

Literatur.

1. BODE, O.: seit 1943 im Druck. — 2. GÄUMANN, E.: Schweiz. Z. f. Path. u. Bakteriologie. 7, 407 (1944). — 3. KÖHLER, E.: Phytopath. Z. 7, 1 (1934). — 4. KÖHLER, E.: Angew. Bot. 17, 60 (1935). — 5. KÖHLER, E.: Angew. Bot. 25, 313 (1943). — 6. KÖHLER, E. u. PÁNJA, M.: Ber. Deutsch. Bot. Ges. 61, 175 (1944). — 7. KUNKEL, L. O.: Phytopathology 24, 437 (1934). — 8. PRICE, W. C.: Contrib. Boyce Thompson Inst. 4, 359 (1932). — 9. PRICE, W. C.: Phytopathology 26, 503 (1936). — 10. PRICE, W. C., Quart. Rev. Biology 15, 338 (1940). — 11. QUANTER, H. M.: Tijdschr. over Plantenziekten 48, 1 (1942). — 12. SALAMAN, R. N.: Nature 131, 468 (1933). — 13. SALAMAN, R. N.: Philos. Transact. Roy. Soc. London, Ser. B 229, 137 (1938). — 14. STANLEY, W. M.: J. Biolog. Chem. 129, 429 (1939). — 15. STELZNER, G.: Angew. Bot. 25, 359 (1943). — 16. THUNG, T. H.: Handling. VI. Nederl.-Ind. Naturw. Congr. Bandoeng, S. 450 (1913). — 17. THUNG, T. H.: Handling. VII. ebenda S. 496 (1935). — 18. THUNG, T. H.: Smetstof en plantencel etc. III—V (1937—1939). Tijdschr. over Plantenziekten, Jahrg. 43—45.

(Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Züchtungsforschung, Erwin-Baur-Institut, Voldagsen/Hann.)

Ein Serienverfahren zur Bestimmung des Alkaloidgehaltes in Süßlupinen.

Von P. SCHWARZE und FR. WOLLNER.

Die Züchtungsarbeiten an der *Süßlupine* sowie die Maßnahmen zur Reinerhaltung ihres Saatgutes erfordern neben den eigentlichen Auslesemethoden ein exaktes quantitatives Verfahren, mit dem der Alkaloidgehalt süßer Stämme genau ermittelt werden kann. Die Auslesemethoden der Süßlupinenzüchtung sind qualitative Methoden. Durch Quellenlassen oder Kochen mit Wasser stellt man nach von SENGBUSCH (1) Extrakte aus Lupinenkörnern her und ermittelt durch Zutropfen eines Alkaloidfällungsmittels, ob Alkaloid darin enthalten ist. Bei bitteren Körnern tritt ein kräftiger Niederschlag, bei alkaloidärmeren nur eine Trübung auf. Liegt der Alkaloidgehalt sehr niedrig oder ist überhaupt kein Alkaloid vorhanden, so bleibt die mit Reagenz versetzte Lösung völlig blank. Ein anderes von WUTTKE (2) angegebene Verfahren besteht darin, die Körner mit Wasser zu kochen und anschließend in eine Jod-Jodkalilösung einzutauchen. Bittere Körner nehmen dabei eine dunkelbraune, alkaloidarme oder alkaloidfreie Körner nur eine schwach gelbe Färbung an. Noch einfacher gestaltet sich nach SCHWARZE (3) der Alkaloidnachweis in Grünmasse von gelben und blauen Lupinen. Man reißt von der zu prüfenden Pflanze ein Blatt so ab, daß ein Streifen der Stengelepidermis mit abgezogen wird. Die Reißstelle wird kurz in eine verdünnte Jod-Jodkalilösung eingetaucht und die äußerlich anhaftende Jodlösung mit Leitungswasser abgespült. Süßes Material behält seine ursprüngliche Farbe oder nimmt nur einen schwach gelblichen Ton an. Bei bitterem Material färbt sich die anfänglich farblose Epidermis dunkelbraun. Alle diese Methoden sind mit einfachen Mitteln in größtem Umfang durchzuführen. Diesem Umstand dankt die Süßlupinenzüchtung ihre bisherigen großen Erfolge, und für die zur Zeit laufenden und künftigen Arbeiten werden diese Methoden nicht zu entbehren sein. Wie bei den meisten qualitativen Reaktionen bedeutet aber auch hier das Ausbleiben der Reaktion, also der Fällung oder Färbung, nicht, daß der betreffende Stoff fehlt, sondern besagt nur, daß die vorhandene Menge unterhalb der Erfassungsgrenze der unter ganz bestimmten Bedingungen durchgeführten Reaktion liegt. Bei Kornuntersuchungen besteht bis zu einem gewissen Grad die Möglichkeit, die Reaktion empfindlicher zu gestalten. So kann man mehrere Körner an Stelle eines einzigen benutzen, man kann die Wassermenge, mit der die Körner gekocht werden, niedrig halten, um

eine möglichst hohe Alkaloidkonzentration zu erzielen, und schließlich läßt sich durch reichlichere Zugabe des Fällungsmittels die Empfindlichkeit der Reaktion etwas erhöhen.

Bei der quantitativen Untersuchung der mit qualitativen Methoden aufgefundenen süßen Formen hat man bisher immer gefunden, daß kein alkaloidfreies, sondern nur alkaloidarmes Material vorlag. Das trifft für alle in züchterischer Bearbeitung befindlichen Lupinenarten zu. Es liegt nun auf der Hand, daß von einer Reihe von Stämmen, die in ihren sonstigen Eigenschaften einander ebenbürtig sind, der mit dem niedrigsten Alkaloidgehalt den Vorzug verdient. Der Züchter hat deshalb größtes Interesse daran, den Alkaloidgehalt seiner süßen Stämme genau zu kennen. Im allgemeinen ist das ausgelesene süße Zuchtmaterial zahlenmäßig so begrenzt, daß eine quantitative Untersuchung im Bereich des Möglichen liegt. Es ist dafür eine Serienmethode, von der jedoch die Leistungsfähigkeit der qualitativen Verfahren nicht verlangt zu werden braucht, sehr erwünscht.

Für eine quantitative Serienmethode zur Alkaloidbestimmung in Süßlupinen interessiert sich aber nicht nur der Lupinenzüchter, auch die Saatgutprüfstelle, die für die Reinerhaltung des Saatgutes Sorge zu tragen hat, muß unbedingt eine solche Methode zur Verfügung haben. Der Saatgutprüfstelle fällt die Aufgabe zu, den Reinheitsgrad des Materials, der am zweckmäßigsten durch den %-Gehalt an bitteren Körnern ausgedrückt wird, zu ermitteln. Die gegebenen Methoden dafür scheinen die eingangs kurz beschriebenen Kornuntersuchungsverfahren zu sein. Bei ihrer Anwendung ergeben sich jedoch häufig Unklarheiten und andere Schwierigkeiten. So sind beim Nachweis der Alkaloide im Kochwasser, bei dessen Durchführung 400 Körner einzeln in Reagenzgläsern gekocht werden, die Ergebnisse nicht immer reproduzierbar, da die Kornzahl auch bei guter Durchmischung der Probe für einen wirklichen Durchschnitt zu klein ist. Eine Erhöhung der Körnerzahl, die diesen Mangel beheben würde, erschwert aber die Benutzung der Methode für Serienuntersuchungen ganz erheblich. Die Nachteile der zweiten Methode, bei der eine größere Anzahl von Körnern gemeinsam in einem Beutel gekocht und dann in eine Jod-Jodkalilösung getaucht wird, bestehen in dem nicht selten wenig ausgeprägten Färbungsunterschied von bitteren und süßen Körnern, der Irrtümer beim Auszählen der

bitteren Körner zur Folge haben kann, so daß auch hier die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse in Frage gestellt wird. Es ist noch ungeklärt, worauf das gelegentliche Versagen dieser an und für sich leistungsfähigen Methode beruht.

Das für Zwecke der Züchtung und der praktischen Saatgutkontrolle benötigte quantitative Verfahren hat also drei wesentliche Forderungen zu erfüllen: Es muß eine Serienmethode sein, die Erfassung kleinster Alkaloidmengen gestattet und sich zur Untersuchung größerer Durchschnittsproben, die aus großen Partien entnommen werden, eignen. Die anfangs benutzten Methoden von MACH und LEDERLE (4) sowie von NOTTBOHM und MAYER (5), die gelegentlich angewandt wurden, genügen diesen Forderungen ebensowenig wie die titrimetrische Methode in der Ausführungsform von SABALITSCHKA (6). Über erste Erfolge von Arbeiten, die zur Entwicklung eines neuen Verfahrens eingeleitet wurden, ist unlängst von MEYER (7) berichtet worden. Das neue Verfahren schließt sich eng an die von HOFMANN (8) zur Nikotinbestimmung in Tabak und Tabakrauch benutzte Methode an, bei der das Nikotin aus einem aliquoten Teil des Wasserdampfdestillates mit Kieselwolframsäure gefällt der Niederschlag filtriert und gewaschen und nach Lösung und Reduktion zu Molybdänblau kolorimetrisch gemessen wird. Nach den Untersuchungen von MEYER (7) besteht die Möglichkeit, das Lupanin, das Alkaloid der *blauen und weißen Lupinen*, in der gleichen Weise zu bestimmen, allerdings kann die Abtrennung der nicht flüchtigen Base nicht auf dem einfachen und sauberen Weg der Destillation erfolgen. Diese muß vielmehr in der üblichen Weise nach Alkalisierung des Materials mit Äther-Chloroform ausgeschüttelt und diesem wiederum durch Ausschütteln mit Salzsäure entzogen werden. Der wesentliche Vorzug des Verfahrens liegt in der kolorimetrischen Bestimmung, die einfacher und rascher durchgeführt werden kann, als die gravimetrische oder maßanalytische Bestimmung.

Experimenteller Teil:

Zur Alkaloidbestimmung in *gelben Süßlupinen* konnte jedoch das Verfahren zunächst nicht benutzt werden. Diese Lupinenart enthält bekanntlich zwei Alkaloide, das in seinen Eigenschaften dem Lupanin ähnliche und mit dem Spartein des Besenginsters identische Lupinidin, sowie das Lupinin, ein einfacher gebautes Alkaloid mit kleinerem Molekulargewicht und anderen erheblich abweichenden chemischen und phy-

sikalischen Eigenschaften. So wurde u. a. gefunden, daß die Niederschläge, die das Lupinin mit den bekannten Alkaloidfällungsmitteln gibt, stärker löslich sind, als diejenigen des Lupanins und Lupinidins. Dies trifft auch für die in diesem Zusammenhang interessierende Kieselwolframsäurefällung zu.

Läßt man diese Erscheinung unberücksichtigt, so erhält man mit allen Methoden, bei denen eines dieser Fällungsmittel angewandt wird, zu niedrige Werte. Aus diesem Grund kann auch die im *Methoden-Buch III* (9) angegebene Methode von MACH und LEDERLE nicht auf gelbe Süßlupinen übertragen werden. Führt man die Bestimmung nach diesem Verfahren durch, so erfaßt man nur einen kleinen Bruchteil des wirklich vorhandenen Lupinins.

Tabelle 2. Löslichkeit des Kieselwolframsäure-Lupinin-Niederschlags.

Stammlösung: 100 mg Lupinin in 100 ccm 5%iger Salzsäure, 10 mg Lupinin je Ansatz, Fällungsvolumen 10–300 ccm.

Fällungsvolumen in ccm	überschüssiges Fällungsmittel ausgewaschen ¹		Niederschlag nicht ausgewaschen ²	
10	5,85	5,85	8,96	9,53
50	2,88	1,48		
90 ³			1,36	1,26
100	0,19	0,38		
200	0,67	—		
300	0,74	—		

Werden z. B. 10 mg Lupinin in 90 ccm Salzsäure gelöst, so findet man nur 1,31 mg wieder, 8,69 mg = 86,9% bleiben gelöst. Bei bitteren gelben Lupinen, die rund 1% Gesamtalkaloid (0,37% Spartein und 0,63% Lupinin) enthalten, ist der Fehler natürlich geringer aber auch noch untragbar; denn wenn von 63 mg Lupinin 8,87 mg in Lösung bleiben, so bedeutet dies, daß nur 85,8% des tatsächlich vorhandenen Lupinins erfaßt werden.

Nach einer Reihe von Versuchen wurde festgestellt, daß sich der Löslichkeitsfehler am einfachsten durch die Verwendung einer Eichkurve ausschalten läßt. Diese Arbeitsweise erfordert natürlich konstante Arbeitsbedingungen, insbesondere ein konstantes Fällungsvolumen, um auch den Löslichkeitsfehler konstant zu halten. Es hat sich gezeigt, daß sich diese Bedingungen unschwer einhalten lassen und man dann zu gut reproduzierbaren Werten gelangt. Nach den Untersuchungen von NOTTBOHM und MEYER sowie unveröffentlichten eigenen Analysen sind Lupinidin und Lupinin in den Körnern der gelben Lupine etwa in dem Verhältnis 1 : 1,7 enthalten. Dieses Verhältnis, das nur innerhalb verhältnismäßig enger Grenzen zu schwanken scheint, wurde bei der Aufstellung der Eichkurve zugrunde gelegt. Die dazu benutzte Lösung (0,079 g Spartein = 0,144 g Sparteinsulfat + 5 H₂O und 0,136 g Lupinin mit 1%iger Salzsäure zu 200 ccm aufgefüllt) enthält in 1 ccm 1,08 mg Gesamtalkaloid. Sparteinsulfat und Lupinin waren von der Firma Merck bezogen worden. Aus dem Schwefelsäuregehalt des Sparteinsulfates, der nach der Verdrängungsaktion (Titration gegen Phenolphthalein unter Verdrängung des Alkaloids durch Ausschütteln mit

Tabelle 1. Fällungsgrenzen der Lupinenalkaloide¹.

Fällungsmittel	Spartein	Lupanin	Lupinin
in 1%iger NaCl-Lösung			
Jod-Jodkali	1 : 10 ⁶	1 : 10 ⁶	1 : 10 ⁵
Phosphorwolframsäure	10 ⁶	2 × 10 ⁵	2 × 10 ⁴
Kieselwolframsäure	2 × 10 ⁵	2 × 10 ⁴	6500
Phosphormolybdänsäure	2 × 10 ⁵	125 000	2 × 10 ⁴
Phosphormolybdänblau	125 000	5 × 10 ⁴	2 × 10 ³
Kieselmolybdänsäure	2 × 10 ⁵	5 × 10 ⁴	2 × 10 ³
Dragendorff's Reagenz			
KBiJ ₄	2 × 10 ⁵	10 ⁵	5 × 10 ³
Mayer's Reagenz K ₂ MgJ ₄	10 ⁵	10 ⁴	—

¹ Diese Tabelle wurde von Herrn Dr. KARL MEYER aus einer unveröffentlichten Arbeit zur Verfügung gestellt.

² Mit Salzsäure ausgewaschen, bis das Filtrat mit Nikotin keine Fällung mehr gab.

³ Niederschlag mit Filtrat quantitativ auf Filter überspült und trocken gesaugt.

⁴ Bedingungen der Methode nach MACH und LEDERLE (Methodenbuch III).

Chloroform) bestimmt wurde, lies sich ein Gehalt von 99,8% $C_{15}H_{26}N_2 \cdot H_2SO_4 + 5H_2O$ errechnen. Die Bestimmung nach MACH und LEDERLE ergab einen Gehalt von 99,7%. Die Reinheit des Lupininpräparates wurde durch Titration einer wässrigen Lösung gegen Methylrot ermittelt. Es ergab sich ein Gehalt von 99,2%. In beiden Fällen lagen mithin Präparate von hohem Reinheitsgrad vor. 1–6 ccm der Stammlösung wurden mit 1%iger Salzsäure zu 15 ccm aufgefüllt und in der von MEYER beschriebenen Weise weiter verarbeitet. Die mit Hilfe dieser Meßpunkte erhaltene Eichkurve ist eine Gerade, die durch den Nullpunkt läuft. Die Absorption folgt also dem BEERSCHEN Gesetz, so daß die Alkaloidmenge auch mit Hilfe der Beziehung $c = F \cdot k$ errechnet werden kann. Darin bedeutet c die Alkaloidkonzentration in mg je ccm Farblösung, F den Eichfaktor, der in diesem Fall 0,258 beträgt, und k den Extinktionskoeffizienten. Letzterer ist mit der in der Trommel abgelesenen Extinktion identisch, wenn bei einer Schichtdicke von 1 cm gemessen wird.

Der von MEYER festgelegte Untersuchungsgang bedeutet wohl gegenüber den vorhandenen Methoden einen nicht unerheblichen Fortschritt, doch erwies es sich als notwendig, die Leistungsfähigkeit ohne Beeinträchtigung der Genauigkeit noch weiter zu steigern. Nach MEYER wird das Alkaloid der alkalischen Suspension des Pflanzenpulvers durch 4maliges Ausschütteln mit Äther-Chloroform bzw. mit Äther entzogen und diesem durch 4maliges Ausschütteln mit Salzsäure. Es wird also das gesamte im Ausgangsmaterial enthaltene Alkaloid abgetrennt und weiter verarbeitet. Diese langwierige und mühevollen zweimalige quantitative Extraktion wurde durch die Abnahme aliquoter Teile zu vereinfachen gesucht. Von dieser Möglichkeit kann natürlich nur dann Gebrauch gemacht werden, wenn das Alkaloid aus der alkalisch-wässrigen Suspension quantitativ oder praktisch quantitativ in das organische Lösungsmittel und aus diesem quantitativ in die Salzsäure übergeht, ohne daß das jeweilige Extraktionsmittel mehrfach erneuert werden muß. Zur Klärung dieser Frage wurden die folgenden Versuche durchgeführt. Verschiedene Mengen der für die Herstellung der Eichkurve benutzten Alkaloidlösung wurden in 100 ccm-Flaschen mit 10 ccm 15%iger Natronlauge und 40 ccm Äther-Chloroformgemisch (3 : 1) versetzt, und die Flaschen, nachdem die Stopfen durch Federklammern gesichert worden waren, 1 Stunde in der Maschine geschüttelt. Nach klarer Abtrennung des Äther-Chloroformgemisches wurden dann unter Verwendung der unten beschriebenen Druckpipette je 30 ccm abgenommen und in bereitgestellte 50 ccm Steilbrustflaschen, die je 20 ccm 1%iger Salzsäure enthielten, eingelassen. Nach ½stündigem Schütteln in der Maschine und klarer Trennung der Phasen wurden je 15 ccm der salzsauren Lösung mit der Pipette entnommen, mit je 3 ccm Kiesel-molybdänsäure gefällt und in der üblichen Weise weiter gearbeitet. Die in Tab. 3 zusammengefaßten Ergebnisse lassen erkennen, daß man mit der Abnahme aliquoter Teile zum Ziel kommt. Diese Arbeitsweise ist nicht nur rascher und einfacher, sondern liefert wie in späteren Untersuchungen oft festgestellt werden konnte, noch besser reproduzierbare Ergebnisse als die erschöpfende Extraktion, bei der die Verlustmöglichkeiten größer sind als bei der Abnahme ali-

Tabelle 3.

4, 5 und 6 ccm Lösung entsprechend 4,32, 5,40 und 6,48 mg Alkaloid als aliquote Teile bestimmt und aus den erhaltenen Werten die Ausgangsmengen unter der Annahme eines quantitativen Überganges der Base in das Äther-Chloroform und des Chlorids in die Salzsäure errechnet.

Ausgangsmenge mg	Gefundene Menge mg	Auf Ausgangsmenge umgerechnet mg (gef. Menge $\times 1,778$)
4,32	2,40	4,27
5,40	3,05	5,42
6,48	3,90	6,49

quoter Teile. Versuche mit einer Lupaninlösung führten zu demselben Ergebnis, so daß auch die Untersuchung von blauen und weißen Lupinen auf diesem vereinfachten Weg erfolgen kann.

Der weitere, im Prinzip beibehaltene Untersuchungsgang wurde durch Auswahl bzw. Entwicklung zweckmäßiger Apparaturen und Geräte, die weiter unten beschrieben werden, vereinfacht und beschleunigt. Insbesondere konnte die photometrische Messung der Molybdänblau-Lösung, die bisher mit dem Stufenphotometer vorgenommen wurde, durch Anwendung des von SCHUHKNECHT und WAIBEL für Phosphatbestimmungen entwickelten photoelektrischen Meßgerätes wesentlich vereinfacht werden.

Wenn genügend Material vorhanden ist, empfiehlt es sich, mit einer konstanten Einwaage zu arbeiten, und zwar hat sich für Süßlupinen eine Einwaage von 5 g als zweckmäßig erwiesen. Liegt stark verunreinigtes Material vor, so muß die Bestimmung unter Umständen mit einer kleineren Einwaage wiederholt werden. Bei konstanter Einwaage ist die Auswertung des Meßergebnisses besonders einfach, weil dann die für die Ermittlung des Prozentgehaltes notwendige Umrechnung in den Faktor einbezogen werden kann. So muß z. B. bei einer Einwaage von 5 g und bei der Verarbeitung der oben genannten aliquoten Teile, der Extinktionskoeffizient (= Extinktion bei der Schichtdicke 1 cm) bei gelben Lupinen mit dem Faktor 0,459 und bei blauen und weißen Lupinen mit dem Faktor 0,363 multipliziert werden, um den Prozentgehalt der Probe zu erhalten. Für Serienuntersuchungen ist es natürlich vorteilhaft, für die im Meßbereich vorkommenden Extinktionswerte die Prozentgehalte zu errechnen und beide Zahlen in einer Tabelle zusammenzustellen, so daß für die einzelnen Extinktionen sofort die Prozentgehalte entnommen werden können.

In analoger Weise wird die Eichkurve für das photoelektrische Meßgerät hergestellt und daraus unter Benutzung entsprechender Faktoren eine Tabelle der Photometerablesungen mit den zugehörigen Prozentzahlen.

Auf Grund der beschriebenen Untersuchungen wurde schließlich der folgende Analysengang festgelegt: 5 g der getrockneten und fein geschroteten Körnerprobe werden in einer 100 ccm-Steilbrustflasche mit 12 ccm 15%iger Natronlauge versetzt. Nach 6stündigem Stehen bei Zimmertemperatur werden mit Hilfe einer Druckpipette 40 ccm Äther-Chloroformgemisch zugesetzt und die Flaschen nach Sicherung des Verschlusses durch Klammern 1 Stunde in der Schüttelmaschine geschüttelt. Von der klar abgetrennten Äther-Chloroformschicht werden 30 ccm in eine zweite Steilbrustflasche, die 20 ccm 1%ige Salzsäure enthält, gegeben. Nach ½stündigem Schüt-

teln werden schließlich 15 ccm der salzsauren Lösung in ein Präparatenglas abgenommen und mit 3 ccm Kieselmolybdänsäurelösung gefällt. Die Fällung, die sich nach längerem Stehen (über Nacht) absetzt, wird mit Hilfe eines Filterstäbchens filtriert und zweimal mit je 10 ccm Salzsäure-Kochsalz-Lösung gewaschen. Durch Zugabe von 2 ccm Reduktionsmittel wird reduziert und gleichzeitig der Niederschlag gelöst. Die Lösung wird in einen 50 ccm Meßkolben übergesaugt und in diesem mit Wasser zur Marke aufgefüllt. Die photometrische Messung der Molybdänblaulösung erfolgt mit Hilfe des Stufenphotometers oder des Phosphorsäuremeßgerätes nach SCHÜHNKNECHT-WAIBEL, die Auswertung mit Hilfe von Eichkurven oder aus diesen abgeleiteten Tabellen.

Einzelheiten der Durchführung von Serienuntersuchungen und dafür erforderliche Geräte und Apparaturen.

Zur Zerkleinerung der Körner eignet sich, wenn kleine Proben vorliegen, die Elektro-Laboratoriumsmühle nach A. KÜHN, Charlottenburg. Sie hat den Vorzug, daß zur Reinigung nur wenige Handgriffe nötig sind und nur wenig Mahlgut verloren geht. Für größere Proben verwenden wir mit gutem Erfolg die Laboratoriumsmühle von THIEN & THÖVES, Halle/S. Type 19, eine Schlagleistenmühle, die sehr feine Mehle liefert, aber durch Einbau eines Kastens zum Auffangen der Mehle umgestaltet werden mußte, da der vorgesehene Entleerungstrichter sich für unsere Zwecke nicht gründlich genug reinigen läßt. Um ein Verschleppen von Alkaloid aus gelegentlichen stark bitteren Proben zu vermeiden, muß die Säuberung jeweils sehr sorgfältig vorgenommen werden. Die Mühle ist so einzustellen, daß das Mahlgut das 1 mm-Sieb passiert.

Die zu benutzenden 100 ccm-Flaschen müssen völlig dicht verschließbar sein. Enghalsflaschen sind leichter dicht zu bekommen und deshalb vorzuziehen. Es eignen sich sowohl Flaschen mit Glas- als auch solche mit Korkstopfenverschluß. Glasstopfen müssen während des Schüttelns durch Federklammern gesichert sein. Die Maßnahme erübrigt sich bei der Verwendung von Korkstopfen. Diese werden durch Lauge etwas angegriffen, sind aber trotzdem verhältnismäßig lange zu benutzen. Ihre Anwendung, die bei der geschilderten Arbeitsweise keine Fehler verursacht, ist dann zu empfehlen, wenn keine Normal-schliffflaschen zur Verfügung stehen.

Die Zugabe des Äther-Chloroformgemisches wird mit einer automatischen Bürette, die Abnahme aliquoter Teile nach dem Schütteln und Absetzen mit Hilfe der von GROSSFELD (1010) vorgeschlagenen Druckpipette vorgenommen. Diese besteht aus einer gewöhnlichen Pipette, die mittels eines doppelt durchbohrten Gummistopfens in die Flasche eingeführt wird. Mit einem Handgebläse wird durch die zweite Öffnung Luft in die Flasche geblasen und dadurch die Lösung in die Pipette gedrückt. Die für die Pipette bestimmte Bohrung muß bei lose eingedrücktem Stopfen einen dichten Verschluß gewährleisten, andererseits aber so weit sein, daß die Pipette leicht ausgewechselt werden kann. Die Abnahme darf erst nach vollständig klarer Abtrennung der Äther-Chloroformlösung erfolgen. Suspensiertes, an einer Trübung erkenntliches Eiweiß z. B. würde Fehler verursachen, da es von der Kieselmolybdänsäure mit-

gefällt wird. Natürlich muß ein Aufwirbeln der alkalisch-wässrigen Suspension bei Anwendung der Druckpipette vermieden werden. Zur Abnahme der Äther-Chloroformlösung läßt sich behelfsweise eine Bürette verwenden, in die durch ein Wattefilter die Lösung eingegossen wird.

Die bereits an anderer Stelle beschriebene Schüttelmaschine besteht aus einem an Stahlbändern aufgehängten Holzkasten, der in der Minute 150 Schwingungen ausführt und dabei 4 cm nach beiden Seiten ausschlägt. Der Antrieb erfolgt durch einen 0,1 PS-Motor (Tourenzahl 530/Min.) unter Verwendung eines Vorgeleges. In den Schüttelkasten werden kleinere dünnwandige Kästen, die Fächer zur Aufnahme der 100 ccm-Flaschen besitzen, eingesetzt, und zwar so, daß sich die Flaschen in horizontaler Lage befinden. Die oben offenen Kästen werden durch flache Filzkissen gegeneinander isoliert und mit Hilfe einer Schraubvorrichtung fest eingespannt. Auf diese Weise kann man mit wenigen Griffen eine große Anzahl von Flaschen, in diesem Fall $4 \cdot 16 = 64$, so festlegen, daß jede Bruchgefahr vermieden ist.

Zum Filtrieren der Fällungen und Übersaugen der Molybdänblaulösung kann für Serienuntersuchungen eine Wasserstrahlpumpe nur bei konstantem hohen Wasserdruck benutzt werden. Sicherer ist die Anwendung einer Ölpumpe, etwa der rotierenden Ölluftpumpe nach GAEDE, mit der gleichzeitig 6—10 Proben filtriert werden können.

Die Fällung wird im dickwandigen Präparatengläschen von 7,5 cm Höhe und 3 cm Weite vorgenommen. Ihre Bodenfläche ist der Filterplatte der Porzellanfilterstäbchen B 2, die zur Abrennung des Niederschlages benutzt werden, angemessen. Um das Filtrieren und Absaugen serienweise durchführen zu können, wurden besondere Vorrichtungen gebaut.

Während sich die Niederschläge des Lupanins und Lupinins bei Zusatz des ammoniakalischen Reduktionsmittels sofort lösen, geht der des Sparteins verhältnismäßig schwer in Lösung. Durch Schütteln des Glases oder Drehen des Filterstäbchens kann man die Lösung beschleunigen. Da diese Manipulationen, zumal bei stärkeren Fällungen, sehr störend sind, wird bei Serienuntersuchungen eine einfache Schüttelvorrichtung, mit der sich gleichzeitig 10 Gläser schütteln lassen, benutzt. Sie ahmt etwa die Schüttelbewegungen der Hand nach und führt in 1—2 Min. die Lösung der Niederschläge herbei.

Voraussetzung für einen hemmungslosen Ablauf der Serienbestimmungen ist die Durchlässigkeit der Filter, die nur bei sorgsamer und sachgemäßer Reinigung erhalten bleibt. Es hat sich die folgende Arbeitsweise bewährt: Nach Übersaugen der Molybdänblaulösung werden die Filter zunächst einige Stunden in 15%ige Natronlauge und darauf einige Stunden in Wasser gelegt. Dann wird zunächst Wasser und schließlich 1%ige Salzsäure durch die Filter hindurch gesaugt.

Zusammenfassung.

In ähnlicher Weise wie bei dem von MEYER für blaue und weiße Lupinen mitgeteilten Verfahren kann auch der Alkaloidgehalt von gelben Lupinen bestimmt werden. Die Bestimmung läßt sich so durchführen, daß die verhältnismäßig große Löslichkeit des kieselmolybdänsauren Lupinins keine Fehler verur-

sacht. Durch Abnahme aliquoter Teile des Äther-Chloroformextraktes sowie des salzsauren wässrigen Extraktes an Stelle der bisher üblichen erschöpfenden Extraktion kommt man zu einer ganz erheblichen Vereinfachung und Abkürzung des Verfahrens. Die Leistungsfähigkeit kann weiterhin durch Anwendung handlicher Geräte gesteigert werden. Da das Verfahren auf eine Molybdänblaubestimmung hinausläuft, läßt sich zur Messung das für Serienuntersuchungen besonders gut geeignete Meßgerät nach SCHUHKNECHT und WAIBEL verwenden.

Literatur.

1. SENGBUSCH, R. v.: Landw. Jahrbücher 91, 723 (1942). — 2. WUTTKE, H.: Züchter 14, 83 (1942). — 3. SCHWARZE, P.: Züchter 13, 195 (1941). — 4. MACH, F. und P. LEDERLE: Landw. Versuchsstat. 98, 117 (1921). — 5. NOTTBOHM, F. E. und FR. MEYER: Landw. Jahrbücher 81, 1 (1935); 84, 335 (1937). — 6. SABALITSCHKA, Th. und C. JUNGERMANN: Biochem. Z. 163, 445 (1925). — 7. MEYER, K.: Landw. Jahrbücher 91, 369 (1941). — 8. HOFMANN, R.: Biochem. Z. 260, 26 (1933). — 9. MACH, F. und P. LEDERLE: Methodenbuch II, 28—29. Neudamm u. Berlin 1941. — 10. GROSSFELD, J.: Handbuch der Lebensmittelchemie IV. 241. Springer-Berlin 1931.

Zur Genetik des Artbastardes *Godetia amoena* × *G. Whitneyi*.

Von GUNNAR HIORTH, Vollebekk, Norwegen.

Mit 6 Textabbildungen.

I. Einleitung.

Die *amoena*-Gruppe der Gattung *Godetia* umfaßt nach H. 1941, 1942a die drei Arten *G. amoena*, *G. Whitneyi* und *G. nutans*. Die durch aufrechte Blütenknospen gekennzeichneten diploiden Arten *G. amoena* und *G. Whitneyi* (mit 7 Paar Chromosomen) bewohnen einen Landstreifen an der pazifischen Küste Nordamerikas, und zwar kommt erstere Art auf einem relativ kleinen Areal südlich der Meeresbucht Golden Gate bei San Francisco vor, letztere auf einem wesentlich größeren Gebiet nördlich von Golden Gate, das sich bis zur Vancouver-Insel in British Columbia erstreckt. Die durch hängende Knospen ausgezeichnete *G. nutans* kommt in gewissen Gebieten neben *G. Whitneyi* vor, ist aber beträchtlich weiter nach Osten verbreitet als letztere Art. *G. nutans* ist nach HAKANSSON (1941, 1942) eine allotetraploide Art mit einem *Whitneyi*-ähnlichen Genom und einem Genom aus einer unbekannten Art.

Der auffälligste Unterschied zwischen den genannten diploiden Arten besteht in der Blütenzeichnung: *G. amoena* hat einen Basalfleck, d. h. einen kleinen Fleck direkt an der Basis des Kronblattes, *G. Whitneyi* einen Zentralfleck, d. h. einen mehr oder weniger weit von der Basis entfernten Fleck von sehr verschiedener Größe. Diese beiden Flecktypen sind scharf an ihre Arten gebunden. In *G. Whitneyi*, nördlich von Golden Gate, wurde an zahlreichen Lokalitäten kein einziges Individuum mit Basalfleck angetroffen, in *G. amoena*, südlich von Golden Gate, keins mit Zentralfleck. Individuen ohne Kronblattnackel kommen jedoch in wechselnder Häufigkeit bei beiden Arten vor. *G. nutans* hat ebenso wie *G. Whitneyi* einen Zentralfleck. An einer Lokalität (Magalia, vgl. H. 1942, S. 306) war jedoch ein kräftiger Basalfleck vorherrschend.

Im Gegensatz zu den Verhältnissen bei den natürlichen *G. amoena*-Rassen kommt ein Zentralfleck in einigen Handelssorten dieser Art vor. Wie in H. 1940 näher beschrieben, werden die verschiedenen Typen von Basalfleck und Zentralfleck in den Gartenrassen von *G. amoena* durch eine Serie multipler Allele bedingt, die zumindestens 6 Glieder enthält. Dagegen kommt ein Basalfleck nicht bei den zahlreichen Gartenrassen vom *G. Whitneyi*-Typus vor, obwohl beide Arten in Gärten frei miteinander bastardieren und der Bastard zwar hochgradig aber doch nicht absolut steril

ist. Dies zeigt, daß der Basalfleck unter gewöhnlichen Umständen nicht zwischen beiden Arten ausgetauscht wird.

Im Jahre 1937 wurde eine Versuchsreihe begonnen zu dem Zweck, den Basalfleck aus *G. amoena* durch fortgesetzte Rückkreuzungen in die Art *G. Whitneyi* einzulagern, vgl. Abb. 1. Parallel mit den genetischen Ver-

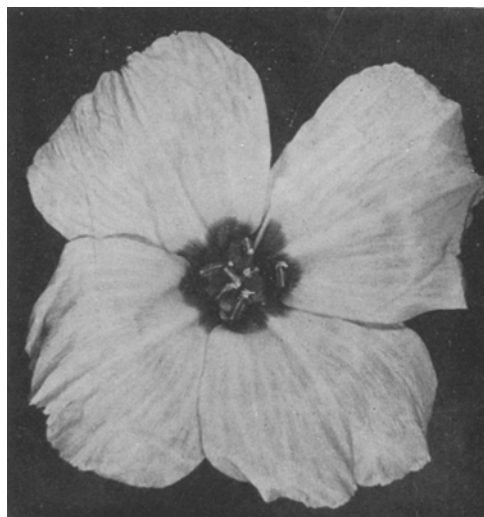


Abb. 1. Blüte einer fertilen F^bF^b -*Whitneyi*; vgl. S. 113.

suchen hat Dozent Dr. Artur HAKANSSON in Lund umfangreiche zytologische Untersuchungen an meinen Versuchspflanzen ausgeführt, über die er mir zahlreiche Angaben brieflich mitgeteilt hat. — Ein später erhaltenes Manuskript (HAKANSSON 1947) konnte nur teilweise, durch nachträgliche Umarbeitung einzelner Abschnitte, berücksichtigt werden.

Obwohl unsere Untersuchungen sich im wesentlichen auf das Ziel beschränkt haben, eine Eigenschaft einer Art in eine andere einzulagern, war es unvermeidlich, im Laufe der Arbeit einige Annahmen über die Struktur des Artbastardes und die Ursachen seiner Sterilität zu machen. Obgleich über diese Probleme keine besonderen Untersuchungen durchgeführt werden konnten und wir uns daher zum Teil auf zufällige Beobachtungen stützen müssen, dürfte es zweckmäßig sein, unsere Schlußfolgerungen mitzuteilen.