©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Phyton (Austria)	Vol. 13	Fasc. 1–2	15–43	30. IX. 1968

Ursache und Vorkommen einer fermentabhängigen Grünfärbung gelber *Ranunculus*-Blüten

Von

Ingrid URSCHLER *)

Mit 21 Abbildungen

Eingelangt am 26. Oktober 1967

1. Einleitung 15
2. Untersuchungen an gelben *Ranunculus*-Blüten 17
   2.1. Bau der Blüte 17
   2.2. Weißwerden der Petalen beim Abfallen 17
   2.3. Postmortale Grünfärbung 17
   2.4. Rotfärbung mit konzentrierter Kalilauge 19
   2.5. Das Vorkommen der beiden Reaktionen 19
3. Chemische Untersuchungen 21
   3.1. KOH-Test an isolierten Substanzen 21
   3.2. Karfioltest 21
   3.3. Isolierung und Identifizierung von Gossypitrin und Ranupin . 23
   3.4. Vergleich der vier Pigmente 24
   3.5. Diskussion 24
4. Systematische Untersuchungen 26
   4.1. Gliederung der Gattung *Ranunculus* 26
   4.2. Vorkommen der Rot- und Grünfärbung 26
   4.3. Papierchromatogramme 28
5. Postmortaler Farbwechsel außerhalb der Gattung *Ranunculus* . . 35
   5.1. Grünfärbung gelber Blüten 35
      5.1.1. Verhalten beim Abtöten mit fermentschonenden Mitteln . 36
      5.1.2. KOH-Probe 37
      5.1.3. Chromatogramme 37
   5.2. Andere Verfärbungen 39
6. Zusammenfassung 40
7. Schrifttum 41

---

*) Anschrift: Dr. Ingrid URSCHLER, Professor am Werkschulheim Felbertal, A-5323 Ebenau.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

1. Einleitung

Der Farbwechsel der Pflanzen, namentlich ihrer Laubblätter, Blütenteile und Früchte, hat die Botaniker aller Zeiten fasziniert; er wird in zahlreichen Arbeiten beschrieben, durch mikroskopische und chemische Befunde näher erklärt und als physiologisches Phänomen gedeutet (cf. SEYBOLD 1954).

Ein Farbwechsel kann sich unter ganz verschiedenen Bedingungen vollziehen:

a) als Ausdruck des normalen Ontogeneseverlaufes in der lebenden, intakten Zelle (z. B. Verfärben von Blütenblättern während des Erblühens, von Früchten während des Reifens).

b) durch modifizierende Umweltbedingungen (z. B. durch Parasitentätigkeit, an Wundrändern, unter Einfluß von Licht, Wärme, Mineralstoffdüngung u.s.w.).

c) während der Autolyse absterbender Zellen unter natürlichen Bedingungen (z. B. in abgefallenen Laub- und Blütenblättern).

d) beim Abtöten der Gewebe im Experiment (z. B. durch mechanisches Zerstören, durch Kälte, Hitze, Wasserentzug, oder durch Zellgifte wie Alkohol, Benzol, Chloroform etc.).

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit den beiden letzten Punkten, mit dem postmortalen Farbwechsel.

Postmortale Farbänderungen an Pflanzen sind oft unerwünscht. In der Regel können sie durch Fermentzerstörung (kurzes Erhitzen auf Eiweißgerinnungstemperatur, Blanchieren von Obst und Gemüse, Bügeln von frischen Herbarbelegen) vermieden werden.

Daß Fermente an der so häufigen Braunfärbung mitwirken, zeigt der Todesringversuch von MOLISCH 1931 und ein ähnlicher Versuch von WERNER 1928. Beim Durchstechen eines grünen Laubblattes mit einer sehr heißen Nadel entsteht in einem gewisen Abstand um die Einstichstelle ein brauner Ring. Im Zentrum werden die Fermente inaktiviert, das Gewebe kann sich nicht verfärben; in der Ringzone ist die Temperatur für kurze Zeit gerade so hoch, daß die Zellen getötet, nicht aber die Fermente zerstört werden.

Diese Methode wurde vielfältig modifiziert (Eintauchen der Blätter in siedendes Wasser, Berühren mit einem heißen Gegenstand, z. B. mit einer glimmenden Zigarette) und wiederholt als Schnellmethode zum Nachweis von Pflanzeninhaltsstoffen verwendet. GICKLHORN 1947 konnte zeigen, daß die Reaktion nicht nur an Laubblättern, sondern auch an anderen Pflanzenorganen positiv ausfällt — besonders stark an Kronblättern und Früchten, besonders schwach an Wurzeln und Staubblättern — und daß eng nebeneinander liegende Zellen bei anatomischer Verschiedenheit verschieden reagieren können (z. B. Epidermiszellen, Schließzellen, Haare). DYKYJ-SAJFERTOVA 1958 und GIBBS 1961 testeten

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

über tausend Samenpflanzen und werteten die Ergebnisse chemosystematisch aus.

In diesen Arbeiten ist nur von braunen Absterbfarben die Rede. Wo beim Pressen und Trocknen von Pflanzen andere Farben entstehen, werden diese in den Florenwerken als Seltenheiten besonders hervorgehoben.

Zunächst wurden an umfangreichem Material, vor allem an Blüten, zwei Fragen geprüft: 1. Lassen sich beim Abtöten mit fermentschonenden Mitteln auch andere als braune Farben auslösen? und 2. Entspricht der experimentell erhaltene Farbton der natürlichen Autolysenfarbe?

Beide Fragen können bejaht werden. Zu Punkt 2 wurde allerdings eine auffallende Ausnahme gefunden: Die Petalen gelber *Ranunculus*-Blüten nehmen beim Abtöten eine tief dunkelblaugrüne Farbe an, beim Absterben auf der Pflanze werden sie hingegen weiß.

Die vorliegende Arbeit soll die chemische Ursache dieses außergewöhnlichen Farbwechsels aufdecken und sein Vorkommen innerhalb der Gattung *Ranunculus* darlegen.

2. Untersuchungen an gelben *Ranunculus*-Blüten

2.1. Bau der Blüte

Die *Ranunculus*-Blüte besitzt 5 Kelchblätter, 5 Kronblätter, zahlreiche Staubblätter und zahlreiche Fruchtblätter, welche sich zu einsamigen Nüßchen entwickeln.

Die Petalen der gelb blühenden Arten bestehen aus zwei Abschnitten. Der basale, nicht glänzende Abschnitt nimmt etwa das untere Drittel des Kronblattes ein und grenzt durch eine Zackenlinie an den distalen glänzenden Abschnitt. Dieser enthält in der oberen Epidermis fettes Öl und im subepidermalen Gewebe Stärke (cf. MÖBIUS 1885, KÖSTLIN 1924 u. a.).

2.2. Weißwerden der Petalen beim Abfallen

Die Zellen der oberen Kronblattepidermis sterben oft schon während der Anthese ab. Zellkerne und Chromoplasten zerfallen, die gelben Öltröpfchen entfärben sich, das Kronblatt wird weiß. Die Stärkekörner der subepidermalen Schicht bleiben erhalten, weil den Zellen stärkeabbauende Fermente fehlen (KÖSTLIN 1924).

2.3. Postmortale Grünfärbung

Beim Abtöten ohne Fermentzerstörung (Einlegen in organische Lösungsmittel oder deren Dämpfe, Einfrieren und Wiederauftauen, Trocknen und Wiederanfeuchten, Todesringmethode) werden die Petalen wider Erwarten nicht weiß, sondern dunkel blaugrün. Die grüne Farbe tritt meist nicht flächenhaft, sondern in einem Streifenmuster auf. Die

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Zonen um die Adern verfärben sich, das dazwischenliegende Gewebe bleibt gelb.

Der Inhalt der Epidermiszellen von in Alkohol oder Benzol getauchten Kronblättern schrumpft und löst sich in zahlreiche gelbe Tröpfchen auf, die je nach ihrer Größe ± lebhafte BROWNsche Molekularbewegung zeigen. Sie färben sich innerhalb weniger Minuten von gelb über gelbgrün und grün nach dunkelblaugrün. In manchen Zellen machen alle Tropfen den Farbwechsel durch, in anderen nur einzelne. In jüngeren Petalen enthalten die Zellen in der Nähe der Adern häufig noch etwas Chlorophyll, das man an seiner Rotfluoreszenz erkennen kann. Wo sich der blaugrüne Farbstoff entwickelt, verschwindet die Rotfluoreszenz und macht einer dunklen Absorptionsfarbe Platz. Der blaugrüne Farbstoff ist also sicher kein Chlorophyll.

Bei Säurezusatz wird das blaugrüne Pigment rötlich, bei anschließendem Laugenzusatz wieder grün. Dieser Versuch kann an einer Blüte mehrmals wiederholt werden.

Die postmortale Grünfärbung ist an bestimmte Bedingungen gebunden. Tötet man durch kurzes Einfrieren Blüten, die sich über alkalischer Pyrogallollösung, also in einem sauerstoffreien Raum befinden, so verfärben sie sich nicht, ehe sie wieder mit Luftsauerstoff in Berührung kommen. Getrocknete bzw. mit organischem Lösungsmittel infiltrierte Blüten bleiben gelb, bis ihnen wieder Wasser bzw. Wasser und Sauerstoff zugeführt wird. Auf Eiweißgerinnungstemperatur erhitzte Blüten verlieren die Fähigkeit zur Grünfärbung vollständig. Demnach sind neben hitzeempfindlichen Zellinhaltsstoffen (vermutlich Fermenten) auch etwas Wasser und Sauerstoff notwendig.

In der Natur findet man gelegentlich auf gelbblühenden *Ranunculus*-Arten einzelne Kronblätter mit grünen Flecken oder Streifen. Sie weisen entweder Verletzungen auf, oder sie sind alt und schon im Abfallen. Auch an Herbarpflanzen läßt sich das grüne Pigment beobachten, besonders häufig und besonders stark an *Ranunculus arvensis* und *R. ophioglossifolius*. An nicht zu alten Herbarbelegen kann man die Grünfärbung noch experimentell auslösen, einfach dadurch, daß man die Blüten mit Wasser anfeuchtet.

Es scheint so, als ob der Grad der Verfärbung und die Verteilung der verfärbten Stellen sippenspezifisch wäre. An älteren Petalen von *Ranunculus acris* und *R. lanuginosus* können die Adern von der Basis bis zur Spitze durchgehend verfärbt sein, bei *R. lanuginosus* und *R. repens* ist die Pigmententwicklung im unteren Blattdrittel besonders stark, bei *R. repens* und *R. nemorosus* ist die Grenze zwischen dem glänzenden und dem nicht glänzenden Kronblattabschnitt am stärksten verfärbt. Die Adern von *R. nemorosus, R. bulbosus* und *R. montanus* sind im oberen, glänzenden Kronblattabschnitt am intensivsten grün.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Die Verfärbung schreitet von der Basis und von den Rändern der Petalen nach oben und innen fort.

Bei jungen Petalen ist oft die ganze Fläche grün, bei alten verfärben sich vorwiegend die Adern. Alte Kronblätter verfärben sich rascher als junge; manchmal ist schon nach 3 Minuten eine Reaktion zu sehen. Bis zur vollständigen Ausbildung des Musters vergehen meist etwa ¼ bis 2 h. Staubblätter und Fruchtblätter reagieren bei manchen Arten (z. B. *R. montanus, R. flammula*) stärker, bei anderen (z. B. *R. nemorosus, R. repens* und *R. bulbosus*) schwächer als die Kronblätter.

Offenbar ist diese blaugrüne Verfärbung gelber *Ranunculus*-Blüten noch nicht beschrieben worden.

2.4. Rotfärbung mit konzentrierter Kalilauge

Die Blüten unserer häufigen heimischen *Ranunculus*-Arten nehmen mit konzentrierten Alkalien eine kräftige, fast leuchtend rote Farbe an, die allerdings nach einiger Zeit in braun übergeht. Die Rotfärbung ist meist gleichmäßig über die Kronblattfläche verteilt. Auch Kelchblätter, Staub- und Fruchtblätter geben diese Reaktion. Ursprünglich wurde nur eine ausgesprochene Rotfärbung positiv gewertet, später wurde auch auf Orangefärbungen geachtet. Solche kommen zwar bei gelben und weißen (subgen. *Batrachium*) Blüten häufig vor, sie können aber ein Hinweis auf KOH-positive Inhaltsstoffe in sehr schwacher Konzentration sein.

Besonders intensiv färben sich meist die Staubblätter, nicht nur die Staubeutel, sondern auch die Staubfäden. Bei den Fruchtblättern ist die Stärke des Farbumschlages wegen der störenden grünen, später braunen Farbe nicht so deutlich zu erkennen. Die Kronblätter von *R. bulbosus, R. lateriflorus, R. parviflorus, R. septentrionalis, R. hispidus* und *R. cordigerus* färben sich vor allem im unteren Drittel stark an. Die Petalen von *R. lingua* werden an der Basis über der Nektarschuppe schwach orange. Bei *R. flammula* färben sich die Staubblätter und Fruchtwände besonders stark, auf den Kronblättern treten die Adern oft als rote Linien auf schwächer gefärbtem Grund hervor. Bei *R. sardous* reagieren die Staubblätter am stärksten, Fruchtblätter und Kelchblätter werden höchstens orange, die Kronblätter werden entweder orange oder im unteren Drittel rot, im oberen Teil orange mit roten Adern. Bei dieser Sippe scheinen Menge und Lokalisation der Inhaltsstoffe zu variieren.

2.5. Das Vorkommen der beiden Reaktionen

Postmortale Grünfärbung und Rotfärbung mit KOH wurden an umfangreichem Material untersucht.

Tabelle I gibt das Verhalten gelbblühender, vorwiegend mitteleuro-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle I

Farbreaktionen von *Ranunculus*-Blüten

Sectio	Species	mit Benzol grün				mit KOH rot				Lebend Frisch
		K	C	A	G	K	C	A	G	Herbar
Chloeranunculus	*R. gramineus*	—	—	—	—	—	—	—	—	F
Hecatonia	*R. sceleratus*	—	—	—	—	—	—	—	—	L, H
Ranunculus	*R. pygmaeus*	?	?	?	?	(or)	—	—	—	H
	R. auricomus	—	—	—	—	or	—	—	—	L, H
	R. cassubicus	—	—	—	—	or	(or)	or	—	F
Thora	*R. hybridus*	?	?	?	?	(or)	—	—	—	H
	R. thora	—	—	—	—	(or)	(or)	—	—	L, H
Chrysanthe	*R. acris*	+	+	+	+	+	+	+	+	L, H
	— subsp. *strigulosus*	+	+	+	+	+	+	+	+	H
	R. lanuginosus	(+)	+	+	+	+	+	+	+	L, H
	R. oreophilus	+	+	+	+	+	+	+	+	H
	R. grenierianus	+	+	+	+	+	+	+	+	H
	R. carinthiacus	+	+	+	+	+	+	+	+	F
	R. aduncus	+	+	+	+	+	+	+	+	H
	R. montanus	+	+	+	+	+	+	+	+	L, H
	R. gouani	+	+	+	+	+	+	+	+	H
	R. nemorosus	(+)	+	(+)	(+)	+	+	+	+	L, H
	R. polyanthemos	+	+	+	?	+	+	+	+	H
	R. repens	—	+	(+)	—	+	+	+	+	L, H
	R. bulbosus	(+)	+	(+)	—	+	+	+	+	L, H
	R. sardous	—	—	—	—	(or)	or	+	(or)	L, H
Echinella	*R. muricatus*	—	—	—	—	or	or	+	+	L, F
	R. arvensis	+	+	+	—	+	+	+	+	L, H
Micranthus	*R. lateriflorus*	?	?	?	?	+	+	+	+	H
Flammula	*R. ophioglossifolius*	+	+	+	+	+	+	+	+	H
	R. flammula	—	—	+	+	+	+	+	+	L, H
	R. reptans	?	?	?	?	+	+	+	+	H
	R. lingua	—	—	—	—	or	(or)	or	or	L, H
Ranunculastrum	*R. illyricus*	—	—	—	—	+	+	+	+	L, H

Abkürzungen: K = Kelchblätter, C = Kronblätter, A = Staubblätter, G = Fruchtblätter; or = orange, ( ) schwach bzw. nicht immer; L = lebend, H = Herbar, F = kurz vor der Untersuchung getrocknet.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

päischer *Ranunculus*-Arten wider. Es wird jeweils angegeben, ob die Befunde von lebenden Blüten (L), von Herbarbelegen (H) oder von frisch (d. h. einige Tage oder Wochen vor der Untersuchung) getrockneten Blüten (F) stammen. Die Reaktion mit KOH ist auch an 150—200 Jahre alten Herbarbelegen noch einwandfrei zu erkennen. Wenn sie auch an den Kronblättern manchmal blaß ausfällt, so ist sie doch an den Staubblättern immer deutlich. Die postmortale Grünfärbung läßt sich an alten Herbarbelegen nicht immer erzielen; daher wurden negative Ergebnisse nicht gewertet, wenn sie ausschließlich an Herbarpflanzen gewonnen waren.

Eigenartig war das Verhalten des nordamerikanischen *R. hispidus*. Die Narben und Staubfäden von frisch getrockneten Blüten aus North Dakota färbten sich nach dem Anfeuchten mit Wasser nicht grün, sondern rot. Mit NH_3 schlug die rote Farbe in grün um. Durch abwechselnden Säure- und Laugenzusatz konnte mehrmals umgefärbt werden. Mit KOH färbten sich alle Blütenteile rot, die Blütenblätter nur im unteren Abschnitt.

Als Ergebnis kann festgehalten werden: eine postmortale Grünfärbung kommt nur dort vor, wo es eine Rotfärbung mit Kalilauge gibt. Die Rotfärbung ist weiter verbreitet als die Grünfärbung. Beide Reaktionen, besonders die Grünfärbung, können auf den Kronblättern Muster bilden.

3. Chemische Untersuchungen

3.1. KOH-Test an isolierten Substanzen

Aus getrockneten Blüten von Vertretern der Sectio *Chrysanthe*, hauptsächlich *R. acris* und *R. repens*, wurden 4 Flavonglykoside isoliert, die — in Lösung oder auf Papier — eine Rotfärbung mit konzentrierter Kalilauge gaben. Die Substanzen wurden vorerst mit den Buchstaben B, D, R_2 und R_3 bezeichnet.

Um herauszufinden, welche von den Blüteninhaltsstoffen die postmortale Grünfärbung hervorrufen, wurde der Karfioltest eingesetzt.

3.2. Karfioltest

Der Karfiol oder Blumenkohl (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*) gehört zu den wenigen pflanzlichen Objekten, die sich nach Verletzung oder nach dem Abtöten der Zellen mit fermentschonenden Mitteln nicht verfärben. Flächenschnitte von Karfiol hatten sich als Fermentquelle für die oxydative Braunfärbung phenolischer Substanzen bewährt (URSCHLER 1959). Offenbar fehlen dem Karfiol entsprechende Substrate — Chromatogramme eines methanolischen Rohextraktes von Blumenkohl zeigen in Butanol : Eisessig : Wasser 4 : 1 : 5 nur einen blau fluoreszierenden Fleck, der sich vom Startpunkt aus in die Höhe zieht

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

— während Fermente, die einen Farbwechsel katalysieren können, vorhanden sind.

Der Karfioltest wurde auf verschiedene Weise variiert. Erst wurde mit Flächenschnitten in einer feuchten Kammer gearbeitet, die Substrate wurden in Form von frischen Chromatogrammflecken aufgelegt, in wässeriger oder methanolischer Lösung aufgeträufelt oder als feste Substanzen verrieben. Um eine möglichst innige Durchmischung von Karfioloberflächen und Substrat zu erreichen, wurde später nur noch im Mixer zerkleinerter, mit Wasser vermischter Karfiolbrei verwendet. Kontrollen mit abgekochtem Karfiol ergaben in allen Fällen keine Verfärbung, höchstens ein schwaches Nachdunkeln des Karfiols.

Zahlreiche Rohprodukte und verschiedene Flavone (z. B. Quercetin-, Kämpferol-, Luteolin- und Apigeninderivate) gaben mit frischem Blumenkohl entweder keine Farbänderungen oder eine mehr oder weniger starke Braunfärbung.

Die Substanzen B, R_2 und R_3 aus *Ranunculus* färbten sich (auf Papier, in wässeriger oder methanolischer Lösung, als feste Substanz) mit Karfiol grün, D reagierte nicht.

Auch methanolische Rohextrakte von *Ranunculus*-Blüten färbten sich mit Karfiolbrei grün; die Intensität der Grünfärbung entsprach ungefähr der Intensität der Verfärbung in den Blüten selbst; die Extrakte von *R. acris* und *R. montanus* färbten sich z. B. stärker als der von *R. repens*. Die grünen Pigmente verblassen nach sehr langem Stehen im Kontakt mit dem Blumenkohl. Mit Säuren werden sie rot, mit Ammoniak wieder grün, ein mehrmaliges Umfärben ist möglich. Aus Essigsäure gewonnene Kristalle von B färbten sich im Karfioltest rot, das rote Produkt wurde mit NH_3 tief dunkelgrün.

Eine Grünfärbung der gelben Substanzen ergibt sich auch bei Oxydation in vitro, z. B. mit Kaliumferricyanid; in schwach saurer Lösung entsteht ein rötliches, in schwach alkalischer ein grünes Oxydationsprodukt, ein Umfärben mit Säuren und Laugen ist möglich.

Nach sehr langer Zeit werden die Substanzen auch vom Luftsauerstoff zu grünen Verbindungen oxydiert, vor allem, wenn sie in feiner Verteilung vorliegen.

Welche Fermente im Karfiol bzw. in den Blütenzellen an der Reaktion beteiligt sind, läßt sich natürlich nicht sagen. Jedenfalls spielen sich in absterbenden Pflanzenzellen bei schwach alkalischer Reaktion verschiedene irreversible Oxydationsvorgänge ab, die von Fermenten katalysiert werden.

Im einzelnen verfärben sich die drei aus *Ranunculus* isolierten Stoffe in folgender Weise: sehr rasch und stark reagiert B. Über gelbgrün, das schon nach 10 Minuten zu sehen ist, grün, blaugrün und dunkelblau wird nach einigen Stunden ein fast schwarzer Farbton erreicht. Mit abgekochtem Karfiol ist frühestens nach Stunden eine

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

(spontane) Grünfärbung von B zu bemerken. R_2 färbt sich mit frischem Karfiol beinahe ebenso rasch grün wie B. Auch mit abgekochtem Blumenkohl sowie beim Hantieren mit R_2 in Luft tritt bald eine Grünfärbung auf. Am schwächsten und langsamsten reagiert R_3. Eine Farbänderung beginnt erst nach 1—4 Stunden, sie geht nicht über eine gelbgrüne bis grüne Stufe hinaus. Mit abgekochtem Karfiol tritt keine Reaktion ein.

In allen Fällen ist ein Farbwechsel nur dann deutlich zu sehen, wenn die Substanzen in genügend großer Konzentration vorliegen. An schwachen Chromatogrammflecken kann man auch unter der UV-Lupe keine Farbänderung wahrnehmen, weil sowohl die Ausgangssubstanz als auch das Reaktionsprodukt dunkle Absorptionsfarben haben.

3.3. Isolierung und Identifizierung von Gossypitrin und Ranupin

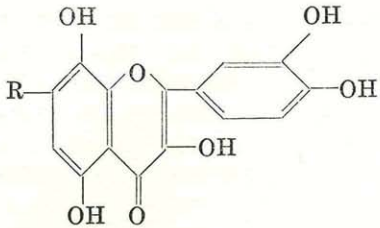
Das Aufarbeiten des Materials und das Identifizieren der beiden Glykoside B und D erfolgte am Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre in München (Vorstand Prof. Dr. L. HOERHAMMER) unter gründlicher Anleitung von Herrn Prof. Dr. H. WAGNER. Für vielseitige Hilfe und Unterstützung möchte ich an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Aus mehreren kg getrockneter Blüten wurde ein methanolischer Extrakt hergestellt, der Rückstand nach dem Einengen mit Wasser digeriert, die wässerige Lösung mit Äthylacetat ausgeschüttelt, das daraus gewonnene, vorgereinigte Mischkristallisat über Perlonsäulen aufgetrennt; die reinen Substanzen, ihre Hydrolysenprodukte und einige Derivate wurden an Hand ihrer Schmelzpunkte und Reaktionen, ihres chromatographischen Verhaltens, der Elementaranalysen, UV-, IR- und MNR-Spektren identifiziert.

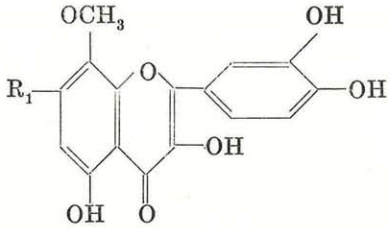
Die Substanz B erwies sich als Gossypitrin (= Gossypetin-7-glucosid; Gossypetin = 3,5,7,8,3',4'-Hexahydroxyflavon) und als Hauptursache für die postmortale Grünfärbung gelber *Ranunculus*-Blüten. Gossypitrin war vorher nur in wenigen Vertretern der Gattungen *Gossypium* und *Hibiscus* (*Malvaceae*) (KARRER 1958, HARBORNE 1967) und in *Chrysanthemum segetum* (*Compositae*) (GEISSMAN & STEELINK 1957) gefunden worden. Wahrscheinlich kommt Gossypitrin auch noch in einigen anderen *Compositae* vor, u. a. in *Buphthalmum salicifolium* (KIRMAYER 1959).

Die Substanz D wurde als 8-Methyl-gossypetin-7-galactosid bestimmt. Diese Verbindung dürfte vorher weder in der Natur gefunden noch synthetisiert worden sein. Sie könnte allerdings einem Flavonglykosid entsprechen, das KIRMAYER auf Chromatogrammen von verschiedenen Compositenblüten zusammen mit Gossypitrin gesehen hat. Wir gaben dem neuen Stoff den Namen Ranupin (Aglucon : Ranupenin).

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at



R = OH : Gossypetin
R = Glucose : Gossypitrin (= B)



R_1 = OH : Ranupenin
R_1 = Galactose : Ranupin (= D)

Die Substanzen R_2 und R_3 sind in wesentlich geringeren Mengen vorhanden. Sie sind sehr empfindlich und konnten vorläufig weder rein erhalten noch identifiziert werden. Sie sind vermutlich ebenfalls neue (oder sehr seltene) Flavonglykoside. An der fermentabhängigen Grünfärbung der *Ranunculus*-Blüten ist R_3 kaum, R_2 je nach Konzentration mehr oder weniger beteiligt.

3.4. Vergleich der vier Pigmente

Aus Tabelle II läßt sich erkennen, daß die vier Flavonglykoside und ihre Aglykone in verschiedenen Farbreaktionen weitgehend miteinander übereinstimmen. Aus der Reihe fällt D mit beständiger Rotfärbung in KOH und negativem Ausfall des Karfioltestes. Da sich das Aglykon von D und Gossypitrin nicht so verhalten, muß die Ursache für diese Besonderheit von Glykosid D in der doppelten Substitution an C_7 (Galactose) und C_8 (Methoxygruppe) liegen.

Um herauszufinden, welche Struktureigentümlichkeiten der Moleküle für unsere Farbreaktionen verantwortlich sind, wurden verschiedene, dem Gossypetin einigermaßen ähnliche Testsubstanzen geprüft. Eine Rotfärbung mit KOH kam bei Polyhydroxyflavonen mit 5 und 6 Substituenten (OH-, OCH_3-Gruppen, Zucker) gelegentlich vor, eine Grünfärbung mit Karfiolbrei wurde nur bei Equisporosid, einem Polyhydroxyflavonglucosid aus *Equisetum telmateia* beobachtet.

3.5. Diskussion

Von den aus *Ranunculus*-Blüten isolierten Flavonglykosiden färben sich vier mit Kalilauge rot, aber nur drei bei Oxydation grün. Bei Blüten, die viel B enthalten, ist die Grünfärbung stark, wo D überwiegt, fällt sie wesentlich schwächer aus. Die Musterbildung in den Blüten läßt sich bei der KOH-Reaktion durch unterschiedliche Farbstoffkonzentration erklären, bei der Grünfärbung durch unterschiedliche Ferment- und/oder unterschiedliche Farbstoffverteilung.

Lea & Swoboda 1956 fanden Gossypetin wegen seiner leichten

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle II

Übersicht über die Substanzen B, D, R_2 und R_3

Glykoside

	B	D	R_2	R_3
Schmelzpunkt	237—239°	240—241°	260—270°	~ 230°
Farbe	gelbgrün	gelb	blaßgelb	gelb
BRIGGS-LOCKER-Test	+	+	+	+
mit konz. KOH	ziegelrot vergänglich	ziegelrot bleibend	ziegelrot vergänglich	ziegelrot vergänglich
mit Karfiolbrei	rasch grün	—	rasch grün	nach Stunden grün
in Lösung	nach Stunden	—	rasch grün	—
in der Luft	grün			

Chromatogramme

unbesprüht UV	dunkelbraun	dunkelbraun	dunkelbraun	dunkelbraun
Bleiacetat TL	rot	orange	rot	orange
Bleiacetat UV	rosabraun	dunkelbraun	rosabraun	dunkelbraun
Aluminiumchlorid TL	ocker	ocker	ocker	ocker
Aluminiumchlorid UV	braungrüngelb	braungrüngelb	braungelbgrün	braungrüngelb
R_f in BEW	0,31	0,49	0,43	0,67
R_f in IAW	0,28	0,67	0,32	0,75

Aglykone

Schmelzpunkt	297—299°	über 295°	?	?
Farbe	gelbgrün	dottergelb	gelb	gelb
BRIGGS-LOCKER-Test	+	+	+	+
mit konz. KOH	ziegelrot vergänglich	ziegelrot vergänglich	ziegelrot vergänglich	ziegelrot vergänglich
mit Karfiolbrei	sofort grün	sofort grün	rasch grün	sofort grün
in Lösung	rasch grün	nach Stunden grün	nach Stunden grün	rasch grün
in der Luft				

Chromatogramme

unbesprüht UV	dunkelbraun	dunkelbraun	dunkelbraun	dunkelbraun
Bleiacetat TL	rot	ziegelrot	rot	orange
Bleiacetat UV	rosabraun	rosabraun	rosabraun	dunkelbraun
Aluminiumchlorid TL	ocker	ocker	ocker	ocker
Aluminiumchlorid UV	dunkelbraun	dunkelbraun	dunkelbraun	braungrüngelb
R_f in BEW	0,47	0,61	0,57	0,75
R_f in IAW	0,14	0,23	0,21	0,30

BRIGGS-LOCKER-Test: Grünfärbung mit verd. $FeCl_3$-Lösung zeigt freie OH-Gruppe an C_5 an. Chromatogramme: Papier: SCHLEICHER & SCHÜLL 2043 b mgl (absteigend). Laufmittel: BEW = Butanol : Eisessig : Wasser 4 : 1 : 5 (Oberphase); IAW = Isopropanol : Ameisensäure : Wasser 2 : 5 : 5. Sprühreagenzien: 25%ige wässerige Lösung von bas. Bleiacetat; 5% wässerige Lösung von $AlCl_3$; TL = Tageslicht. B = Gossypitrin (Aglucon : Gossypetin); D = Ranupin (Aglucon : Ranupenin).

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Oxydierbarkeit gut geeignet als unschädlichen antioxydativen Zusatz zu Speisefetten.

Es wäre möglich, daß dem Gossypitrin und seinen Derivaten eine physiologische Bedeutung zukommt. Diese müßte aber wegen der Seltenheit der Verbindungen ein äußerst beschränktes Vorkommen haben.

4. Systematische Untersuchungen

4.1. Gliederung der Gattung *Ranunculus*

Die Gliederung der Gattung *Ranunculus* in Subgenera und Sektionen, sowie die Reihenfolge der Arten und Sektionen ist bei den einzelnen Autoren sehr verschieden (cf. CANDOLE 1824, FREYN 1880, PRANTL 1888, HAYEK 1908, FIORI 1924, OVCZINNIKOV 1937, TUTIN 1964). JANCHEN 1949 und 1957 bringt ein vorläufiges neues System. Er stellt die weiß blühenden Sippen an den Anfang und schließt die gelb blühenden, beginnend mit *R. gramineus* (sect. *Chloeranunculus*) an. Diese Art ist morphologisch dem weißblühenden *R. pyrenaeus* sehr ähnlich. Die Petalen tragen eine Nektarschuppe, haben aber keinen Glanz, weil die Epidermis stark papillös ist. Es folgen 3 Sektionen ohne Nektarschuppe (*Hecatonia, Auricomus, Thora*) und 5 Sektionen mit Nektarschuppe (*Chrysanthe, Echinella, Micranthus, Flammula* und *Ranunculastrum*). Am Anfang stehen jeweils Sektionen mit faserigen, am Ende solche mit fleischigen Wurzeln (*Thora* und *Ranunculastrum*). Auf Sektionen mit handförmig geteilten Blättern (*Chrysanthe* und *Echinella*) folgen solche mit schmalen, ungeteilten Blättern (*Micranthus* und *Flammula*). JANCHENS sect. *Auricomus* sollte sect. *Ranunculus* heißen, weil *R. auricomus* als Lectotypus schon von BRITTON & BROWN 1923 ausgewählt wurde und somit die Priorität vor der von HITCHCOCK & GREEN 1929 vorgeschlagenen Art *R. acris* besitzt (Artikel 22 des Code 1966).

In der Nomenklatur der von mir untersuchten Taxa folgte ich im allgemeinen dem System JANCHENS, in der Schreibweise der Artnamen meist TUTIN 1964, für außereuropäische Taxa verschiedenen Quellen.

4.2. Vorkommen der Rot- und Grünfärbung

Tabelle I gibt die Ergebnisse der Untersuchungen mit den beiden Schnellmethoden (Rotfärbung der Blüten mit KOH, Grünfärbung beim Abtöten mit fermentschonenden Mitteln) wider. Für die Erlaubnis, Belege aus den Herbarien GZU und M zu prüfen, danke ich den Herren Prof. Dr. F. J. WIDDER und Prof. Dr. H. MERXMÜLLER herzlich. Nur so war es möglich, von manchen Arten 30 und mehr Einzelpflanzen verschiedenster Herkunft zu untersuchen.

Von anderen Arten standen allerdings oft nur wenige Exemplare zur Verfügung. Dennoch darf das Vorkommen oder Fehlen der beiden Reaktionen wohl als Artmerkmal angesehen werden.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Innerhalb der Familie der *Ranunculaceae* fehlen beide Reaktionen allen untersuchten weiß blühenden Sippen, darunter auch 19 Arten der Untergattung *Batrachium*, sowie allen untersuchten bunt oder gelb blühenden Arten außerhalb der Gattung *Ranunculus*. Nur die Staubblätter von *Ficaria verna* und *Caltha palustris* werden im Alter blaugrün und färben sich mit KOH rot. Auch die Staubblätter von *Thalictrum aquilegifolium* und *Aquilegia vulgaris* werden mit Kalilauge rot.

Wenn man von einer gelegentlichen Orangefärbung mit KOH absieht, fehlen beide Reaktionen den ersten vier gelbblühenden Sektionen. Ausländische Arten, die diesen vier Sektionen zuzuordnen wären, bleiben mit KOH gelb, z. B. *R. nivalis*, *R. hyperboreus*, *R. sulphureus*, *R. gmelini*, *R. cymbalaria*, *R. brevifolius*.

Bei der folgenden sect. *Chrysanthe* treten die beiden Reaktionen anfangs stark, später schwächer auf. Eine Grünfärbung fehlt der letzten Art *R. sardous* beinahe vollständig. Unter Pflanzen von etwa 35 Fundorten färbten sich ab und zu die Staubblätter, ein einziges Mal eine ganze Blüte grün. In der Tabelle nicht genannte Pflanzen, die von anderen Autoren zusammen mit Arten der JANCHENschen sect. *Chrysanthe* angeführt werden, färben sich ebenfalls mit Kalilauge rot, u. a. *R. velutinus*, *R. constantinopolitanus*, *R. carpathicus*, *R. caucasicus*, *R. bulbosus* subsp. *aleae*, *R. tuberosus*, *R. brutius*, *R. dentatus*, *R. occidentalis*, *R. neapolitanus*, *R. macounii*, *R. septentrionalis*, *R. hispidus*. Da diese Untersuchungen hauptsächlich an altem Herbarmaterial durchgeführt wurden, war eine Grünfärbung nur selten zu bemerken.

In der sect. *Echinella* gibt *R. arvensis* beide Reaktionen sehr stark. Aus diesem Grund würde man eine nahe chemische Verwandtschaft zu *R. sardous* nicht annehmen, während morphologische Ähnlichkeiten zweifellos bestehen (Einjährigkeit, Bau der Früchte). Bei anderen Arten dieser Sektion, *R. muricatus* und *R. chius* werden Staub- und Fruchtblätter mit Kalilauge rot, Kelch- und Kronblätter orange. Die Blüten von *R. parviflorus* werden in allen Teilen orange bis ziegelrot, die Kronblätter wie die von *R. muricatus* nur im unteren Teil. Eine postmortale Grünfärbung konnte nicht beobachtet werden. Die Blüten der drei genannten Arten verhalten sich demnach ähnlich wie die von *R. sardous* (vgl. Abschnitt 2.4.).

Die sect. *Micranthus* mit *R. lateriflorus* gibt die Rotfärbung mit KOH, nicht aber die Grünfärbung.

Die Vertreter der sect. *Flammula* reagieren, ähnlich wie die der sect. *Echinella*, uneinheitlich. *R. ophioglossifolius* gibt unter allen untersuchten Arten wohl die stärksten positiven Reaktionen. Bei *R. flammula* und *R. reptans* färben sich die Kelch- und Kronblätter mit KOH nur schwach rot, die Kronblätter im unteren Teil kräftiger als im oberen. *R. lingua* wird nur orange. Eine postmortale Grünfärbung konnte nur bei Staubblättern und Fruchtblättern von *R. flammula* gefunden werden.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Von *R. ophioglossifolius* und von *R. arvensis* findet man im Herbar oft stark blaugrün verfärbte Blüten.

Arten der letzten der JANCHENschen Sektionen, sect. *Ranunculastrum*, geben eine starke Rotfärbung mit Kalilauge. Diese wurde u. a. bei *R. illyricus, R. myriophyllus, R. flabellatus, R. Agerii, R. pedatus* und *R. millefoliatus* gefunden. Manche Sippen zeigen auch eine postmortale Grünfärbung, so *R. myriophyllus*.

4.3. Papierchromatogramme

Die Papierchromatographie ist zu einem Hilfsmittel der modernen Systematik geworden. Chromatogramme lassen sich in manchen Fällen sehr exakt nach Farb- und Formmerkmalen auswerten; sie können den Herbarbelegen beigegeben werden. Sie dürfen aber nicht als billiger Ersatz für chemische Analysen angesehen werden. Vgl. MERXMÜLLER 1967 a.

Am Beispiel der gelbblühenden *Ranunculus*-Arten konnten einige Erfahrungen über die Anwendbarkeit dieser Methode gesammelt werden.

Die methanolischen Rohextrakte der Blüten von 26 Arten wurden in Butanol : Eisessig : Wasser 4 : 1 : 5 (Oberphase) auf SCHLEICHER & SCHÜLL Papier 2043 b mgl absteigend chromatographiert und hernach mit 25% wässer. Bleiacetat, 5% wässer. Aluminiumchlorid und konz. Kalilauge besprüht, die Farben wurden im Tageslicht und im UV notiert. Über die Herkunft der Pflanzen gibt Tabelle III Auskunft, eine Auswahl an Chromatogrammen zeigen Abb. 1 bis 21.

Zuerst wurden die Extrakte möglichst vieler Arten — bis zu 12 haben auf einem Papierbogen Platz — nebeneinander aufgetragen und direkt verglichen. Diese Methode bewährte sich nicht. Es war zu schwierig, die auf verschiedenen Papieren gelaufenen und verschieden besprühten Parallelen miteinander zu koordinieren. Später wurden jeweils 4 verschiedene Extrakte nebeneinander aufgetragen, insgesamt drei Mal auf einem Papier. Nach dem Entwickeln und Trocknen wurden die Papiere auf der Vorderseite unbesprüht im Tageslicht und UV markiert, dann zerschnitten, jede Vierergruppe mit einem anderen Reagens besprüht und auf der Rückseite nochmals bezeichnet. So war es leichter, zwischen gleichen und verschiedenen Flecken zu unterscheiden.

Die R_f-Werte waren von Jahr zu Jahr verschieden. Die Zusammensetzung der Extrakte und die Farben der Flecken auf den Chromatogrammen änderten sich mit der Zeit.

Die Blütenrohextrakte enthalten viele Stoffe, die einander auf den eindimensionalen Chromatogrammen zum Teil überlagern. Chromatographiert man die Extrakte von einzelnen Blütenteilen, Staubblättern, Kronblättern usw. getrennt, so kann man Substanzen finden, die auf den Chromatogrammen ganzer Blüten nicht erkennbar sind (Abb. 18 bis 21).

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Tabelle III

Herkunft der chromatographierten Pflanzen

Species	Fundort	Sammler	Fund-jahr	Unter-sucht
R. gramineus	Bot. Garten, Graz	WIDDER	1961	1961
R. sceleratus	North Dakota, USA	STEVENS	1959	1961
R. pygmaeus	Zillertaler Alpen, Vennatal	MELZER	1959	1962
R. auricomus	Bot. Garten, München	—	1960	1962
—	Bot. Garten, Graz	THALER	1963	1963
R. cassubicifolius	Günztal, nördl. Oberbayern	KOCH	1959	1962
R. cassubicus	Bot. Garten, Graz	WIDDER	1961	1961
R. hybridus	Lienz, Osttirol, Karlsbad. Hütte	MAIN	1931	1962
R. thora	Val Zuvretta, Preda, Schweiz	KOCH	1954	1962
—	Bot. Garten, Graz	THALER	1963	1963
R. acris	Mittersill, Salzburg	URSCHLER	1960	1961
—	Paß Thurn bei Mittersill	URSCHLER	1962	1963
—	Felbertal bei Mittersill	URSCHLER	1963	1963
—	Graz	URSCHLER	1963	1963
—	Heidelberg	URSCHLER	1962	1963
—	Münster, Westfalen	URSCHLER	1962	1963
—	München	URSCHLER	1962	1963
— subsp. *strigulosus*	Magdeburg	GIESE	1935	1962
R. lanuginosus	Mittagskogel, Kärnten	URSCHLER	1963	1963
—	Köstenberg, Kärnten	URSCHLER	1963	1963
R. oreophilus	Preda, Graubünden	KOCH	1954	1962
R. grenierianus	Innschlucht bei St. Moritz	—	1951	1962
—	Freiburg, Schweiz	URSCHLER	1966	1967
R. carinthiacus	Bot. Garten, Graz	WIDDER	1961	1961
—	Bot. Garten, Graz	THALER	1963	1963
—	Mittagskogel, Kärnten, Roßalm	URSCHLER	1963	1963
—	Ferlacher Spitze, Kärnten	URSCHLER	1963	1963
R. aduncus	Alpes maritimes, Thorenc kult. in Zürich	LANDOLT	1953	1962
R. montanus	Bot. Garten, Graz	THALER	1963	1963
—	Felbertal bei Mittersill	URSCHLER	1961	1961
R. gouani	Pic de Gar, Pyrenäen	MEEBOLD	1921	1961
R. nemorosus	Felbertal bei Mittersill	URSCHLER	1961	1961
—	Pembachtal, Felbertal	URSCHLER	1963	1963
R. repens	Mittersill	URSCHLER	1964	1964
—	Warmbad Villach, Kärnten	URSCHLER	1967	1967
R. bulbosus	Mittersill	URSCHLER	1963	1963
—	Köstenberg, Kärnten	URSCHLER	1963	1963
R. sardous	Aigen, Ennstal	URSCHLER	1959	1962
—	Bärndorf bei Liezen, Stmk.	URSCHLER	1959	1962
—	Mittersill	URSCHLER	1963	1963
R. arvensis	St. Florian, Oberösterreich	EISENZOPF	1959	1961
—	Bot. Garten, München	URSCHLER	1962	1962
R. muricatus	Bot. Garten, München	URSCHLER	1962	1962
R. flammula	Felbertal	URSCHLER	1960	1961
R. lingua	Bot. Garten, München	URSCHLER	1961	1961
—	Mittersill	URSCHLER	1961	1962
—	Heiliges Meer, Westfalen	URSCHLER	1962	1963
R. illyricus	Braunsberg bei Hainburg, N.Ö.	PATZAK	1960	1962

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H,, Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

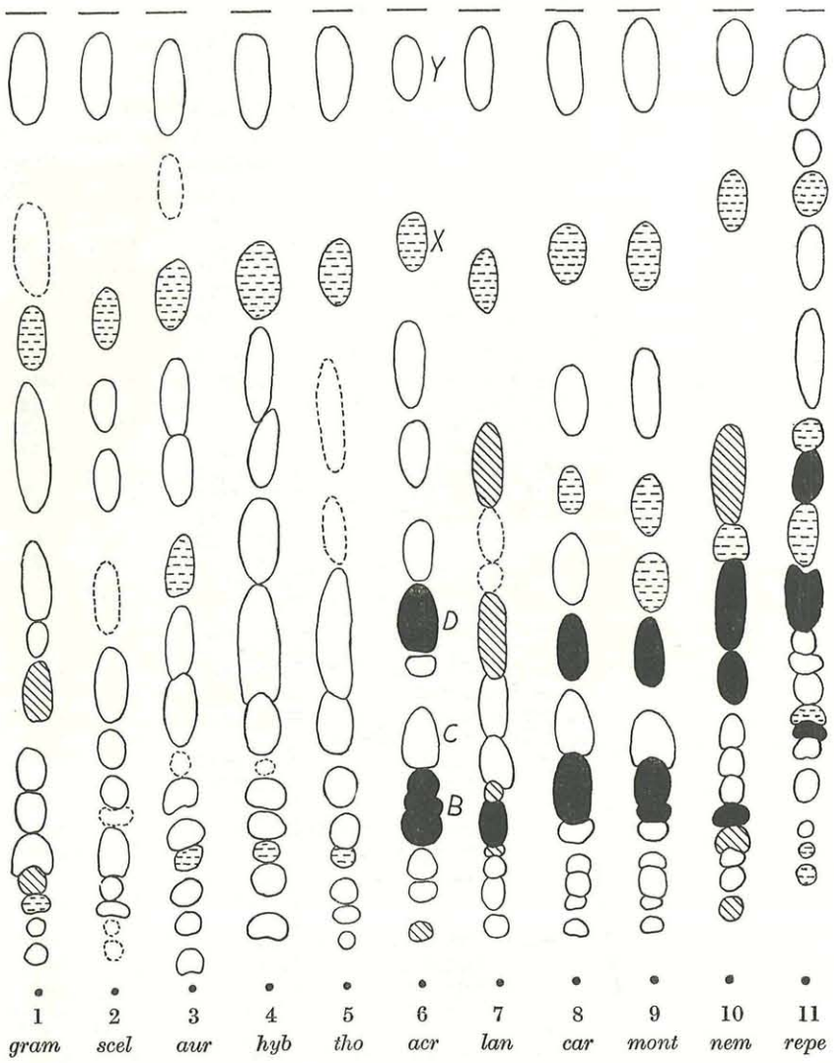
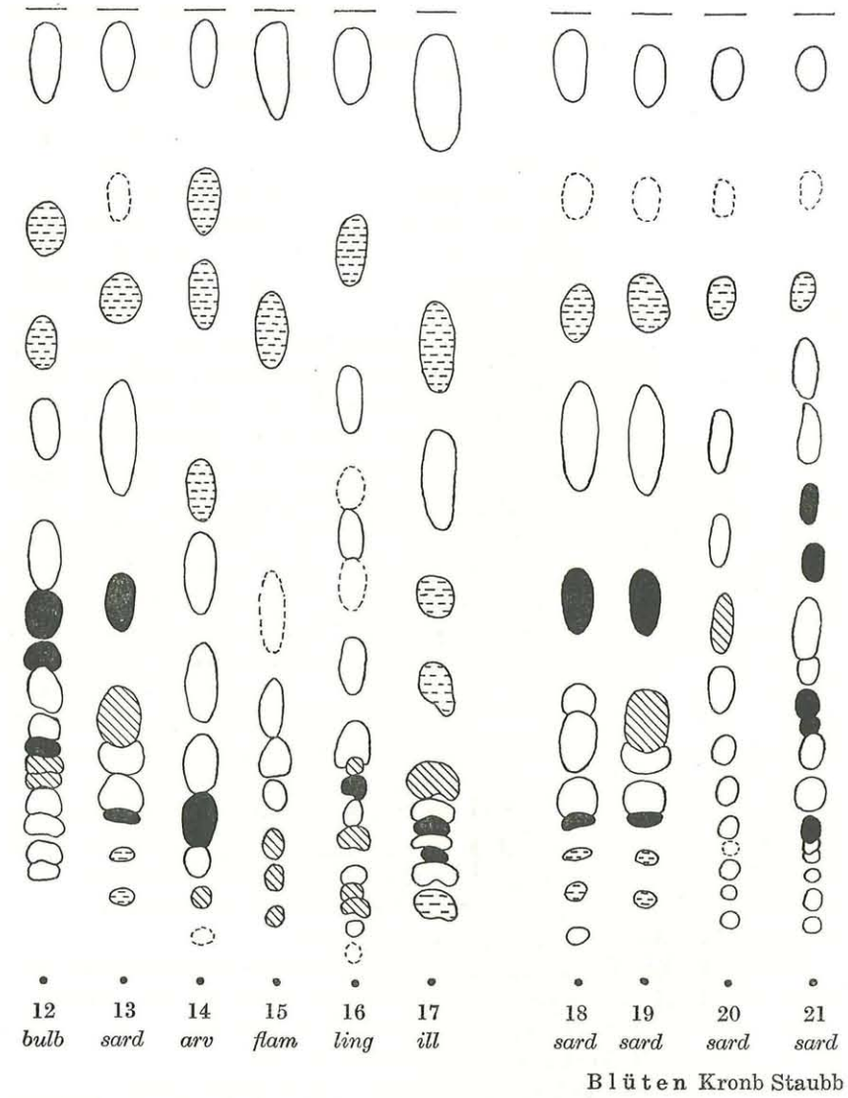


Abb. 1—21. Auswahl von Papierchromatogrammen ganzer Blüten (Abb. 1—19), von Kronblättern (Abb. 20) und Staubblättern (Abb. 21) folgender *Ranunculus*-Arten: 1 *gramineus*, 2 *sceleratus*, 3 *auricomus*, 4 *hybridus*, 5 *thora*, 6 *acris*, 7 *lanuginosus*, 8 *carinthiacus*, 9 *montanus*, 10 *nemorosus*, 11 *repens*, 12 *bulbosus*, 13 *sardous*, 14 *arvensis*, 15 *flammula*, 16 *lingua*, 17 *illyricus*, 18—21 *sardous*. — Al-besprüht im UV: ▬ dunkelbraun, ▨ orange oder ocker, ▤ leuchtend blau, ▭ leuchtend gelb oder gelbgrün, ⬚ nur auf anders besprühten Chromatogrammen erkennbar. Weitere Farb- und Intensitätsunterschiede wurden nicht dargestellt; in Abb. 6 ist der große Fleck D z. B.



wesentlich blasser als der kleine Fleck B. ● Startpunkt, — Lösungsmittelfront, Laufmittel BEW 415, absteigend.

Die Arten ohne Nektarschuppen (2—5) sind frei von im UV dunklen Flecken. In der sect. *Chrysanthe* (6—14) nimmt der Gehalt an B ab, der an D zu. Ganze Blüten des *R. sardous* von zwei verschiedenen Fundorten (18 und 19) zeigen das übliche Ausmaß an Variabilität innerhalb einer Art. Die Chormatogramme einzelner Blütenteile unterscheiden sich bei dieser Art aber deutlich voneinander. Die Staubblätter (21) sind besonders reich an Inhaltsstoffen, stark ausgeprägt sind die im UV braunen Flecke.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Besonders bei den zahlreichen im UV gelben bis bräunlichen Flecken können Konzentrationsunterschiede Farbunterschiede bewirken, die ein sicheres Unterscheiden qualitativer und quantitativer Abweichungen unmöglich machen. Dasselbe gilt natürlich für Inhaltsstoffe, deren Konzentration an der Grenze der chromatographischen Nachweisbarkeit liegt. In manchen Fällen konnten nur die Hauptpigmente erfaßt werden, sei es, daß nur alte ausgeblaßte Herbarexemplare zur Verfügung standen, daß bei seltenen Arten nur eine Blüte vorhanden war, oder daß, wie bei *R. flammula* (Abb. 15), der Rohextrakt schleimige Substanzen enthält, die das Papier imprägnieren und ein Auftragen der erforderlichen Extraktmenge verhindern.

Chromatographisch am besten vergleichbar sind frische Extrakte von nahe miteinander verwandten Sippen, deren Blüten nicht zu lange vorher gesammelt und getrocknet wurden, und die zur gleichen Zeit womöglich auf demselben Papier gelaufen sind. Bei der großen Zahl der untersuchten Arten, die zum Teil schwer zu beschaffen waren, konnten nicht immer alle diese Forderungen eingehalten werden.

Detaillierte Aussagen, die sämtliche Chromatogrammflecken jeder Art erfassen, sind in unserem Fall nicht möglich. Die von Ellison, Alston & Thurner 1962 vorgeschlagenen Indices zum Vergleich von Arten und Artengruppen konnten daher nicht berechnet werden. Selbst nach gründlichem Vergleich von Tausenden von R_f-Werten und den Farbreaktionen jedes Fleckes mit drei Sprühreagenzien läßt sich nicht mehr aussagen als das, was man beim Betrachten einer Serie von Chromatogrammen auf den ersten Blick erkennen kann.

Unter der UV-Lampe sind bei allen Arten in geschlossener Folge einige Flecke zwischen R_f 0,1 und 0,4 zu sehen, darüber stehen in unterbrochener Folge einzelne lang gezogene, meist blau oder gelb fluoreszierende, darunter (unter R_f 0,1) einzelne kleine, meist gelbe oder dunkelgelbe Flecke. Im ganzen sind auf einem Chromatogramm etwa 10—17, häufig 13—15 Flecke zu unterscheiden.

Schon im Tageslicht wird nach dem Besprühen mit Bleiacetat bzw. Aluminiumchlorid der chemische Unterschied zwischen den Sektionen *Chloeranunculus* und den Sektionen ohne Nektarschuppe einerseits und den Sektionen mit Nektarschuppe andererseits deutlich. Besonders bei der sect. *Chrysanthe* treten die Flecke B und D durch rote und orange (Pb) bzw. ocker (Al) Färbung hervor.

In den Sektionen ohne Nektarschuppe und in der sect. *Chloeranunculus* fehlen die beiden Stoffe, oder sie liegen in einer chromatographisch nicht nachweisbaren Konzentration vor. Die schraffierten Flecke bei *R. gramineus* (Abb. 1) könnten B und D in schwacher Konzentration enthalten. Im übrigen leuchten die Chromatogramme der Arten ohne Nektarschuppe im UV nach dem Besprühen mit $AlCl_3$ gelb, gelbgrün und blau, die unbesprühten und mit Bleiacetat besprühten wirken

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

unruhiger durch das Auftreten von braunen, orangen und hellbraunen Flecken. *R. hybridus* (Abb. 4), *R. thora* (Abb. 5) und *R. auricomus* (Abb. 3) sind chromatographisch nicht unterscheidbar.

Die Arten der sect. *Chrysanthe* haben mindestens 5 Flecke gemeinsam, nämlich B, C, D und die beiden obersten, Y und Z (Abb. 6, *R. acris*). Sehr wahrscheinlich kommen außerdem noch einige unter B und zwischen D und Y liegende Flecke bei allen Arten dieser Sektion vor, sodaß man wohl 8—10 gemeinsame Substanzen annehmen darf. Bei den am Anfang stehenden Arten (Abb. 6, *R. acris* bis Abb. 9, *R. montanus*-Gruppe) ist der Fleck B groß, bei den folgenden (Abb. 11, *R. repens* bis Abb. 13, *R. sardous*) klein. D wird gegen Ende der Sektion stärker, jedenfalls stärker als B in dem selben Extrakt. B ist meist in zwei oder drei undeutlich getrennte Flecke unterteilt. Wahrscheinlich kann dies als Hinweis auf die Anwesenheit von R_2 gedeutet werden. R_3 kommt zumindest bei *R. nemorosus* (Abb. 10) und *R. repens* (Abb. 11) in größeren Mengen vor, in geringeren Mengen bei *R. bulbosus* (Abb. 12) und *R. lanuginosus* (Abb. 7), in Spuren wahrscheinlich bei allen Vertretern der Sektion (Tabelle IV).

Tabelle IV

Vorkommen der Flavonglykoside B, D und R_3 auf Blüten-Chromatogrammen

	B	D	R_3
R. acris	+	+	
— subsp. *strigulosus*	+	+	
R. lanuginosus	+	+	+
R. montanus agg.	+	+	+
R. nemorosus	+	+	+
R. repens	+	+	+
R. bulbosus	+	+	+
R. sardous	+	+	
R. arvensis	+		

B = Gossypitrin, D = Ranupin. Da es sich nur um chromatographische Befunde handelt, wurde die Buchstabenbezeichnung beibehalten.

Bei den meisten Arten lassen sich etwa 14 (11—16) Flecke unterscheiden. Ähnlichkeiten in Form, Größe und Farbe der unteren Flecke bis einschließlich D lassen sich einerseits bei den ersten Arten *R. acris* (Abb. 6) bis *R. montanus*-Gruppe (Abb. 8, 9) und andererseits bei den folgenden *R. nemorosus* (Abb. 10) bis *R. bulbosus* (Abb. 12) erkennen.

Chromatogramme von *R. acris* (Abb. 6) von verschiedenen Fundorten zwischen Münster/Westf. und Graz stimmten hinsichtlich Form, Farbe und Größe aller Flecke gut überein. Die subsp. *strigulosus* (27 Jahre altes Herbarexemplar) wies eine etwas geringere Zahl von Flecken auf,

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

die denen der subsp. *acris* aber völlig glichen. Während man bei *R. acris* Haupt- und Nebenpigmente gut unterscheiden kann, sind die Unterschiede in Größe und Stärke der Flecken bei *R. lanuginous* (Abb. 7) nicht so deutlich. Bei dieser Art sind die mittleren Flecke zwischen D und Y schwer zu charakterisieren. Zwei Exemplare von verschiedenen Orten in Kärnten waren einander bis auf kleine quantitative Unterschiede völlig gleich.

Innerhalb der *R. montanus*-Gruppe (Abb. 8 und 9) sind B und D ungefähr gleich stark ausgeprägt. Meist ist B, manchmal ist D etwas stärker. Bei *R. montanus* (Abb. 9) war immer B stärker. Drei Pflanzen von *R. carinthiacus* (Abb. 8) von verschiedenen Fundorten stimmten bis auf kleine quantitative Verschiedenheiten völlig miteinander überein. Von *R. montanus* unterschieden sie sich etwas stärker, vor allem in den Flecken über D. Beide Arten fallen durch eine regelmäßige Verteilung von Flecken zwischen D und der Lösungsmittelfront auf. Bei zwei Pflanzen aus der Schweiz, wahrscheinlich *R. grenierianus,* konnte R_3 chromatographisch nachgewiesen werden. Von den übrigen Arten der Gruppe war das Material so knapp, daß nur blaße Chromatogramme erhalten werden konnten. Die Hauptinhaltsstoffe aller Arten stimmen offensichtlich überein, Unterschiede scheinen in den mittleren Flecken über D und in den untersten kleinen Flecken zu bestehen.

Bei *R. nemorosus* (Abb. 10) liegt D in größerer Konzentration vor als bei allen anderen Arten. Die 5 untersuchten Pflanzen aus dem Felbertal in den Hohen Tauern zeigen nur kleine Unterschiede in den Neben-inhaltsstoffen.

Das Chromatogramm von *R. repens* (Abb. 11) zeigt 19 Flecke. D ist sehr groß, B sehr klein, R_3 klein, aber deutlich. Unter D liegen dicht gedrängt zahlreiche kleine Flecke. Zwischen D und der Lösungsmittelfront finden sich mehrere lange Flecke ohne große Zwischenräume.

Bei *R. bulbosus* (Abb. 12) ist R_3 deutlich, D ist größer als B. Zwei Exemplare, eines aus Kärnten, eines aus dem Land Salzburg, stimmten völlig miteinander überein, nur war bei der Salzburger Pflanze D etwas größer und B etwas schwächer als bei der Pflanze aus Kärnten.

R. sardous (Abb. 13, vgl. auch Abb. 18 und 19) fällt durch das Zurücktreten der im UV dunklen Verbindungen zu Gunsten von gelb und blau fluoreszierenden Inhaltsstoffen auf. Besonders stark gelb leuchtet der Fleck C. Die beiden dunkelbraunen Flecke konnten durch Vergleich der Extrakte mit Reinsubstanzen in drei verschiedenen Laufmitteln als B und D identifiziert werden. Die Unterschiede gegenüber den anderen Arten der sect. *Chrysanthe* dürften vielleicht mehr quantitativer als qualitativer Natur sein.

R. sardous weicht morphologisch etwas von den übrigen Arten der sect. *Chrysanthe* ab. Er ist als einziger einjährig, im Fruchtbau zeigt er Ähnlichkeit mit den Vertretern der folgenden Sektion. Daher stellen

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

manche Autoren diese Art zu *R. arvensis* und *R. muricatus* bzw. zur sect. *Echinella* (CANDOLLE 1824, PRANTL 1888, FIORI 1924, BENSON 1940). Die Chromatogramme von *R. sardous, R. arvensis* und *R. muricatus* ähneln einander nicht. Bei *R. arvensis* (Abb. 14) fällt der stark ausgeprägte Fleck B besonders auf. Auf Grund der chromatographischen Befunde erscheint für *R. sardous* der Platz am Ende der sect. *Chrysanthe* vorläufig angemessen.

Das Chromatogramm von *R. flammula* (Abb. 15) ist schlecht auswertbar, weil schleimige Begleitstoffe das Auftragen des Extraktes in der erforderlichen Konzentration unmöglich machen. *R. lingua* (Abb. 16) weist zahlreiche kleine, einander zum Teil überdeckende Flecke auf. Daher ist es schwierig, über die Variabilität der Blütenstoffe innerhalb dieser Art etwas auszusagen.

Zusammenfassend kann man sagen, daß sich die Variabilität der Blüteninhaltsstoffe bei *Ranunculus* im üblichen Rahmen hält. Innerhalb der Arten und Populationen gibt es neben völligem Übereinstimmen zwischen den Individuen kleine quantitative Unterschiede in den relativen Mengen der Hauptpigmente und quantitative, vielleicht auch qualitative Unterschiede in den Nebeninhaltsstoffen (vgl. Abb. 18 und 19). Arten, die sich morphologisch stark unterscheiden, zeigen auch größere Verschiedenheiten in ihren Blütenchromatogrammen. Nicht unterscheidbar sind die Chromatogramme von *R. auricomus, R. cassubicifolius, R. hybridus* und *R. thora*. Innerhalb der sect. *Chrysanthe* kann man an Hand der unterschiedlichen Größe von B und D entscheiden, ob ein Chromatogramm von einer am Anfang der Sektion stehenden Art (B kräftig) oder von einer am Ende stehenden Sippe (D kräftiger als B) stammt. Als Bestimmungshilfen für Arten sind Chromatogramme nicht geeignet.

Die chemische Charakterisierung der Taxa durch Chromatogramme in der von uns durchgeführten Weise hat auf Art- und Sektionsniveau Bedeutung. Andere *Ranunculaceae*-Inhaltsstoffe haben für die Gliederung der Gattung *Ranunculus* selbst vorläufig keinen Wert (vgl. z. B. RUIJGROK 1966).

5. Postmortaler Farbwechsel außerhalb der Gattung *Ranunculus*

5.1. Grünfärbung gelber Blüten

Den Systematikern war schon lange aufgefallen, daß die gelben Blüten einiger weniger Pflanzen beim Trocknen für das Herbar grün werden. Für *Primula* wird dies nach LINGELSHEIM 1927 bereits 1776 in der Flora silesiaca von MATTUSCHKA erwähnt. LINGELSHEIM 1927 wollte die chemische Ursache solcher Verfärbungen klären, gelangte aber mit den damals verfügbaren Mitteln zu keinem zufriedenstellenden Ergebnis. Er vermutet enzymatischen Ursprung des grünen Farbstoffes, weil die Blüten bei raschem Trocknen gelb bleiben. Er weist ausdrücklich darauf

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

hin, daß diese Grünfärbung nur bei verwandten Arten vorkommt. Er fand sie bei *Primulaceae* in der Gattung *Primula*, sect. *Vernales* bei *P. veris* *), *P. elatior*, *P. vulgaris*, *P. elatior* × *vulgaris*, *P. leucophylla*, und sect. *Floribundae* bei *P. sinensis* und *P. Bornmuelleri*. Gelbblühende Arten aus anderen Sektionen, z. B. sect. *Auricula*, verfärben ihre Blüten beim Trocknen nicht grün, sondern bräunlich. Bei nahe verwandten Sippen, *Douglasia vitaliana* und *Dionysia*-Arten färben sich die gelben Blüten ebenfalls grün. Die Blüten von *Lysimachia* werden hingegen nur braun.

Auch bei *Leguminosae* und *Compositae* fand LINGELSHEIM Grünfärbung gelber Blüten, so bei 9 Arten der Gattung *Lotus* sect. *Eulotus* § *Perennes* (*L. decumbens*, *L. filicaulis*, *L. delortii*, *L. uliginosus*, *L. tenuis*, *L. corniculatus*, *L. parviflorus*, *L. hispidus* und *L. angustifolius*); bei *Hieracium staticifolium*, *Tolpis barbata* und den Scheibenblüten von *Bellis annua* und *B. perennis*. Auch die Blüten von *Lactuca serriola* werden beim Trocknen blaugrün (vgl. u. a. ROBINSON & FERNALD 1908). Aus eigener Erfahrung können noch drei Beobachtungen an Kompositen angeschlossen werden: Kamillentee wird nach längerem Stehen blaugrün, die Blüten von *Chrysanthemum segetum* und in schwächerem Maße auch die von *Buphthalmum salicifolium* werden beim Trocknen manchmal dunkel blaugrün. Auch die gelben Zungenblüten von *Felicia smaragdina* werden beim Trocknen smaragdgrün (MERXMÜLLER 1967 b).

5.1.1. Verhalten beim Abtöten mit fermentschonenden Mitteln

An *Chrysanthemum segetum* und *Buphthalmum salicifolium* kann man die Blaugrünfärbung wie bei *Ranunculus* künstlich auslösen; Farbton, Stärke und Lokalisation entsprechen denen von *Ranunculus*.

Die hellgelben Abschnitte der Blütenblätter von *Gossypium herbaceum* aus der Familie der *Malvaceae* färben sich nach dem Eintauchen in Äthanol und nach dem Verletzen grün, besonders stark an den Adern. An den wenigen verfügbaren Blüten konnte eine grüne Farbe beim Trocknen nicht beobachtet werden.

Bei *Primel*- und *Lotus*-Blüten ist der Todesring immer hellbraun, nie grün, bei *Hieracium staticifolium* wird er rasch dunkelbraun. Auch in Benzol und nach Verletzung färben sich *Hieracium*-Blüten dunkelbraun, *Primula*- und *Lotus*-Blüten hellbraun. Welche von den beiden Farben — braun oder grün — sich durchsetzt, hängt von den herrschenden Bedingungen ab. So schreibt LINGELSHEIM, daß *Primel*-Blüten beim Vertrocknen auf der Pflanze bräunlich werden, beim Trocknen

*) Einige Namen wurden nach TUTIN & al. 1964 bzw. EHRENDORFER 1967 verändert.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

nach dem Abschneiden hingegen eine grüne Farbe annehmen. Bei einer Probe von Flores Primulae sine cal. wurden 500 gelbe, 90 stark blaugrüne und 120 teilweise grüne und teilweise gelbe Blüten gezählt. Langsames Trocknen oder nachträgliches Anfeuchten macht die Blüten braun.

5.1.2. KOH-Probe

Mit KOH färben sich alle Blütenteile von *Gossypium herbaceum* ± rot, besonders stark die Kronblattadern. Auch alle anderen untersuchten Pflanzen, *Primula elatior, P. veris, P. vulgaris; Lotus corniculatus, L. uliginosus; Hieracium staticifolium, Buphthalmum salicifolium, Chrysanthemum segetum, Matricaria chamomilla, Bellis perennis* zeigten eine ± deutliche Rotfärbung, die umso stärker war, je stärker die Grünfärbung ausfiel. *Lotus uliginosus* verfärbte sich nur schwach, mehr orangebraun als rot.

5.1.3. Chromatogramme

Chromatogramme von methanolischen Rohextrakten der Blüten wurden in Butanol : Eisessig : Wasser 4 : 1 : 5 entwickelt, mit Kalilauge, Aluminiumchloridlösung und Bleiacetatlösung besprüht und im Karfioltest geprüft.

Bei *Gossypium herbaceum* fällt der Gossypitrinfleck als größter Fleck auf. Er stimmt hinsichtlich R_f-Werten, Karfioltest und Farbreaktionen mit Gossypitrin aus *Ranunculus* überein. Außerdem sind auf den Chromatogrammen noch zwei schwache Flecke auf der Höhe von D und R_3 zu sehen (2 Laufmittel : B : E : W 4 : 1 : 5 und Isopropanol : Ameisensäure : Wasser 2 : 5 : 5).

Das Hauptpigment von *Chrysanthemum segetum* ist Gossypitrin (Geissman & Steelink 1957). Dieses stimmt hinsichtlich Laufhöhe, Farbreaktionen und Karfioltest vollkommen mit Gossypitrin aus *Ranunculus* überein. Auch das Hauptpigment von *Buphthalmum salicifolium* hält Kirmayer 1959 für Gossypitrin. Der fragliche Fleck läuft in BEW etwas weniger weit (R_f 0,31) als Gossypitrin aus *Ranunculus* und *Chrysanthemum* (R_f 0,38), stimmt aber in allen Reaktionen, auch im Karfioltest mit diesem überein. Manche Meßwerte Kirmayers weichen allerdings etwas von denen Geissmans ab.

Auf Papierchromatogrammen von Blütenextrakten einiger Kompositen-Arten fand Kirmayer Gossypitrin meist begleitet von einem zweiten Flavonglykosid, das im BEW etwas höher läuft, und das sich von Gossypitrin vermutlich um eine OH- oder eine OCH_3-Gruppe unterscheidet. In den Scheibenblüten von *Matricaria chamomilla* kommen beide Substanzen als Nebenpigmente vor (Kirmayer 1959; Hoerhammer & al. 1963). Die Konzentration des mutmaßlichen Gossypitrins ist allerdings so gering, daß es unmöglich die alleinige Ursache für die Grünfärbung von Kamillentee bei längerem Stehen sein kann.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Das Chromatogramm von *Hieracium staticifolium* hat 8 Flecke. Deren größter fluoresziert stark orange-blau. Unter diesem liegt bei R_f 0,19 ein kleinerer Fleck, der mit KOH rötlich wird, und etwa die Farbreaktionen von Gossypitrin gibt. Im Karfioltest reagierten die ausgeschnittenen Flecke nicht.

Auf Chromatogrammen von *Lotus corniculatus* kann man 8 Flecke unterscheiden. Die kräftigsten (R_f 0,62; 0,42; 0,28) sind unbesprüht im UV dunkel. Der unterste wird auf älteren Chromatogrammen schmutziggrün. Eine Reaktion mit Karfiol konnte nicht erzielt werden. HARBORNE 1965 und 1967 gibt für die Blüten von *L. corniculatus* Quercetagetin (R_f 0,28), Quercetagin-3-galactosid (0,42) und Corniculatin (0,64) an. Alle 3 Pigmente sind an der Gelbfärbung der Blüten maßgeblich beteiligt und im UV dunkel.

Das Chromatogramm von *Primula elatior* hat 13, das von *P. veris* 16 Flecke; 4 Flecke kommen nur bei *P. elatior*, ein großer und mehrere kleine nur bei *P. veris* vor. Dem Gossypetin ähnlich reagieren Flecke bei R_f 0,17, 0,21, 0,26, 0,28, 0,30 (*P. veris*) und R_f 0,19, 0,28 und 0,30 (*P. eliator*). Eine Grünfärbung mit Blumenkohl konnte bei diesen Flekken nicht beobachtet werden. Von den 15 Flecken, die auf den Chromatogrammen von Flores Primulae sichtbar waren, haben die bei 0,06 $>$ 0,10 $>$ 0,19 den Hauptanteil an der gelben Farbe und geben beim Besprühen dem Gossypetin ähnliche Farbreaktionen. Diese drei Pigmente, sowie zwei weitere, die im UV dunkel, im Tageslicht schwach gelb sind, wurden aus Streifenchromatogrammen eluiert, konzentriert, und mit wässerigem Karfiolbrei getestet. Sie färbten sich bräunlich. Die übrigen Blüteninhaltsstoffe wurden gemeinsam eluiert, das Eluat reagierte mit Karfiolbrei nicht. Für Blüten von *P. elatior, P. veris* und *P. vulgaris* gibt HARBORNE Quercetagetin, Quercetagetin-3-gentiotriosid und einen noch nicht vollständig identifizierten Quercetagetin-methyläther an.

Quercetagetin ist dem Gossypetin isomer und unterscheidet sich von diesem durch die Stellung einer OH-Gruppe an C_6 statt an C_8. Im UV ist es ebenfalls dunkel. Nach BAKER & al. 1929 wird es in alkalischer Lösung durch Oxydation grün, es reagiert allerdings nicht so leicht wie Gossypetin. Gossypetin und Quercetagetin bzw. ihre Derivate gehören zu den wenigen Flavonen, die kräftig gelb gefärbt sind, und als Hauptpigmente vorkommen (HARBORNE 1965). Wahrscheinlich verursachen Quercetagetin und seine Derivate die Grünfärbung getrockneter *Primula*- und *Lotus*-Blüten. Ob es sich dabei, wie beim Gossypetin und seinen Derivaten um eine fermentabhängige Reaktion handelt, erscheint allerdings äußerst zweifelhaft. Mit Fermenten ergibt sich zumeist eine braune Farbe. Quercetagin wurde in 11 Pflanzenfamilien nachgewiesen, u. a. bei *Papaver*- und *Rhododendron*-Arten. Das Auffinden eines Farbwechsels bei diesen Blüten könnte unsere Vermutung stützen.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

5.2. Andere Verfärbungen

Will man die Befunde an gelben Blütenblättern richtig einreihen, so muß man sich eine Übersicht über den postmortalen Farbwechsel im allgemeinen beschaffen.

Bereits in der Einleitung wurde darauf hingewiesen, daß in absterbenden Pflanzengeweben weitaus am häufigsten braune Farben entstehen.

Manche Kronblätter werden beim Abfallen weiß oder schmutzigweiß, z. B. die von *Cichorium intybus* und von *Veronica chamaedrys*. In beiden Fällen wird der Todesring in Sekundenschnelle weiß (URSCHLER 1956). Weiße Todesringe entstehen auch auf Blautkrautblättern und auf den Petalen von *Veronica persica*, von *Viola*- und *Gentiana*-Arten. Bei *Hepatica nobilis*, *Pulsatilla halleri* subsp. *styriaca* und *Prunella major* ist der weiße Todesring außen von einem braunen Saum umgeben, der der natürlichen Absterbfarbe entspricht. Bei *Pulsatilla halleri* subsp. *styriaca* laufen die Adern unentfärbt als rote Linien durch die weiße Ringzone und geben mit dem blau verfärbten Zentrum und einer unregelmäßigen, an den Adern eingezogenen Ringform ein hübsches Bild. An getrockneten Pflanzen behält das Todesringzentrum auch nach 10 und mehr Jahren, wenn das umliegende Gewebe längst verblaßt ist, seine Farbe. Bei Sauerstoffmangel, über alkalischer Pyrogallollösung, bleiben die Blüten von *Veronica chamaedrys* blau (URSCHLER 1958).

An jugendroten Laubblättern kann der Todesring grün durch Chlorophyll erscheinen. Auf den dunkelvioletten Hochblättern von *Ajuga pyramidalis* und auf abgezogenen Epidermisstreifen der Blattunterseite ist er hellgrün, nach längerer Zeit entsteht außen ein brauner Saum. Ähnlich verhalten sich die Hochblätter von *Melampyrum nemorosum* und die jugendroten Blätter von *Sambucus ebulus*. Ältere grüne Blätter dieser drei Pflanzen bekommen braune Todesringe. PAECH und EBERHARDT 1952 konnten in jugendroten Blättern ein Enzym nachweisen, welches Anthocyane zu farblosen Verbindungen abbaut.

Die anfangs rosaroten Kronblätter von *Lathyrus sylvestris*, die beim Verblühen grün werden, bekommen im Versuch grüne Todesringe. Chlorophyll läßt sich durch seine Fluoreszenz in jungen und alten grünen Kronblättern sowie in der Ringzone nachweisen. Bei den meisten Blüten erfolgt der Farbwechsel umgekehrt, von grünen Jugendstadien zu bunten Altersfarben, die von SEYBOLD 1954 als physiologische Abbauerscheinungen gedeutet werden. Vielleicht sollte man die Kronblätter von *Lathyrus sylvestris* eher mit jugendroten Laubblättern vergleichen (vgl. PAECH 1955).

Nicht in die Kategorie des postmortalen, enzymbedingten, experimentell rasch auslösbaren Farbwechsel fallen: 1) Das Blauwerden der Stengel und Blätter von *Mercurialis perennis* durch Indigo (Todesring

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

braun); 2) das Ergrünen von *Neottia nidus-avis* durch Sichtbarwerden von Chlorophyll a in der Hitze; 3) das langsame Entstehen roter Farben beim Absterben und an Wundrändern von Amaryllidaceen-Blättern; die Herbstfarben der Laubblätter; 5) wahrscheinlich auch die Grünfärbung der Flores primulae (Todesring hellbraun), der Blüten von *Hieracium staticifolium* und von *Lotus*-Arten (Todesring braun).

6. Zusammenfassung

1) An den gelben Blüten zahlreicher *Ranunculus*-Arten wurden 2 Reaktionen beobachtet: eine Rotfärbung mit konzentrierter Kalilauge und eine Grünfärbung beim Abtöten mit fermentschonenden Mitteln.

2) Nach dem Isolieren über Papier- und Säulenchromatographie konnten als Ursache für die Rotfärbung 4 gelbe Pigmente gefunden werden. Drei von ihnen geben mit Oxydationsmitteln bzw. mit Fermenten eine Grünfärbung. Als Fermentquelle wurde ein wässeriger Brei von frischem Blumenkohl verwendet.

3) Die 4 Substanzen sind Flavonglykoside von 4 verschiedenen Aglykonen. Alle Glykoside und Aglykone stimmen in ihren Farbreaktionen weitgehend überein.

4) Zwei der vier Verbindungen konnten rein dargestellt und identifiziert werden. Die Hauptursache für das Grünwerden der Blüten ist Gossypitrin (3, 5, 8, 3′, 4′-Pentahydroxy-flavon-7-monoglucosid). Der Nachweis dieses bisher nur aus wenigen *Malvaceae* und *Compositae* bekannten Polyhydroxyflavon-glykosides für *Polycarpicae* ist neu. — Rot mit KOH, nicht aber grün mit Fermenten wird ein 3, 5, 3′, 4′-Tetrahydroxy-8-methoxy-flavon-7-mono-β-D-galactosid, das bisher offenbar weder in der Natur gefunden noch synthetisiert worden ist. Wir nennen die Substanz Ranupin (Aglykon: Ranupenin).

5) Die 4 Substanzen fehlen in den Sektionen *Chloeranunculus, Hecatonia, Ranunculus* (= *Auricomus*) und *Thora*. In der sect. *Chrysanthe* sind sie vorhanden, der Gehalt an Gossypitrin nimmt von den ersten bis zu den letzten Arten des JANCHENschen Systems ab, der an Ranupin zu. In den Sektionen *Echinella, Flammula* und *Ranunculastrum* gibt es große Unterschiede im Vorkommen und in der Lokalisation der Pigmente bzw. der beiden Schnellreaktionen. — Die Chromatogramme sind bei morphologisch ähnlichen Sippen sehr ähnlich, in manchen Fällen nicht unterscheidbar. Innerhalb der Arten und Populationen können die relativen Mengen der Hauptpigmente etwas schwanken. Bei den Nebeninhaltsstoffen gibt es quantitative und vermutlich auch qualitative Unterschiede.

6) Einige Flavone mit 5 oder 6 Substituenten (OH-Gruppen, OCH_3-Gruppen, Zucker) färben sich mit KOH rot. Eine Grünfärbung mit Blumenkohlfermenten konnte nur bei Equisporosid aus *Equisetum telmateia* beobachtet werden.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

7) Bei gelben Blüten ist eine Rotfärbung mit KOH ziemlich häufig, eine Grünfärbung beim Absterben und Trocknen äußerst selten. In den Blüten von *Chrysanthemum segetum, Buphthalmum salicifolium* und *Gossypium herbaceum* ist die Hauptursache beider Reaktionen Gossypitrin, in *Lotus*- und *Primula*-Arten vermutlich Quercetagetin und seine Derivate. Ein Beweis für diese Vermutung steht jedoch noch aus.

8) Rotfärbung mit konzentrierten Alkalien und postmortale Grünfärbung gelber Blüten können Flavone vom Typ des Gossypetins anzeigen.

9) Offen bleiben die Fragen nach der Struktur der grünen Oxydationsprodukte, nach der physiologischen Rolle von Gossypitrin und nach der Struktur der beiden weiteren, dem Gossypitrin ähnlichen Flavonglykoside aus *Ranunculus*.

7. Schrifttum

BAKER W., NODZU R. & ROBINSON R. 1929. XIV. Anthoxanthins. Part X. The Synthesis of Gossypetin and Quercetagetin. — Chem. Soc. 1929: 74—84.

BENSON L. 1940. The North American Subdivision of *Ranunculus*. — Amer. J. Bot. 27 (9): 799—807.

BRITTON N. L. & BROWN A. 1923. An Illustrated Flora of the Northern United States ... 2. ed., 2. — New York.

CANDOLLE A. P. de. 1824. Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis. 1. — Parisiis.

CODE 1966 = LANJOUW J. & al.

DE CANDOLLE = CANDOLLE.

DYKYJ-SAJFERTOVA D. 1958. Atmungspigmente und Phylogenie der Pflanzen. — Preslia 30: 256—275.

EHRENDORFER F. 1967. Liste der Gefäßpflanzen Mitteleuropas. — Graz.

ELLISON W. L., ALSTON R. E., & TURNER B. L. 1962. Methods of presentation of crude biochemical data for systematic purposes, with particular reference to the genus *Bahia* (*Compositae*). — Amer. J. Bot. 49: 599—604.

FIORI A. 1924. Nuova Flora Analitica d'Italia. 1: 659—678. — Firenze.

FREYN J. 1880. *Ranunculaceae* DC. In: WILLKOMM M. & LANGE J. Prodromus Florae Hispanicae 3. — Stuttgartiae.

GEISSMAN T. A. & STEELINK C. 1957. Flavonoid Petal Constituents of *Chrysanthemum segetum* L. — J. Org. Chem. 22: 946—948.

GIBBS R. D. 1961. Comparative Chemistry of Plants as applied to Problems of Systematics. General Introduction. — Recent Advances in Bot. (Toronto): 67—71.

GICKLHORN J. 1947. Botanische Beobachtungen mit neuen einfachen Lehrversuchen. — Österr. bot. Z. 49 (1/2): 136—151.

HARBORNE J. B. 1965. Plant Phenols XV. Flavonols as yellow Flower Pigments. — Phytochemistry 4: 647—657.

— 1967. Comparative Biochemistry of the Flavonoids. — London - New York.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

HAYEK A. v. 1908. Flora von Steiermark. 1 (Bogen 21—25; 26—30). — Berlin.

HITCHCOCK A. S. & GREEN M. L. 1929. Int. Bot. Congr. Cambridge (England) 1930. Nom. Prop.: 11—199.

HÖRHAMMER L., WAGNER H. & SALFNER B. 1963. Neue Flavonglykoside aus der Kamille (*Matricaria Chamomilla* L.) III. Mitt. über Compositen- und Papilionaceenflavone. — Arzneimittel-Forsch. 13: 33—36.

JANCHEN E. 1949. Die systematische Gliederung der Ranunculaceen und Berberidaceen. — Denkschr. Akad. Wiss., math.-naturw. Kl. 108 (4): 1—82.

— 1957. *Ranunculus*. In: Catalogus Florae Austriae. I/2: 197—203. — Wien.

KARRER W. 1958. Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe (exclusive Alkaloide). — Basel-Stuttgart.

KIRMAYER W. J. 1959. Über die Flavone der Kompositen. — Dissertation Univ. München.

KÖSTLIN H. 1924. Zur physiologischen Anatomie gelber *Ranunculus*-Blüten. — Bot. Arch. 7: 325—346.

LANJOUW J. & al. 1966. International Code of Botanical Nomenclature. — Regnum vegetabile 46. — Utrecht.

LEA C. H. & SWOBODA P. A. T. 1956. On the antioxidant activity of the Flavonols, Gossypetin and Quercetagetin. — Chem. a. Ind.: 1426—1428.

LINGELSHEIM A. v. 1927. *Primula officinalis* (L.) HILL. Eine pharmakognostische Gesamtdarstellung. In: Heil- und Gewürzpflanzen X (3): 49—80; 113—140.

MATTUSCHKA H. G. v. 1776. Flora silesiaca ... 1. — Breslau-Leipzig. zit. nach LINGELSHEIM 1927.

MERXMÜLLER H. 1967 a. Chemotaxonomie? — Ber. dtsch. bot. Ges. 80 (9): 608—620.

— 1967 b. Prodromus einer Flora von Südwestafrika, 20. Lief., 139. Fam. *Asteraceae*. — Lehre.

MÖBIUS M. 1885. Über den Glanz der gelben *Ranunculus*-Blüten. — Bot. Cbl. 23: 115—119.

MOLISCH H. 1931. Botanische Versuche ohne Apparate. — Jena.

OVCZINNIKOV P. 1937. In: Flora URSS. 7: 351—509. — Mosqua-Leningrad.

PAECH K. 1955. Colour Development in Flowers. — Ann. Review Plant Physiol. 6: 273—298.

— & EBERHARDT F. 1952. Untersuchungen zur Biosynthese der Anthocyane. — Z. Naturforsch. 7 b: 664—670.

PRANTL K. 1888. Beiträge zur Morphologie und Systematik der Ranunculaceen. — Bot. Jb. 9: 225—273.

ROBINSON B. L. & FERNLAND M. L. 1908. GRAY's New Manual of Botany. 7. ed. — New York-Cincinnati-Chicago.

RUIJGROK H. W. L. 1966. In: SWAIN T. Comparative Phytochemistry. 10. The Distribution of Ranunculin in the *Ranunculaceae*. — London-New York.

SEYBOLD A. 1954. Untersuchungen über den Farbwechsel von Blumenblättern, Früchten und Samenschalen. — Sitz.-Ber. Heidelberger Akad. Wiss., math.-naturw. Kl. 1953/54: 31—124.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

TUTIN T. G. 1964. *Ranunculus* subgen. *Ranunculus*. In: Flora Europaea. 1. — Cambridge.

— & al. 1964. Flora Europaea. 1. — Cambridge.

URSCHLER I. 1956. Farbänderungen bei Anthocyan-haltigen Blüten. — Kosmos 52 (4): XIV—XV.

— 1958. Pflanzen im sauerstoffreien Raum. — Kosmos 54 (10): *372—*375.

— 1959. Der Apfeltest zum qualitativen Nachweis von Oxydasewirkungen. — Phyton 8 (1—3): 69—73.

WERNER O. 1928. Farbstoffbildung im Blatt bei supramaximaler Temperatur. — Österr. bot. Z. 77: 43—45.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1968

Band/Volume: 13_1_2

Autor(en)/Author(s): Urschler Ingrid

Artikel/Article: Character and Origin of Species Created by Nature. 15-43