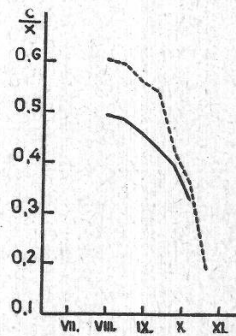


Fig. 34.

———— Ammersforter 5. Blatt
 - - - - - White Burley 5. Blatt

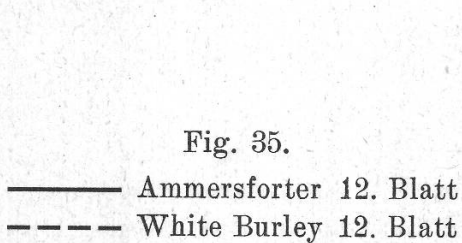
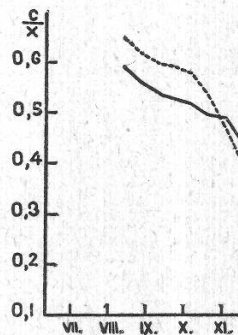


Fig. 35.

———— Ammersforter 12. Blatt
 - - - - - White Burley 12. Blatt



Mit dem Reifen des Blattes und dem damit verbundenen Rückzug des Chlorophylls¹ ist eine wesentliche Verschiebung des Koeffizienten $\frac{\text{Carotin}}{\text{Xanthophyll}}$ zu konstatieren. Er sinkt um so rascher, je schneller das Blatt seiner Vergilbung verfällt. Beim fünften und zwölften Blatt, deren Reifeperiode in ungünstigere Wärmeverhältnisse fällt² und dadurch verzögert wird, sinken die erhaltenen Werte langsamer. Sie erreichen im fünften Blatt noch denselben Wert wie im zweiten, wäh-

¹ Vgl. Tab. 12, 13. S. 22, 23.

² Sidorin, M., Sur le jaunissement des feuilles en automne. Journ. Soc. Bot. Russie, 14, 1929.

rend sich im zwölften Blatt eine Verschiebung zugunsten des Carotins bemerkbar macht. Allen Kurven gemeinsam ist der höhere Anfangswert des Koeffizienten in den Blättern von White Burley, sein rascheres Sinken im Verlaufe und sein niedrigerer Endwert am Schlusse der Vegetationsperiode gegenüber den gefundenen Werten in Ammersforter Blättern.

c) Veränderung der Blattfarbstoffzusammensetzung.

Die Bestimmungen der Blattfarbstoffzusammensetzung begannen mit dem Aussetzen der Pflanzen ins Freie am 24. Juni und dauerten bei vierzehntägigen Intervallen der Probeentnahmen bis zum Absterben der letzten Blätter am 15. November (vgl. Tab. 12 und 13).

Verfolgen wir den Verlauf der Blattfarbstoffverschiebungen des zweiten Blattes von White Burley und Ammersforter im Verlaufe der Vegetationsperiode, so ergibt sich folgendes Bild :

Beim Versetzen zeigen beide Sorten geringe Unterschiede im Chlorophyll- und Carotinoidgehalt. In den ersten 14 Tagen ist beidseitig ein Ansteigen der Chlorophyll- und Carotinoidkonzentration festzustellen. Von diesem Zeitpunkt an sinkt der Chlorophyllgehalt im Verlaufe von vier Wochen bis zum 10. August bei Ammersforter um 41 %, bei White Burley um 55 % der am 30. Juli erreichten maximalen Konzentration. Während der Carotinoidgehalt bei Ammersforter seinen maximalen Wert beibehält, ist derselbe bei White Burley schon um $\frac{1}{4}$ gesunken. Von diesem Punkt der Vegetationsperiode an (10. August) tritt der grosse Unterschied im Verhalten beider Pflanzen auf. Nach 14 Tagen beträgt die Chlorophyllmenge in White Burley-Blättern nur noch $\frac{1}{7}$ der maximalen Konzentration, diejenige der Ammersforter-Blätter $\frac{1}{2}$. Ein weiteres Intervall von 14 Tagen bringt die zweituntersten Blätter beider Sorten zur Erntereife. Zu dieser Zeit beträgt die Chlorophyllkonzentration für Ammersforter $\frac{1}{5}$, für White Burley $\frac{1}{40}$ des maximalen Gehaltes. Die Carotinoide zeigen bei beiden Sorten einen ähnlichen Verlauf : Ein langsames Sinken auf $\frac{1}{3}$ bei White Burley und auf $\frac{1}{4}$ des maximalen Gehaltes bei Ammersforter. Diese Zahlen erntereifer Blätter vom 8. und 21. September müssen nicht unbedingt mit den erhaltenen Resultaten des vorigen Jahres übereinstimmen. Schon Versuche von Zöller¹ und Rissmüller² zeigen, dass selbst Blätter ausdauernder Pflanzen sich in der chemischen Zusammensetzung verschiedener Jahrgänge stark unterscheiden können. Ein Vergleich der erhaltenen Resultate bei erntereifen Blättern (Tab. 12 und 13) mit den gefundenen Mittelwerten des Vorjahres in Tab. 11 zeigt jedoch, dass sich die

¹ Zöller, Ph., Untersuchungen von Buchenblättern in ihren verschiedenen Wachstumszeiten. Landw. Versuchsanst. 1864. 6, S. 231 ff.

² Rissmüller, L., Über die Stoffwanderung in der Pflanze. Landw. Versuchsanst. 1874. 17, S. 17 ff.

Tabelle 12.
*Blattfarbstoffbestimmungen im Laufe der Vegetationsperiode
bei White Burley.*

| Datum der Probenentnahme | 2. Blatt | | | 5. Blatt | | | 12. Blatt | | | | | |
|-----------------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|
| | Chlor. a + b mg/qm | $\frac{a}{b}$ Q | Carotinoide mg/qm | $\frac{C}{X}$ Q | Chlor. a + b mg/qm | $\frac{a}{b}$ Q | Carotinoide mg/qm | $\frac{C}{X}$ Q | Chlor. a + b mg/qm | $\frac{a}{b}$ Q | Carotinoide mg/qm | $\frac{C}{X}$ Q |
| 24. VI. . . | 163,45 | 2,75 | 33,35 | 0,50 | — ¹ | — | — | — | — | — | — | — |
| 8. VII. . . | 202,50 | 2,81 | 49,50 | 0,54 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 26. VII. . . | 183,55 | 2,74 | 50,25 | 0,61 | 175,30 | 2,74 | 54,25 | 0,61 | — | — | — | — |
| 10. VIII. . . | 90,25 | 2,80 | 37,25 | 0,63 | 135,25 | 2,82 | 51,10 | 0,60 | 174,15 | 2,78 | 54,15 | 0,65 |
| 25. VIII. . . | 26,95 | 2,76 | 30,60 | 0,48 | 104,05 | 2,76 | 52,05 | 0,56 | 127,50 | 2,74 | 53,20 | 0,62 |
| 8. IX. . . | 4,78 ² | 2,78 | 14,35 | 0,31 | 40,50 | 2,69 | 24,25 | 0,54 | 101,25 | 2,68 | 54,25 | 0,60 |
| 21. IX. . . | 1,75 | 3,12 | 12,70 | 0,17 | 15,00 | 2,78 | 17,10 | 0,44 | 91,20 | 2,79 | 37,50 | 0,59 |
| 4. X. . . | Blätter abgestorben | | | | 4,95 ² | 2,81 | 15,10 | 0,37 | 87,95 | 2,81 | 35,00 | 0,58 |
| 19. X. . . | — | — | — | — | 1,60 | 2,95 | 13,25 | 0,19 | 71,50 | 2,80 | 34,25 | 0,54 |
| 2. XI. . . | — | — | — | — | Blätter abgestorben | | | — | 25,80 | 2,85 | 15,60 | 0,47 |
| 15. XI. . . | — | — | — | — | — | — | — | — | 16,15 | 2,93 | 15,42 | 0,40 |

¹ Blätter zur Probenentnahme noch zu klein.

² Erntereife Tabakblätter.

Tabelle 13.
*Blattfarbstoffbestimmungen im Laufe der Vegetationsperiode
 bei Ammersforter.*

| Datum der Probenentnahme | 2. Blatt | | | 5. Blatt | | | 12. Blatt | | | | | |
|-----------------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|-----------------|-----------------------|-----------------|----------------------|-----------------|-----------------------|-----------------|----------------------|-----------------|
| | Chlor. a + b mg/qm | $Q \frac{a}{b}$ | Carotinoide mg/qm | $Q \frac{C}{X}$ | Chlor. a + b mg/qm | $Q \frac{a}{b}$ | Carotinoide mg/qm | $Q \frac{C}{X}$ | Chlor. a + b mg/qm | $Q \frac{a}{b}$ | Carotinoide mg/qm | $Q \frac{C}{X}$ |
| 24. VI. . . | 194,80 | 2,79 | 35,35 | 0,43 | — ¹ | — | — | — | — | — | — | — |
| 8. VII. . . | 204,55 | 2,75 | 54,50 | 0,44 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 26. VII. . . | 201,30 | 2,74 | 55,05 | 0,48 | 173,30 | 2,81 | 53,20 | 0,49 | — | — | — | — |
| 10. VIII. . . | 121,10 | 2,82 | 54,95 | 0,52 | 135,25 | 2,71 | 52,15 | 0,48 | 262,50 | 2,71 | 78,10 | 0,59 |
| 25. VIII. . . | 102,05 | 2,81 | 33,00 | 0,51 | 145,25 | 2,74 | 58,25 | 0,46 | 222,50 | 2,75 | 75,00 | 0,56 |
| 8. IX. . . | 40,75 ² | 2,74 | 13,80 | 0,43 | 82,50 | 2,71 | 17,40 | 0,43 | 215,40 | 2,81 | 82,35 | 0,54 |
| 21. IX. . . | 38,15 | 2,83 | 14,05 | 0,32 | 42,35 | 2,82 | 15,10 | 0,40 | 202,50 | 2,69 | 73,25 | 0,53 |
| 4. X. . . | — | Blätter abgestorben | — | — | 39,60 | 2,84 | 15,25 | 0,33 | 135,15 | 2,82 | 39,50 | 0,52 |
| 19. X. . . | — | — | — | — | Blätter abgestorben | — | — | — | 124,25 | 2,74 | 40,10 | 0,50 |
| 2. XI. . . | — | — | — | — | — | — | — | — | 81,50 | 2,78 | 38,25 | 0,49 |
| 15. XI. . . | — | — | — | — | — | — | — | — | 67,40 | 2,90 | 35,20 | 0,44 |

¹ Blätter zur Probenentnahme noch zu klein.

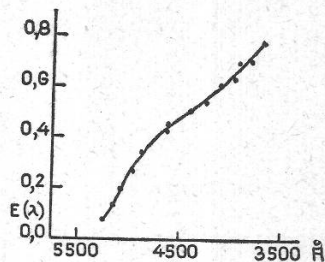
² Erntereife Blätter.

Blätter beider Jahrgänge in ihrem Farbstoffgehalt, gleichen Standort vorausgesetzt, nicht wesentlich unterscheiden.

Obwohl die weitere Verfolgung der Blattfarbstoffe vom Zeitpunkt der Ernte an kein praktisches Interesse mehr hat, ist es interessant, dass die bei Ammersforter im reifen Blatt vorgefundenen Farbstoffe keine wesentliche Veränderung mehr erleiden, während W. Burley mit dem Rückzug des Chlorophylls in den nächsten 14 Tagen vor dem gänzlichen Absterben fortfährt und die Konzentration in dieser Zeitspanne noch um das 2,7fache verringert. In geringem Masse werden auch die Carotinoide von diesem verschiedenen Verhalten betroffen.

Bei der Extraktion brauner abgestorbener Blätter erhielten wir in ätherischer Lösung einen Farbstoff, der mit der Farbe von Carotin und Xanthophyll übereinstimmt. Die spektrographischen Aufnahmen zeigten jedoch eindeutig, dass es sich weder um Xanthophyll noch um Carotin handeln kann (Fig. 36), obwohl die Farbe und das Verhalten bei der Extraktion¹ dafür sprechen würden. Beim vollständigen Absterben der Blätter erleiden die noch vorhandenen ursprünglichen Farbstoffe chemische Veränderungen, so dass im gänzlich abgestorbenen Blatt alle früher gefundenen Farbstoffe, sei es durch Abwanderung oder chemische Veränderungen, verschwunden sind.

Fig. 36.
E(λ)-Kurve der gelben Farbstoffe
aus braunverfärbten abgestorbenen
Tabakblättern.



Zusammenfassend ergibt sich für die Veränderungen der Blattfarbstoffverhältnisse der zweituntersten Blätter von Ammersforter und W. Burley im Verlaufe der Vegetationsperiode folgendes Bild: Einem kurzen Anstieg des Chlorophyll- und Carotinoidgehaltes folgt bei beiden Sorten eine vierwöchige Periode der Chlorophyll- und Carotinoidabnahme; von diesem Zeitpunkt an ein bedeutend rascheres Fallen des Chlorophyllgehaltes bei W. Burley unter gleichmässig fortgesetztem Sinken der Carotinoide bis zur Erntereife der Blätter. Nach der Erntereife eine weitere Verminderung des Chlorophyllgehaltes in den W. Burley-Blättern; in abgestorbenen Blättern weitgehende Veränderungen der noch vorhandenen Chlorophylle und Carotinoide.

Dasselbe Verhalten zeigen auch die andern Blätter in verschiedener Höhe des Stengels, nur in bezug auf den kurzen Anstieg der Blattfarbstoffmenge während der ersten beiden Wochen sind für jün-

¹ Die gelben Farbstoffe liessen sich mit Aceton extrahieren und in Äther überführen.

gere Blätter keine Zahlen vorhanden, weil ihre kleine Blattfläche keine Blattprobeentnahme erlaubte. Mit der späteren Entwicklung jüngerer Blätter zusammenhängend, wird der Vergilbungsprozess zeitlich verschoben. Die ungünstigeren klimatischen Verhältnisse, welche die jüngeren Blätter vorfinden und eine eventuelle Zufuhr von Chlorophyll aus den unteren Blättern verzögern die Vergilbung wesentlich. Das fünfte Blatt von W. Burley braucht, um den gleichen Grad der Vergilbung zu erreichen, bereits vier Wochen mehr Zeit als das zweitunterste Blatt, während das zwölfte Blatt überhaupt keine vollständige Vergilbung und Erntereife mehr erreicht. Bei Ammersforter macht sich die gegen den Herbst verschobene Vegetationsperiode erst im zwölften Blatt bemerkbar; es kommt aber in bezug auf seinen Chlorophyllgehalt der Erntereife bedeutend näher als das zwölfte Blatt von W. Burley.

Während der Chlorophyllgehalt des erntereifen Ammersforter-Blattes von geringer Bedeutung ist, spielt er bei W. Burley, der in der Hauptsache seiner hellen Farbe wegen gepflanzt wird, die Hauptrolle. Die grösseren Wärmeansprüche der Setzlinge und das verzögerte Vergilben der jüngeren Blätter geben uns Anhaltspunkte, dass der Anbau von W. Burley-Tabak nur in den wärmsten Gegenden der Schweiz, dem Tessin und den Reb- und Maisgebieten, einen Erfolg versprechen wird. In diesen Gebieten gewähren frühes Auspflanzen und getrennte Ernte der reifen Blätter neben einer zweckmässigen Trocknung und Fermentation die besten Aussichten zur Erzielung einer einheitlich schönen Blattfarbe.

d) Wachstum und Vergilbung der untersuchten Pflanzen.

Die zu den vorliegenden Blattfarbstoffbestimmungen verwendeten Pflanzen wurden wie im Jahre 1932 herangezogen.¹ Am 24. Juni gelangten von jeder Sorte 100 Pflanzen zum Versuch ins Freie. Bei ge-

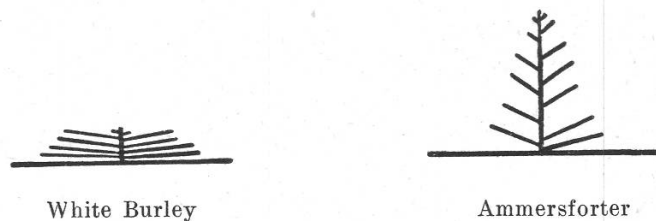


Fig. 37.

Stand des Wachstums 4 Wochen nach dem Anpflanzen.

ringem Farbunterschied der Setzlinge zeigte sich ein deutlicher Unterschied in der Höhe der Pflanzen. Die mittlere Höhe der Ammersforter-Setzlinge betrug 7,4 cm, diejenige von W. Burley nur 4,1 cm. Nach drei Tagen hatten sich die Pflanzen vom Versetzen erholt. Während

¹ Vgl. Aufzucht der Pflanzen. S. 55.

bei Ammersforter das Längenwachstum sofort einsetzte, behielt W. Burley seine ursprüngliche Stengellänge während zwei Monaten bei. Alle Blattanlagen bilden sich in Rosettenform an einem 2—4 cm langen Stengel und unterscheiden sich durch einen viel grösseren Blattwinkel.

In dieser Passivität des Längenwachstums verharrten die W. Burley-Pflanzen bis Mitte August. Erst von diesem Zeitpunkt an setzte das Längenwachstum ein. Eingeleitet wird das Wachstum durch Verkleinerung des Blattwinkels, was einem Heben der Blätter gleichkommt und ist von einer Streckung des Stengels gefolgt. Während der folgenden siebenwöchigen raschen Wachstumsperiode (vgl. Fig. 38) findet der rapide Chlorophyllrückzug, von den untern Blättern nach den obern fortschreitend, statt. Im einzelnen Blatt beginnt der Rückzug an der Spitze, verteilt sich rasch über das ganze Blatt, so dass die Blattfläche allmählich einer ausgeglichenen Vergilbung anheimfällt. Am längsten bleibt das Gewebe in unmittelbarer Nähe der Nerven grün, was auf einen Rückzug des Chlorophylls durch die Gefässbündel schliessen lässt. Wurden bei in Vergilbung begriffenen Blättern Teile der Blattspreiten durch Knickung oder Einschnitte in die Nerven von den direkten Transportbahnen isoliert, so traten die von E. Stahl¹ zuerst beobachteten Verzögerungen des Vergilbungsprozesses in den abgetrennten Blattflächen auf.

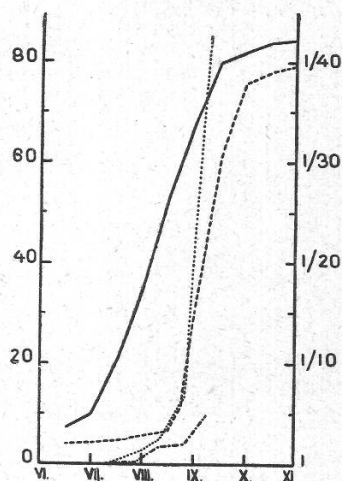
Während dieser 7wöchigen Periode raschen Längenwachstums sind die früher charakteristischen Unterschiede, Grösse und Blattstellung betreffend, verschwunden, geändert hat sich indessen die Blattfarbe.

Es liegt die Vermutung nahe, dass zwischen den beiden Merkmalen ein physiologischer Zusammenhang besteht.

Fig. 38.

Wachstum und Chlorophyllrückzug (Erklärung im Text).

- Ammersforter, Grösse in cm.
- W. Burley, Grösse in cm.
- Chlorophyllrückzug bei Ammersforter.
- Chlorophyllrückzug bei W. Burley.



In Figur 38 sind Wachstumskurven und Chlorophyllabnahme bei der Sorten zeitlich verglichen. Die Ordinatenwerte links geben die Höhe

¹ Stahl, E., Zur Biologie des Chlorophylls. Jena, 1909.

der Pflanzen in cm an (Mittel aus je 100 Messungen), während sich die Brüche rechts auf die Chlorophyllkonzentration beziehen; den maximalen Gehalt vom 8. Juli gleich 1 gesetzt.

Starker Chlorophyllrückzug und rasches Wachstum fallen bei White Burley zeitlich zusammen.

Das widerspricht der Norm bei grünen Pflanzen, wo ein Vergilben das Absterben der Blätter einleitet. Wir haben bei W. Burley die sonderbare Erscheinung einer kräftig *wachsenden*, keineswegs *absterbenden* und trotzdem gelbblättrigen Pflanze.

4. Gefrierpunktsbestimmungen.

Die Vergilbung der W. Burley-Blätter in der Zeit ihres stärksten Wachstums hat uns veranlasst, Gefrierpunktsbestimmungen vorzunehmen, da anzunehmen war, dass das rasche Wachstum bei schwindendem Chlorophyllgehalt einen Einfluss auf die chemische Zusammensetzung der Blätter ausübe.

Grandsire¹ behandelt in einer Arbeit die chemische Zusammensetzung chlorophyllfreier Blätter und unterscheidet nach den Umständen, unter denen eine Vergilbung eintreten kann, folgende 5 Fälle :

1. Etiolierte Blätter
2. Heterotrophe Phanerogamen
3. Gelbe Herbstblätter
4. Krankhaft chlorotische Blätter
5. Albinoblätter.

Werden die ersten beiden Gruppen für unsere Pflanzen ausgeschlossen, so zeigen die verbleibenden drei Fälle folgende Umstände, unter denen die Vergilbung einsetzt :

Gelbe Herbstblätter sind durch das Schwinden des Chlorophylls in ihrer letzten Lebensperiode gekennzeichnet.

Krankhafte chlorotische Blätter verlieren an einem beliebigen Punkt der Vegetationsperiode ihr Pigment. Auf die Entfärbung der Blätter folgt gewöhnlich das Absterben. Über die Ursachen (Eisenmangel,² Mangel an verschiedenen Nährstoffen,³ Manganüberschuss⁴ liegen zahlreiche Untersuchungen vor.

¹ Grandsire, A., Chimisme des feuilles privées de chlorophyll. Annales des Sciences Naturelles. 10, 1926. S. 221 ff.

² Gris, E., Cpt. rend. hebdom. des séances de l'Acad. des sciences. 19. 1844. S. 1110 ff. — Molisch, H., Die Pflanzen in ihren Beziehungen zum Eisen. 1892.

³ Sidorin, M., Aus den Resultaten der Vegetationsversuche und Laboratoriumsarbeiten v. D. Prianischnikow. Bd. 10, 1914. S. 241 ff.

⁴ Rippel, A., Biochemische Zeitschr. Bd. 140, 1923. S. 315.

Albinopflanzen-Organen entstehen ohne bekannte Ursache.¹ Die Vergilbung macht sich schon in der ersten Entwicklung an den betreffenden Teilen bemerkbar und erstreckt sich in der Regel nur über eine begrenzte Anzahl von Blättern. Die gelben Blätter sind immer kleiner und dünner als die normal Grünen.²

An Hand der bis jetzt festgestellten Vergilbungserscheinungen bei W. Burley dürfte es schwierig sein, den gelbblättrigen Tabak einer der besprochenen Vergilbungsarten einzuordnen.

Da die Pflanzen ihre helle Farbe als sortentypische Eigenschaft auf den verschiedensten Böden beibehalten, kann die chlorotische Vergilbung ebenfalls ausgeschlossen werden.

In ihrer chemischen Zusammensetzung unterscheiden sich die beiden in Betracht kommenden Gruppen (gelbe Herbstblätter und Albinoblätter) am auffallendsten durch ihren Wassergehalt. Gelbe Herbstblätter sind arm an Wasser,³ während Albinoblätter einen grösseren Wassergehalt als die grünen Blätter aufweisen.⁴

Der Wassergehalt betrug für unsere Blätter :

| | |
|--|---------|
| W. Burley, gelbe erntereife Blätter | 93,64 % |
| Ammersforter, grüne erntereife Blätter | 91,69 % |

Sprecher⁵ fand bei seinen Gefrierpunktbestimmungen im Zellsaft von *Tropaeolum majus nanum* zwischen einer gelben (Reine d'or) und grünen Varietät (Beauty) folgende charakteristische Unterschiede: Der Zellsaft gelber Blätter hat einen niedrigeren osmotischen Druck; ebenfalls ist das mittlere Molekulargewicht der gelösten Stoffe kleiner. Die gelben Blätter enthalten mehr Wasser, mehr Mineralstoffe und unterscheiden sich ferner durch ihren geringeren Gehalt an organischer Substanz von den grünen Blättern. Diese Resultate werden durch die umfassende Arbeit von Grandsire bestätigt.

Die gleichen Unterschiede fanden wir in den Zellsäften von Ammersforter- und White Burley-Blättern.

Die Gefrierpunktbestimmungen wurden nach der von Sprecher⁶ angegebenen Methode an Pflanzen verschiedener Standorte ausgeführt und ergaben als Mittel von je zwei Parallelbestimmungen folgende in Tab. 14 zusammengestellten Werte.

¹ Baur, E., Berichte der deutschen Bot. Ges., 22, 1904. S. 553 ff.

² Timpe, Beiträge zur Kenntnis der Panaschierung, Göttingen 1900.

³ Fliche et Grandeau, Annales de chimie et de physique, 5^{me} série, 8, 1876. S. 486.

⁴ Sprecher, A., Recherches cryoscopiques sur des sucs végétaux. Revue générale de Bot. 33, 1923. — Grandsire, A., Chimisme des feuilles privées de chlorophylle. Annales des Sciences Naturelles, 10, 1926. S. 221 ff.

⁵ Sprecher, A., loc. cit.

⁶ Sprecher, A., Der osmotische Druck des Zellsaftes gesunder und mosaikkranker Tabakpflanzen. Annales du Jardin botanique de Buitenzorg, 2^{me} série, Vol. 14 S. 112 ff. Leide 1915.

Tabelle 14.
Gefrierpunktsbestimmungen im Zellsaft gelber und grüner Tabakblätter.

| Datum der Probeentnahme | Varietät | Standort | Temperatur | Gefrierpunkt Δ | Tr. S/L | Asche | | Organische Substanz | | Osmot. Druck in Atmosph. Pr. | Mittl. mol. Gewicht pm |
|-------------------------|--------------------|----------|------------|-----------------------|---------|-------|----------|---------------------|----------|------------------------------|------------------------|
| | | | | | | g/L | % Tr. S. | g/L | % Tr. S. | | |
| 15. IX. | W. Burley | Terrasse | 13° | -0,670° | 61,50 | 16,71 | 27,17 | 44,79 | 72,83 | 8,497 | 170 |
| 15. IX. | W. Burley | Garten | 13° | -0,689° | 65,72 | 16,52 | 25,13 | 49,20 | 74,87 | 8,738 | 176 |
| 15. IX. | Ammersforter . . . | Terrasse | 13° | -0,723° | 84,67 | 15,54 | 18,35 | 69,13 | 81,65 | 9,169 | 215 |
| 15. IX. | Ammersforter . . . | Garten | 13° | -0,741° | 81,51 | 15,75 | 19,32 | 65,76 | 80,68 | 9,397 | 203 |

$$P_t = P_o + P_o \gamma t = P_o (1 + \gamma t); P_o = \frac{\Delta \cdot 22,4}{1,85}; P_t = \frac{\Delta \cdot 22,4}{1,85} (1 + \gamma t)$$

P_t = Osmot. Druck bei der Temperatur (t) im Moment der Extraktion des Saftes;

P_o = Osmot. Druck bei 0°C;

$$\gamma = \frac{1}{273} = 0,00366, \text{ Ausdehnungskoeffizient der Gase;}$$

Δ = Gefrierpunkt des Saftes;

1,85 = Gefrierpunkt des dest. Wassers unter 22,4 At. Druck.

$$P_t \text{ ist also} = \frac{\Delta \cdot 22,4}{1,85} (1 + 0,00366 t)$$

Mittleres Molekulargewicht (pm) nach Maquenne¹ aus Tr. S. des Saftes und dem Gefrierpunkt:

$$\text{pm : Tr. S.} = 1,85 : \Delta; \text{ pm} = \frac{\text{Tr. S.} \cdot 1,85}{\Delta}$$

¹ Maquenne, L., Sur le poids moléculaire moyen de la matière soluble dans les graines en germination. C. R. Ac. Sc., 125, 576. Paris 1897.

Die Blätter von W. Burley, die in ihren Vergilbungserscheinungen eine Mittelstellung zwischen herbstlicher Vergilbung und Albino-pflanzen einnehmen, zeigen in der grobchemischen Zusammensetzung ihres Zellsaftes eine klare Übereinstimmung mit den von Sprecher und Grandsire in Albinoblättern gefundenen Werten.

B. Einfluss steigender N-Mengen auf die Blattfarbstoffzusammensetzung und den Nicotingehalt im Zeitpunkt der Tabakernte.

1. V e r s u c h s a n o r d n u n g.

a) Allgemeines.

Wie wir im Feldversuch beobachtet haben, treten mit der Grösse der Pflanze zusammenhängend deutliche Unterschiede in der Blattfarbe erntereifer Tabakblätter auf, die, ein ausgeglichenes Pflanzenmaterial vorausgesetzt, als Auswirkung der verschiedenen Standortsbedingungen erklärt werden müssen. Durch verschiedene, die Üppigkeit der Pflanzen verschieden beeinflussende Düngungen müsste sich demzufolge die Vergilbung weitgehend beeinflussen lassen.

Es ist bekannt, dass die grüne Blattfarbe durch N-Gaben gesteigert und die Vergilbung verzögert werden kann. Wir versprachen uns deshalb von einer N-Düngung mit minimalen bis maximalen Konzentrationen den grössten Erfolg zur Herbeiführung verschiedener Vergilbungsgrade.

Bei unserm Versuch handelt es sich in erster Linie darum, alle Bedingungen konstant zu erhalten, so dass die an den Pflanzen festgestellten Veränderungen dem einzig variierenden Faktor, hier also den verschiedenen N-Gaben, zugeschrieben werden können.

Die Pflanzen wurden in durch Quarzsand fliessenden Nährlösungen aufgezogen. Sandkulturen kommen den natürlichen Verhältnissen bedeutend näher und eignen sich, wie uns von der Tabakversuchsstation in Deli mitgeteilt wurde,¹ für Tabak bedeutend besser als die sonst gebräuchlichen Wasserkulturen.

Als Versuchsgefässe wurden Mitscherlich-Töpfe verwendet, die, um eine möglichst gleichmässige Belichtung der Pflanzen zu erzielen, in der Mitte eines Gewächshauses aufgestellt wurden.

Nach Angaben der eidgenössischen landwirtschaftlichen Versuchsanstalt in Örlikon wurden im Quarzsand (Korngrösse 0,2—0,6 mm) folgende Beimengungen gefunden :

| | | | | | |
|-------------------------------|------------------|--------|--------|---------|---|
| P ₂ O ₅ | K ₂ O | CaO | MgO | Al + Fe | N |
| 0,0584 | 0,0462 | 0,8069 | 0,0018 | 0,8930 | — |

¹ Schriftliche Mitteilung von Dr. Jochems, Deli Proefstation (Sumatra) für Tabak.

Die einzelnen Nährlösungen bestanden aus einer gemeinsamen Grundlösung, der steigende N-Gaben beigelegt wurden.

Grundlösung per Liter :¹

| | |
|------------------|---------------------------------|
| 1,00 g | KH ₂ PO ₄ |
| 1,00 g | Ca Cl ₂ |
| 1,75 g | Mg SO ₄ |
| Spur | Fe Cl ₃ |

Zur Grundlösung wurde der Stickstoff in zwei verschiedene Formen gegeben, als KNO₃ und als NH₄NO₃, und zwar in steigenden Mengen von : 0,01, 0,05, 0,25, 1,25, 3,00, 6,00 g/Liter. Der pH-Wert dieser Lösungen schwankte zwischen pH 6,5 — pH 6,7.

Den einzelnen Versuchstöpfen wurde die Nährlösung kontinuierlich in Tropfenform zugeführt, so dass je Tag zwei Liter Nährlösung den Quarzsand passierten. Diese Versuchsanordnung hat den Vorteil, dass bei stehenden Nährlösungen, die durch das verschiedene Wachstum der einzelnen Pflanzen in der Nährlösung verursachten Veränderungen der chemischen Zusammensetzung und der Wasserstoffionenkonzentration vermieden werden. Ferner wird eine gleichmässige Feuchtigkeit in allen Versuchstöpfen gewährleistet.

Vorversuche bezüglich des Wachstums der Tabakpflanzen im Quarzsand mit der 100—60—30 %igen Wasserkap.² fielen zu Gunsten der maximalen Feuchtigkeit aus, so dass bei der ständig durchsickernden Nährlösung infolge grosser Feuchtigkeit keine Schädigungen zu erwarten waren.

b) Apparat.

Die Apparatur, welche eine Regulierung der gewünschten Durchflussmengen erlaubt, ist nach dem Prinzip von Shive und Stahl³ zusammengestellt worden.

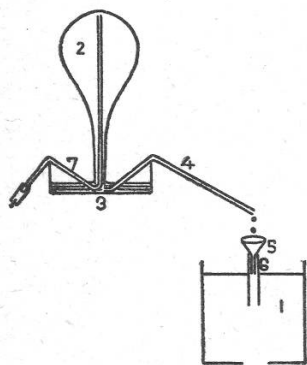


Fig. 39.
Tropfvorrichtung.

Jeder Versuchstopf erhielt seine eigene Tropfvorrichtung (siehe Fig. 39). Sie besteht aus einem Wasserbehälter (2), der, gefüllt mit der Öffnung nach unten, in einer Glasschale (3) steht, wobei der Abstand zwischen Öffnung und Boden der Glasschale zirka 5 mm beträgt. Die ausfliessende Nährlösung wird aus der Glasschale mittelst einer Kapillare (4) abgesaugt. Sobald das Niveau der Flüssigkeit in der Glasschale unter den Flaschenhals sinkt, dringt Luft in die Flasche ein und Nährlösung tritt aus. Dabei wird die Höhe der Flüssigkeit in der Glasschale sehr wenig geändert,

¹ Grundlösung, wie sie Lundegårdh, H. — Die Ernährung der Pflanze, Jena 1932 — für steigende Nitratserien verwendet.

² Wasserkapazität des Quarzsandes = 26,81 %.

³ Shive, J. W. and Stahl, A. L., Constant rates of continuous solution renewal for plantes in water cultures. Botanical Gazette, vol. 84, No. 3, 1927. S. 317 ff.

so dass ein gleichmässiges Tropfen am Ende der Kapillare stattfindet. Je 5 Tropfvorrichtungen wurden auf einem Holzgestell montiert (Fig. 40).

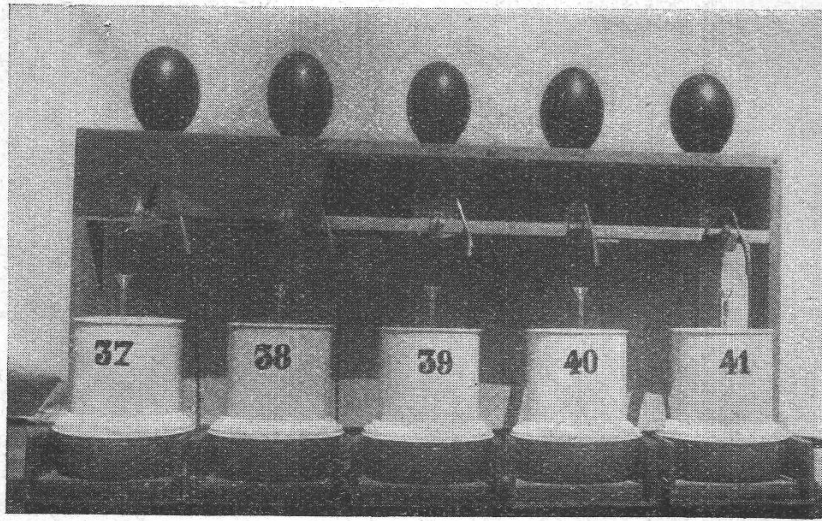


Fig. 40.
Tropfvorrichtung.

Als Reservebehälter verwendeten wir Chiantiflaschen, deren Hals durch ein entsprechend grosses Loch in der oberen Querleiste des Holzgestells auf zirka 5 mm Abstand vom Boden der Glasschalen gebracht wurde. Die Kapillaren von 0,5 mm Innendurchmesser sind an einer Schablone in die gewünschte Form gebracht worden. Die vorderen Enden der Kapillaren ruhen in auf Querleisten befestigten Kittstücken. Durch Heben oder Senken des Kapillarenendes im knetbaren Kitt kann auf die gewünschte Durchflussmenge eingestellt werden. Die Tropfen gelangen durch eine Glasröhre zirka 4 cm unter die Oberfläche des Quarzsandes, um eine Verdunstung und Krustenbildung an der Oberfläche zu verhüten.

Das gleichmässige Einstellen von 24 Tropfvorrichtungen ist mit viel Geduld verbunden. Um beim Nachfüllen ein Verschieben der Kapillaren zu verhüten, führten wir bei allen Flaschen ein bis an den Flaschenboden hinaufreichendes Saugrohr (7) ein. Beim Nachfüllen wird die Luft in der Flasche mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Die frische Nährlösung wird in die Glasschalen geleert und gelangt von dort in die Flasche, ohne dass die Gefahr besteht, irgend etwas zu verschieben. Ein Nachteil dieser Beschickung der Flaschen mit Nährlösung besteht darin, dass sich in der Glasschale Niederschläge von Calciumphosphat anhäufen und oft zum Verstopfen der Kapillaren führen, so dass die ganze Apparatur mindestens alle 14 Tage gänzlich gereinigt werden muss.

Um das Auftreten von Algen zu verhindern, wurden die Flaschen schwarz gestrichen und die andern Teile der Apparatur mit schwarzem Papier verkleidet.

2. Aufzucht und Wachstum der Pflanzen.

Am 17. Mai 1933 wurden desinfizierte Samen beider Sorten auf Quarzsand ausgesät. Sie erhielten bis zum Verpflanzen in die einzelnen Versuchstöpfe Knopsche Nährlösung.¹

Nach 4 Tagen keimten beide Sorten und waren am 10. Juni schon so gross, dass sie in die Versuchstöpfe verpflanzt werden konnten. Wie in früheren Versuchen waren die W. Burley-Setzlinge wieder bedeutend kleiner und gedrungener als die Ammersforter. Der mittlere Abstand von den Keimblättern bis zur obersten Blattanlage betrug von je 100 Messungen :

| | |
|------------------------|---------|
| Ammersforter | 3,27 cm |
| W. Burley | 0,46 cm |

Zwölf möglichst ausgeglichene Pflanzen jeder Sorte gelangten in den Versuch. Je sechs erhielten den N in Form von KNO_3 bzw. NH_4NO_3 , was die folgenden 4 Versuchsreihen ergab :

1. 6 Ammersforter mit steigendem KNO_3 -Gehalt
2. 6 Ammersforter mit steigendem NH_4NO_3 -Gehalt
3. 6 W. Burley mit steigendem KNO_3 -Gehalt
4. 6 W. Burley mit steigendem NH_4NO_3 -Gehalt.

Beim Versetzen wurden die Wurzeln der Pflanzen sorgfältig gewaschen. Ein vorübergehendes Welken, wie dies beim Umpflanzen ins Freie selbst bei den günstigsten Witterungsverhältnissen der Fall ist, fand nicht statt.

Nach einer Woche zeigten sich bei den verschiedenen N-Konzentrationen die ersten Unterschiede im Wachstum der Pflanzen.

In den Figuren 41—44 ist das Wachstum der Pflanzen festgehalten. Auf der Abszisse sind die verabreichten Mengen Nährsalze/Liter in Form einer geometrischen Reihe aufgetragen. Die Ordinate gibt die Höhe der Pflanzen in cm an. Die übereinanderliegenden Kurven stellen den wöchentlichen Stand des Wachstums im Verlaufe der Vegetationsperiode dar. In Figur 45 sind die Blattflächen der ausgewachsenen Pflanzen zusammengestellt, die eine Übereinstimmung der Blattfläche mit dem Wachstum erkennen lassen.

Mit Ausnahme der KNO_3 -Serie bei W. Burley haben sich schon nach der ersten Woche die endgültigen Lagen der Maxima in den einzelnen Wachstumskurven eingestellt.

¹ 1 g Calciumnitrat, 0,25 g Magnesiumsulfat, 0,25 g saures phosphorsaures Kalium, 0,25 g Kaliumnitrat, Spur Eisenchlorid.

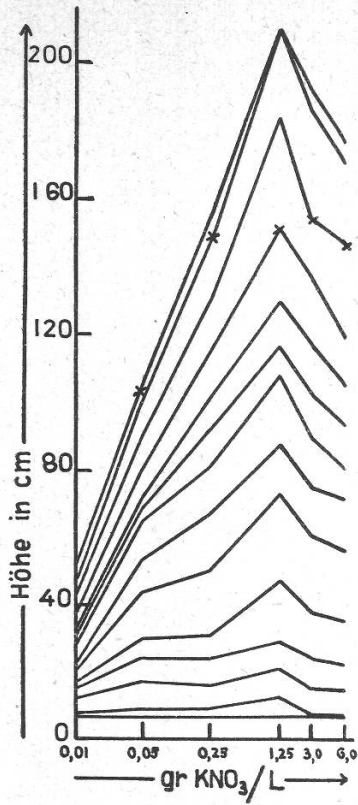


Fig. 41.
Wachstum Ammersforter
KNO₃-Serie.
× Erste Blüte geöffnet.

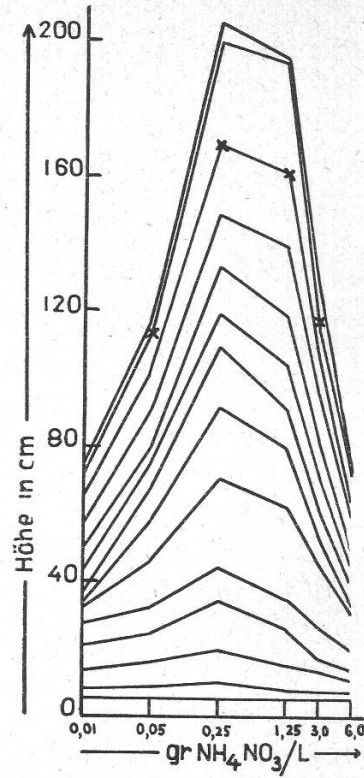


Fig. 42.
Wachstum Ammersforter
NH₄NO₃-Serie.
× Erste Blüte geöffnet.

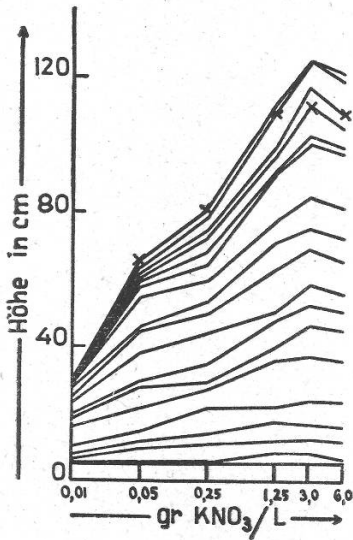


Fig. 43.

Wachstum W. Burley
KNO₃-Serie.
× Erste Blüte geöffnet.

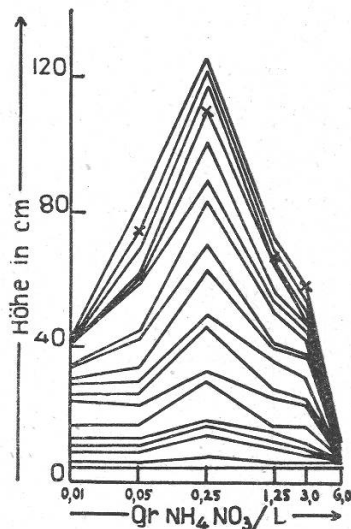


Fig. 44.

Wachstum W. Burley
NH₄NO₃-Serie.
× Erste Blüte geöffnet.

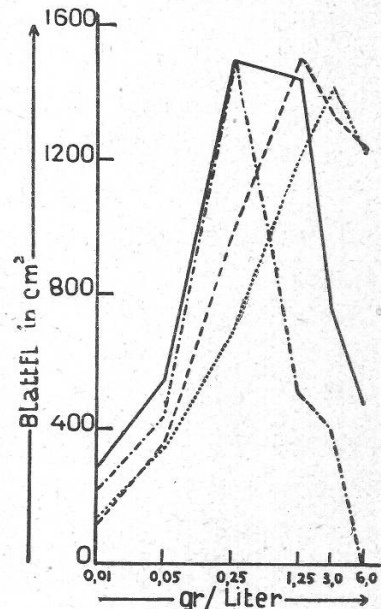


Fig. 45.

Blattflächen der aus-
gewachsenen Pflanzen.
— Ammersforter NH₄NO₃
- - - " " KNO₃
- · - · - W. Burley NH₄NO₃
· · · · · " " KNO₃

Vier Wochen nach Versuchsbeginn machen sich deutliche Farbunterschiede an den Blättern bemerkbar. Mit fallenden N-Gaben sinkt die Intensität der grünen Farbe in allen Versuchsreihen. An den Tatsachen, dass der Chlorophyllgehalt der Blätter von den kleinsten bis zu den höchsten N-Gaben in allen Versuchsreihen ständig zunimmt, während Wachstum und Blattfläche der Pflanzen deutliche Maxima aufweisen, ändert sich im Verlaufe der Vegetationsperiode nichts mehr. Nur die Unterschiede in bezug auf Blattfarbe und Wachstum werden vergrößert.

Die Wachstumsmaxima liegen für Ammersforter bei Gaben von : 1,25 g KNO_3 /Liter und zwischen 0,25—1,25 g NH_4NO_3 /Liter. Wird die verabreichte N-Menge allein berücksichtigt, so fallen die Maxima ungefähr mit gleichhohen absoluten N-Gaben (0,175 g/L.) zusammen. Ebenso liegt das Wachstumsmaximum von W. Burley in der KNO_3 -Reihe bei höheren Nährstoffgaben (3 g/L.) als in der NH_4NO_3 -Serie (0,25 g/L.). Dieser Unterschied lässt sich, wenn wieder nur der verabreichte N in Betracht gezogen wird, nicht mehr erklären. W. Burley und Ammersforter zeigen einen deutlichen Unterschied im Verhalten ihres Wachstums bei steigenden KNO_3 -Gaben.

Die steigenden N-Gaben blieben nicht ohne Einfluss auf die Form und Oberflächengestaltung der Blätter. Mit zunehmendem N-Gehalt der Nährlösung werden die Blätter rundlicher. Bei 1,25—6,00 g KNO_3 und NH_4NO_3 -Gaben kräuselt sich ihre Oberfläche in zunehmendem Sinne. Von der Kräuselung werden die NH_4NO_3 -Serien stärker betroffen. Die Ursache liegt sehr wahrscheinlich im gestörten Wachstumsverhältnis der Blattspreite und Nerven. Die Nerven vermögen dem Wachstum des Blattparenchyms nicht mehr zu folgen, so dass sich das zwischen den Blattnerven eingeeengte Gewebe wölbt und dem Blatt das gekräuselte Aussehen verleiht. Ein ähnliches Aussehen zeigen die Blätter von *Nic. rustica*. Die ausgeführten Gefrierpunktsbestimmungen in den Blattspreiten und Nerven von Ammersforter, Nostrano und W. Burley ergaben immer niedrigere Gefrierpunkte für den Saft der Blattnerven gegenüber dem aus den Blattspreiten.¹ Nur bei *Rustica* trat das Gegenteil auf; die Nerven hatten einen höheren Gefrierpunkt als die Blattspreiten. Es wäre interessant zu untersuchen, ob sich in den durch hohe N-Gaben gekräuselten *rustica*-ähnlichen Blättern die Verhältnisse der Gefrierpunkte ebenfalls verschoben haben.

Bei der Ernte zeigten die Wurzeln der NH_4NO_3 -Serien eine Übereinstimmung mit dem Wachstum der Pflanzen, während die Wurzel-

| 1 Varietät | Gefrierpunkt | |
|--------------------|--------------|--------|
| | Blätter | Nerven |
| Ammersforter . . . | 0,723° | 0,685° |
| W. Barley . . . | 0,670° | 0,584° |
| Nostrano . . . | 0,725° | 0,679° |
| Rustica . . . | 0,720° | 0,807° |

trockengewichte der KNO_3 -Reihen mit steigenden N-Gaben anstiegen, ohne ein Maximum zu erreichen (Tab. 15).

Tabelle 15.

Trockengewicht der Wurzeln.

| Varietät | Form der N-Gabe | Trockensubstanz der Wurzeln (g) bei steigenden Nährstoffgaben g/L | | | | | |
|----------------|--------------------------|---|------|--------------|-------|-------|--------------|
| | | 0,01 | 0,05 | 0,25 | 1,25 | 3,00 | 6,00 |
| Ammersforter . | KNO_3 | 1,53 | 3,70 | 5,26 | 10,34 | 12,78 | 17,73 |
| Ammersforter . | NH_4NO_3 | 6,61 | 7,83 | 23,10 | 13,72 | 3,85 | 1,56 |
| W. Burley . . | KNO_3 | 0,98 | 2,95 | 5,38 | 11,32 | 15,43 | 18,27 |
| W. Burley . . | NH_4NO_3 | 5,23 | 6,74 | 18,59 | 12,82 | 4,20 | 2,12 |

Bei den NH_4NO_3 -Serien trat von 1,25 g-Gaben an, d. h. mit dem Sinken der Trockengewichte, eine Braunfärbung der Wurzeln auf, die bei den KNO_3 -Reihen nirgends beobachtet wurde.

Von den unter natürlichen Verhältnissen aufgewachsenen Wurzeln unterschieden sich alle durch das Fehlen einer Hauptwurzel.

3. Blattfarbstoffzusammensetzung von erntereifen, bei verschiedenen N-Gaben gewachsenen Tabakblättern.

Sobald die Hälfte der Blätter einer Pflanze ihre Erntereife erreicht hatte, wurde eine Mischprobe aus allen erntereifen Blättern genommen und auf ihre Blattfarbstoffzusammensetzung untersucht. Die obersten Blätter mussten vernachlässigt werden, da sie erst reifen, nachdem die untersten Blätter schon abgestorben sind. Da die untern Blätter zuerst reifen und zudem die grösste Blattfläche aufweisen, erhielten wir dadurch einen Mittelwert der Blattfarbstoffe für den grössten Teil der zur Ernte in Betracht fallenden Blattfläche. Nach der Probeentnahme zur spektrographischen Blattfarbstoffanalyse wurden die reifen Blätter geerntet und zum Trocknen aufgehängt. Sie dienten als Untersuchungsmaterial für Nicotinanalysen.

In den Tab. 16 und 17 sind die Resultate der Blattfarbstoffanalysen zusammengestellt. Zur bessern Übersicht wurde der Farbstoffgehalt der Blätter bei steigenden N-Gaben in Fig. 46—49 überdies graphisch dargestellt, wobei Chlorophyll *a* und *b* einerseits, Carotin und Xanthophyll andererseits zusammengefasst wurden. Auf der Abszisse sind wieder die steigenden Nährstoffgaben in Form einer logarithmischen Skala aufgetragen.

Tabelle 16.

KNO₃ - Serie.

| KNO ₃ per Liter | Tabak- Varietät | Höhe der Pflanze cm | Blattfläche der Pflanze in cm ² | Blattfarbstoffe | | | | | | | $\frac{C}{Q \cdot X}$ |
|----------------------------------|--------------------|---------------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------|------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| | | | | Chloro- phyll a mg/qm | Chloro- phyll b mg/qm | Gesamt- Chlorophyll mg/qm | $\frac{a}{Q \cdot b}$ | Carotin mg/qm | Xanthophyll mg/qm | Carotinoide mg/qm | |
| 0,01 g | Ammersforter | 46 | 1,100 | 30,16 | 11,09 | 41,25 | 2,72 | 6,24 | 17,82 | 24,06 | 0,35 |
| 0,05 g | " | 103 | 3,600 | 103,19 | 36,86 | 140,05 | 2,80 | 10,44 | 25,46 | 35,90 | 0,41 |
| 0,25 g | " | 153 | 9,875 | 161,75 | 58,61 | 220,36 | 2,76 | 15,03 | 31,29 | 46,32 | 0,48 |
| 1,25 g | " | 211 | 15,105 | 211,62 | 75,58 | 287,20 | 2,80 | 22,54 | 44,21 | 66,75 | 0,51 |
| 3,00 g | " | 192 | 13,335 | 224,00 | 82,05 | 306,05 | 2,73 | 23,35 | 46,69 | 70,04 | 0,50 |
| 6,00 g | " | 176 | 12,340 | 230,20 | 84,00 | 314,20 | 2,74 | 24,68 | 46,57 | 71,25 | 0,53 |
| 0,01 g | W. Burley | 32 | 1,300 | 15,59 | 5,61 | 21,20 | 2,78 | 3,50 | 12,46 | 15,96 | 0,28 |
| 0,05 g | " | 65 | 3,470 | 29,34 | 10,71 | 40,05 | 2,74 | 4,07 | 13,14 | 17,21 | 0,31 |
| 0,25 g | " | 81 | 6,900 | 59,84 | 21,37 | 81,21 | 2,80 | 5,45 | 18,80 | 24,25 | 0,29 |
| 1,25 g | " | 112 | 12,160 | 101,49 | 37,18 | 138,67 | 2,73 | 7,35 | 20,97 | 28,32 | 0,35 |
| 3,00 g | " | 125 | 14,260 | 178,18 | 64,32 | 242,50 | 2,77 | 11,04 | 25,66 | 36,70 | 0,43 |
| 6,00 g | " | 121 | 12,210 | 228,72 | 82,28 | 311,00 | 2,78 | 17,27 | 29,77 | 47,04 | 0,58 |

Tabelle 17.

NH_4NO_3 - Serie.

| KNO ₃ per Liter | Tabak- Varietät | Höhe der Pflanze cm | Blattfläche der Pflanze in cm ² | Blattfarbstoffe | | | | | | | $\frac{C}{Q \cdot X}$ |
|----------------------------------|--------------------|---------------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------|------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| | | | | Chloro- phyll a mg/qm | Chloro- phyll b mg/qm | Gesamt- Chlorophyll mg/qm | $\frac{a}{Q \cdot b}$ | Carotin mg/qm | Xanthophyll mg/qm | Carotinoide mg/qm | |
| 0,01 g | Ammersforter | 74 | 2,790 | 52,11 | 18,94 | 71,05 | 2,75 | 7,75 | 20,40 | 28,15 | 0,38 |
| 0,05 g | " | 116 | 5,494 | 119,41 | 42,79 | 162,20 | 2,79 | 12,34 | 27,41 | 39,75 | 0,45 |
| 0,25 g | " | 205 | 14,908 | 178,01 | 63,34 | 241,35 | 2,81 | 18,61 | 38,00 | 56,61 | 0,49 |
| 1,25 g | " | 195 | 14,486 | 212,38 | 76,38 | 288,76 | 2,78 | 23,99 | 45,26 | 69,25 | 0,53 |
| 3,00 g | " | 122 | 7,535 | 227,00 | 82,25 | 309,25 | 2,76 | 25,07 | 44,76 | 69,83 | 0,56 |
| 6,00 g | " | 72 | 4,640 | 234,57 | 84,08 | 318,65 | 2,79 | 24,94 | 46,16 | 71,10 | 0,54 |
| 0,01 g | W. Burley | 43 | 2,170 | 22,28 | 7,96 | 30,24 | 2,80 | 3,84 | 14,22 | 18,06 | 0,27 |
| 0,05 g | " | 83 | 4,400 | 40,59 | 14,71 | 55,30 | 2,76 | 5,34 | 20,51 | 25,85 | 0,26 |
| 0,25 g | " | 125 | 15,000 | 76,63 | 27,57 | 104,20 | 2,78 | 8,36 | 28,82 | 37,18 | 0,29 |
| 1,25 g | " | 72 | 5,040 | 117,72 | 41,88 | 159,60 | 2,81 | 11,91 | 31,34 | 43,25 | 0,38 |
| 3,00 g | " | 57 | 4,060 | 183,05 | 66,81 | 249,86 | 2,74 | 14,81 | 31,50 | 46,31 | 0,47 |
| 6,00 g | " | 12 | 150 | 234,97 | 84,83 | 319,80 | 2,77 | 19,07 | 34,07 | 53,15 | 0,56 |

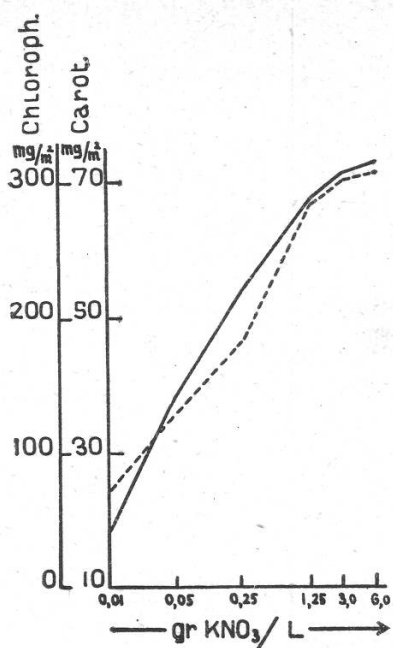


Fig. 46.

KNO₃-Serie (Ammersforter)
 ——— Chlorophyll (a + b)
 - - - - Carotinoide

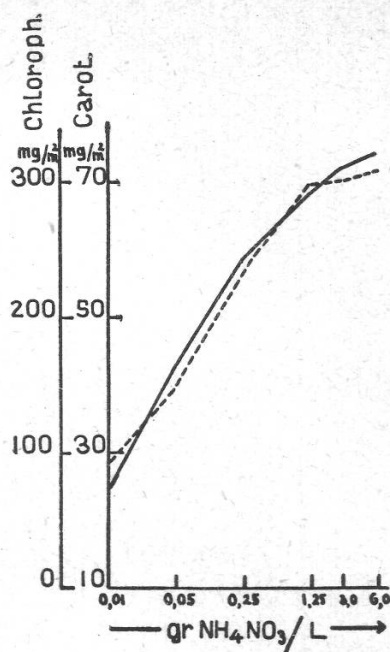


Fig. 47.

NH₄NO₃-Serie (Ammersforter)
 ——— Chlorophyll (a + b)
 - - - - Carotinoide

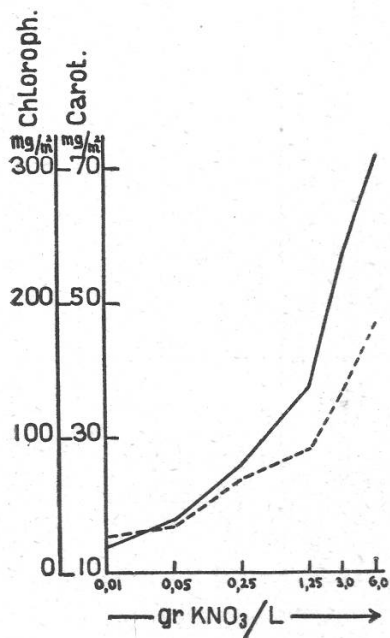


Fig. 48.

KNO₃-Serie (White Burley)
 ——— Chlorophyll (a + b)
 - - - - Carotinoide

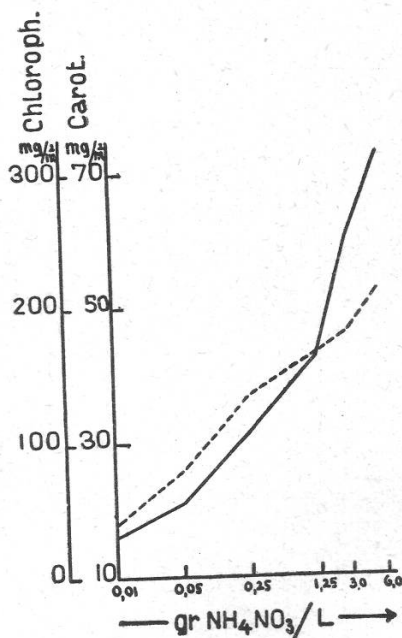


Fig. 49.

NH₄NO₃-Serie (White Burley)
 ——— Chlorophyll (a + b)
 - - - - Carotinoide

Aus den Kurven geht deutlich hervor, dass eine Beeinflussung der Vergilbung weitgehend stattgefunden hat. Die Form der N-Gabe übt keinen entscheidenden Einfluss auf den Verlauf der Kurve aus. Dass alle Werte der NH_4NO_3 -Serien etwas höher liegen, ist dem höheren N-Gehalt von NH_4NO_3 gegenüber KNO_3 zuzuschreiben.

Im Verhalten der beiden Varietäten zeigen sich deutliche Unterschiede. Bei minimalen Gaben besitzen die W. Burley-Blätter bedeutend weniger Chlorophyll und Carotinoide. Die maximalen Gaben bringen die Chlorophylle bei beiden Varietäten auf dieselbe Höhe, während die Carotinoide bei W. Burley deutlich zurückstehen. Ein weiterer Unterschied zeigt sich im Verlaufe der Kurven. Ammersforter steigert seinen Blattfarbstoffgehalt mit den ersten drei steigenden N-Gaben schon beinahe auf die maximale Höhe, während bei W. Burley gerade das Gegenteil stattfindet: Die ersten drei gesteigerten N-Gaben verändern seinen Blattfarbstoffgehalt relativ wenig; erst durch die zweitletzte und die maximale Gabe erreicht er den hohen Chlorophyllgehalt.

Aus allen Kurven geht ferner hervor, dass mit steigendem Chlorophyllgehalt auch der Carotinoidgehalt zunimmt, während sich mit sinkendem Chlorophyllgehalt das Verhältnis der Carotinoide zugunsten des Xanthophylls verschiebt.

Vergleichen wir die gefundenen Blattfarbstoffmengen mit denjenigen aus Blättern von im Freien gewachsenen Pflanzen, so ergeben sich folgende Unterschiede: Sowohl Ammersforter als auch W. Burley erreichten im Gewächshausversuch nirgends eine ebenso ausgesprochene Vergilbung wie im Freien, und umgekehrt wurden im Freien nie so hohe Chlorophyllkonzentrationen wie im Gewächshaus gefunden. *Für die hohen Chlorophyllkonzentrationen dürfen die grossen N-Gaben verantwortlich gemacht werden.* Die Ursachen der geringen Vergilbung, selbst bei minimalen N-Mengen sind in den veränderten Lebensbedingungen zu suchen. Neben Temperatur, Luft- und Bodenfeuchtigkeit, Art der Ernährung und des Standortes, ist in erster Linie das Licht verantwortlich zu machen. Vorversuche, bei denen W. Burley-Blätter durch Papier beschattet wurden, haben gezeigt, dass die Vergilbung durch das Licht gefördert wird.

An Hand der Feldversuche gelangten wir zum Resultat, dass grössere erntereife Pflanzen immer mehr Chlorophyll enthalten als kleinere. Die Gewächshausversuche beweisen, dass auch das Gegenteil möglich ist. Obwohl bei allen Versuchsserien Blattfläche und Pflanzenhöhe ein Maximum erreichen, nimmt die Chlorophyllkonzentration ständig zu. Es entstehen also neben hellen kleinen, dunkleren grossen noch ganz dunkelgrüne kleine Pflanzen. Dass wir letztere im Freien nicht gefunden haben, hängt wohl damit zusammen, dass unter natürlichen Verhältnissen keine so hohen, das Wachstum hemmende N-Konzentrationen vorkommen.

4. Nikotinbestimmungen.

Die gleichen Blätter, welche die Proben zu den Blattfarbstoffanalysen geliefert haben, wurden auf ihren Nikotingehalt untersucht (vgl. S. 77).

Den Nikotingehalt bestimmten wir nach folgender Methode :

Die lufttrockenen Blätter werden drei Stunden bei 60° C getrocknet. Zwei Gramm Tabak werden mit 40 ccm zehnpromzentiger Natronlauge und 10 Gramm Kochsalz gemischt und der Wasserdampfdestillation unterworfen. Das Destillat wird in dreipromzentiger Salzsäure aufgenommen und mit zehnpromzentiger Kieselwolframsäure gefällt. Die Niederschlag wird filtriert und gewogen.

Die Ergebnisse der einzelnen Bestimmungen an Pflanzen der Versuchsserien sind in Fig. 50 und 51 zusammengestellt.

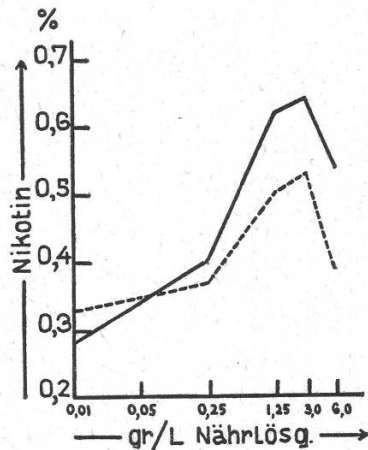


Fig. 50.

Nikotingehalt (Ammersforter)
 ————— Kaliumnitrat
 - - - - - Ammonnitrat

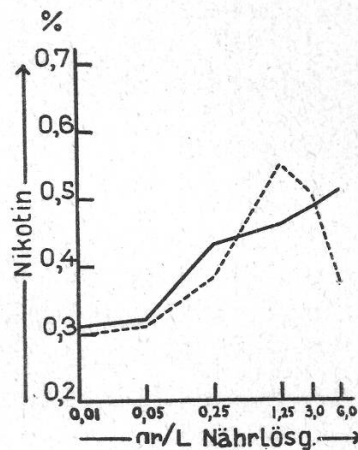


Fig. 51.

Nikotingehalt (White Burley)
 ————— Kaliumnitrat
 - - - - - Ammonnitrat

Auffallend ist vor allem der geringe Gehalt an Nikotin. Er schwankt bei Ammersforter zwischen 0,28—0,64 Prozent, bei W. Burley zwischen 0,30—0,55 Prozent. In erntereifen Blättern variierten die Werte je nach Standort der Pflanze für Ammersforter zwischen 1,34—2,15 Prozent, und für W. Burley zwischen 0,75—1,18 Prozent.

Der Verlauf der Kurven zeigt eine Ähnlichkeit mit den Wachstumskurven. Mit Ausnahme von W. Burley bei steigenden KNO_3 -gaben, der in den Wachstumskurven schon eine Ausnahme macht, zeigen die drei anderen Versuchsreihen ein deutliches Maximum. Seine Lage ist in bezug auf das Maximum des Wachstums überall eine Klasse nach rechts verschoben.

Der Nikotingehalt steigt mit zunehmender Grösse der Pflanzen, setzt das Steigen über das Maximum des Wachstums hinweg kurze Zeit fort und schliesst sich nachher dem Sinken der Wachstumskurve an.

C. Zusammenfassung.

Methodisches.

Das in beschränkter Menge vorliegende Untersuchungsmaterial und der geringe Farbstoffgehalt der zu untersuchenden Blätter veranlassen uns, die Blattfarbstoffe spektrographisch zu bestimmen.

Um die quantitative spektrographische Bestimmung der einzelnen Blattfarbstoffe ausführen zu können, untersuchten wir :

1. Die Extinktionskurven von Chlorophyll a, Chlorophyll b, Carotin und Xanthophyll;
2. das Verhalten der einzelnen Farbstoffe im Gemisch und in bezug auf das Beer-Lambertsche Gesetz.

Der für eine quantitative Trennung ungünstige Verlauf der Extinktionskurven im kurzwelligen Teil des Spektrums verunmöglichte eine rein spektrographische Trennung des Vierfarbstoffgemisches, das wir in unseren ätherischen Blattauszügen vorfanden.

Zur quantitativen Trennung des Gemisches können, je nachdem Carotin und Xanthophyll einzeln oder als Gesamtcarotinidgehalt bestimmt werden sollen, folgende zwei Wege eingeschlagen werden :

1. Aufnahme des Vierstoffgemisches im sichtbaren Teil des Spektrums und unmittelbare Bestimmung von Chlorophyll a und Chlorophyll b. Nachherige chemische Abtrennung der gelben Begleiter und getrennte spektrographische Bestimmung von Carotin in Hexan und Xanthophyll in Methylalkohol.
2. Bestimmung von Chlorophyll a, Chlorophyll b und der Summe der gelben Begleiter mittelst einer photographischen Spektralaufnahme des ätherischen Blattauszuges.

Experimentelles.

1. Nach Einteilung der Pflanzen in Klassen der Blattflächengrösse, zeigen erntereife Blätter beider Varietäten innerhalb der einzelnen Klassen sehr geringe Unterschiede in ihrem Farbstoffgehalt. Mit steigender Blattfläche nehmen die einzelnen Farbstoffe pro Flächeneinheit zu.
2. Im Zeitpunkt der *Erntereife* enthalten die grünen Ammersforter-Blätter bei gleichem Carotinidgehalt achtmal mehr Chlorophyll als die gelben W. Burley-Blätter. 70—100 % des in gelben Blättern noch vorhandenen Chlorophylls wurde in den Blattnerven gefunden. Der grosse Farbunterschied erntereifer W. Burley- und Ammersforter-Blätter beruht auf dem beinahe vollständigen Schwinden des Chlorophylls aus den W. Burley-Blattspreiten. Derselbe Carotingehalt, der die gelbe Farbe von W. Burley bedingt,

wird bei Ammersforter durch das noch vorhandene Chlorophyll verdeckt.

3. Im *Verlaufe* der *Vegetationsperiode* ausgeführte Blattanalysen an Blättern in verschiedener Höhe beider Varietäten lassen ein von den untersten Blättern nach oben fortschreitendes Vergilben erkennen. Der grosse Chlorophyllverlust der W. Burley-Blätter fällt mit der Zeit ihres grössten Wachstums zusammen. Bei gleichbleibendem Verhältnis zwischen Chlorophyll a und b verkleinert sich der Quotient $\frac{\text{Carotin}}{\text{Xanthophyll}}$ mit zunehmender Reife des Blattes. Die gelben Farbstoffe, die sich aus abgestorbenen Blättern extrahieren lassen, sind weder Carotine noch Xanthophylle.
4. Die eigenartigen Vergilbungserscheinungen bei W. Burley können weder mit einer herbstlichen Vergilbung noch mit dem Verhalten von Albinoblättern in Uebereinstimmung gebracht werden. Hingegen zeigt ein Vergleich der grobchemischen Analyse und des Gefrierpunktes bei Ammersforter- und W. Burley-Blättern eine Uebereinstimmung der letzteren mit Albinoblättern.
5. Durch *steigende N-Gaben* in fliessender Nährlösung kann der Vergilbungsgrad erntereifer Blätter weitgehend beeinflusst werden. Mit steigenden N-Gaben nimmt die Blattfarbstoffkonzentration ständig zu, während das Wachstum der Pflanze und der Blattfläche bei mittleren N-Gaben ein Optimum zeigen.
6. Der Verlauf der Nikotinzunahme gleicht derjenigen der Wachstumszunahme, nur liegt der höchste Nikotingehalt bei grösseren N-Gaben.

Die vorliegende Arbeit wurde im Laboratorium für tropische und subtropische Nutzpflanzen am pflanzenphysiologischen Institut der Eidgenössischen Technischen Hochschule und im physikalisch chemischen Institut der Universität Zürich ausgeführt.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, allen zu danken, die mir während meiner Arbeit helfend zur Seite gestanden sind. Vor allem fühle ich mich Herrn Prof. A. Sprecher zu tiefem Danke verpflichtet. Während der ganzen Arbeit hat er mir sein vielseitiges Wissen jederzeit gerne zur Verfügung gestellt. Herrn Prof. P. Jaccard möchte ich für sein wohlwollendes Entgegenkommen, das mir die Durchführung der Versuche am pflanzenphysiologischen Institut ermöglichte, meinen besten Dank aussprechen. Ebenso möchte ich Herrn P.-D. Dr. A. Frey-Wyssling für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte, danken.

Für den spektrographischen Teil der Arbeit hatte ich das Glück, in Herrn P.-D. Dr. F. Almasy einen Fachmann zu finden, der mich in liebenswürdigster Weise in die Spektrographie eingeführt und keine Mühe

gespart hat, mir über viele Hindernisse hinwegzuhelfen. Er kann meines wärmsten Dankes versichert sein.

Den Herren Prof. P. Karrer in Zürich und A. Stoll in Basel danke ich für die mir zur Verfügung gestellten reinen Blattfarbstoffe, ebenso Herrn Prof. H. v. Halban für die Erlaubnis, die spektrographischen Untersuchungen am physikalisch-chemischen Institut der Universität Zürich ausführen zu dürfen.

Herrn Bolens, Direktor der Versuchsanstalt Mont Calme in Lausanne, verdanke ich das Saatgut für unsere Versuche und möchte auch ihn an dieser Stelle meines Dankes versichern.

Schriftenverzeichnis.

1. Baur, E.: Berichte der deutschen Bot. Gesellschaft, 22, 1904
2. Castille und Henri: Méthodes de purification des solvents organiques: alcool, éther, hexan. Bulletin de la Soc. de Chimie biologique, Paris 1924.
3. Comes, O.: Delle razze dei tabacchi, Napoli 1905.
4. Fliche et Grandeau: Annales de Chimie et de Physique, 5^{me} série, 8, 1876.
5. Goerrig, E.: Vergleichende Untersuchungen über den Carotin- und Xanthophyllgehalt grüner und herbstlich gelber Blätter. Diss. Dresden 1917.
6. Gehrke und Lau: Zeitschrift für Sinnesphysiologie, 53, 1923. S. 174 ff.
7. Grandsire, A.: Chimisme des feuilles privées de chlorophyll. Annales des sciences naturelles, 10, 1926.
8. Gris, E.: Cpt. rend. hebdom. des séances de l'Acad. des sciences. 19, 1844.
9. Henri, V.: Methode der quantitativen Messung der Absorption im Ultravioletten. Physik. Zeitschr., 14, 1913.
10. Honing, J. A.: Bot. Zeitschr. 47, 1918.
11. Kronacher, C.: Biometrik, Berlin 1930.
12. Kuhn und Brockmann: Ber. d. chem. Gesellschaft, 66, 1931.
13. Kuhn und Lederer: Ber. d. chem. Gesellschaft, 64, 1931.
14. Lubimenko, W.: Über die Verwandlung der Plastidenfarbstoffe im lebenden Pflanzengewebe, 1916. (Russisch.)
15. Lundegårdh, H.: Die Ernährung der Pflanze, Jena 1932.
16. Maquenne, L.: Sur le poids moléculaire moyen de la matière soluble dans les graines de germination, C. R. Ac. Sc., Paris 1897.
17. Molisch, H.: Die Pflanzen in ihren Beziehungen zum Eisen. 1892.
18. Rippel, A.: Biochemische Zeitschrift, 140, 1923.
19. Rissmüller, L.: Über die Stoffwanderung in der Pflanze. Landw. Versuchsstat., 17, 1874.
20. Rywosch, S.: Zur Stoffwanderung im Chlorophyllgewebe, Bot. Zeitg., 66, 1908.
21. Saposchnikoff, W.: Bildung und Wanderung der Kohlehydrate in den Laubblättern. Ber. d. d. Bot. Gesellschaft, 8, 1903.
22. Schultze und Schütz: Die Stoffwanderung in den Laubblättern des Baumes, Landw. Versuchsstat., 71, 1909.
23. Shive und Stahl: Constant rates of continuous solution renewal for plantes in water cultures. Bot. Gazette, vol. 84, No. 3, 1927.

24. Sidorin, M.: Aus den Resultaten der Vegetationsversuche und Laboratoriumsarbeiten von D. Prianischnikow, 10, 1914.
 25. Smith und Milner: Journal of Biol. Chem., 104, No. 2, 1934.
 26. Sorauer, P.: Zur anatomischen Analyse der durch saure Gase beschädigten Pflanzen. Ber. d. d. bot. Gesellschaft, 21, 1903.
 27. Sprecher, A.: Recherches cryoscopiques sur des sucs végétaux. Revue générale de botanique, 33, 1921.
 28. Sprecher, A.: Der osmotische Druck des Zellsaftes gesunder und mosaikkranker Tabakpflanzen. Ann. d. Jard. bot. Buitenzorg, 2^{me} série, vol. 14, 1915.
 29. Stahl, E.: Zur Biologie des Chlorophylls, Jena 1909.
 30. Swart, N.: Die Stoffwanderung in ablebenden Blättern, Jena 1914.
 31. Timpe, A.: Beiträge zur Kenntnis der Panaschierung, Göttingen 1900.
 32. Weigert, F.: Ber. d. d. chem. Gesellschaft, 49, 1916. S. 1496 ff.
 33. Weigert, F.: Optische Methoden der Chemie, Leipzig 1927.
 34. Willstätter und Stoll: Unters. über die Assimilation der Kohlensäure, Berlin 1918.
 35. Zöllner, Ph.: Untersuchungen von Buchenblättern in ihren verschiedenen Wachstumszeiten, Landw. Versuchsstat. 1864.
-