

Die Simulation quantitativer Merkmale durch Gene mit biochemisch definierbarer Wirkung

VIII. Untersuchungen über das Absorptionsverhalten der Anthocyane

G. Forkmann

Institut für Biologie II der Universität Tübingen, Lehrstuhl für Genetik, Tübingen (BRD)

Simulation of Quantitative Characters by Genes with Biochemically Definable Action
VIII. Investigations on the Optical Density of Anthocyanins

Summary. With reference to the concentration of aglycones in carefully hydrolysed anthocyanin extracts of 16 genotypes of *Matthiola incana* R.Br. it was investigated whether the measurement of the optical density of qualitatively different anthocyanin extracts may pass as a suitable measurement of the total content of anthocyanin pigments. - The results obtained after acid hydrolysis of different anthocyanin extracts show that the qualitative change of the pigment pattern influences in some cases the extinction values considerably. Thus, 3-monosides and 3-biosides were underestimated, whereas 3,5-glycosides were overestimated. The acylation of the anthocyanin molecule seems to have a detectable influence only on the 3,5-triglycosides. - The results obtained could be confirmed largely by comparison with purchased preparations and are in accordance with the coefficients of extinction we measured and those found in literature. From these results correction factors may be derived which are suited to transforming the extinction values obtained by measurements of the optical density to the same scale. - The influence of this transformation on the distribution of measurements and on the estimates of the parameters of the genes involved was examined by means of a formerly investigated trifactorial system.

Zusammenfassung. Anhand der Konzentration des Aglycons in schonend hydrolysierten Anthocyanextrakten von 16 Genotypen der Sommerleukoje, *Matthiola incana* R.Br. wurde untersucht, ob die Messung der optischen Dichte qualitativ unterschiedlicher Anthocyanextrakte als geeignetes Maß für den Gesamtgehalt der Anthocyanpigmente gelten kann. - Die nach saurer Hydrolyse der verschiedenen Anthocyanextrakte erhaltenen Ergebnisse zeigen, daß qualitative Änderungen des Pigmentmusters in einigen Fällen die Extinktionswerte erheblich beeinflussen. So werden 3-Monoside und 3-Bioside bei Extinktionsmessungen in ihrer Konzentration unterbewertet wogegen 3,5-Glycoside überbewertet werden. Die Acylierung der Anthocyanmoleküle scheint nur bei den 3,5-Triglycosiden einen nachweisbaren Einfluß zu haben. - Die erhaltenen Ergebnisse konnten anhand von Handelspräparaten weitgehend bestätigt werden und stehen auch in guter Übereinstimmung mit selbst bestimmten und in der Literatur veröffentlichten molaren Extinktionskoeffizienten. - Aus den Ergebnissen lassen sich Korrekturfaktoren ableiten, die geeignet sind, die bei Messungen der optischen Dichte erhaltenen Extinktionswerte in eine miteinander vergleichbare Form zu überführen. - An den Meßwerten eines früher untersuchten trifaktoriellen Systems wurde die Auswirkung der Korrekturen auf die Verteilung der Meßwerte und auf die Parameterschätzwerte der beteiligten Gene geprüft.

Einleitung

Für Untersuchungen zur Vererbung quantitativer Eigenschaften erwies sich die annuelle Crucifere *Matthiola incana* R.Br., und hier das Merkmal Anthocyangehalt/Petalenfrischgewicht als besonders geeignet (Seyffert 1971). An der Merkmalsbildung sind die vier Gene *b*, *l*, *u* und *v* beteiligt. Sie betreffen den Grad der Hydroxylierung des Seitenphenylringes (*b* → Pelargonidin, *b*⁺ → Cyanidin) sowie die Glycosidierung (*l*⁺ und *u*⁺) und die Acylierung (*u*⁺ und *v*⁺) vorliegender Pelargonidin- bzw. Cyanidin-3-monoside und -bioside (Seyffert 1960, 1962).

Mit Hilfe der vier Genpaare *b*⁺/*b*, *l*⁺/*l*, *u*⁺/*u* und *v*⁺/*v* lassen sich 16 Linien darstellen, die ein von Genotyp zu Genotyp wechselndes Pigmentmuster aufwei-

sen. Im Experiment werden die 16 Linien diallel gekreuzt und für jede der *F*₁-Nachkommenschaften der Gesamtgehalt der Anthocyanpigmente wiederholt photometrisch bestimmt. Die für die verschiedenen Genotypen erhaltenen Extinktionswerte unterscheiden sich meist erheblich voneinander. Anhand dieser Meßwerte werden Parameterschätzungen vorgenommen, die Aussagen über die Vererbung des untersuchten quantitativen Merkmals erlauben (Forkmann und Seyffert 1976). Dabei wird jedoch vorausgesetzt, daß die Messung der optischen Dichte einen für den Gesamtgehalt der Anthocyane repräsentativen Wert ergibt. Das heißt, die molaren Extinktionskoeffizienten der im untersuchten Material enthaltenen Anthocyane dürfen sich nicht wesentlich unterscheiden. Andernfalls würde eine qua-

Tabelle 1. Pigmentmuster der Linien 0101 bis 0808

| Linie | Genotyp bluv | Anthocyanotypen |
|-------|-----------------|--|
| 0808 | 2000 * | Cya-3-M, Cya-3-B |
| 0707 | 2200 | Cya-3-M, Cya-3, 5-D, Cya-3, 5-T |
| 0606 | 2020 | je drei verschiedenen acylierte Cya-3-B und Cya-3, 5-T |
| 0505 | 2002 | Cya-3-M, Cya-3-B, zwei verschiedene acylierte Cya-3-B |
| 0404 | 2220 | drei verschiedene acylierte Cya-3, 5-T |
| 0303 | 2202 | Cya-3-M, Cya-3, 5-D, Cya-3, 5-T, zwei acylierte Cya-3, 5-T |
| 0202 | 2022 | elf verschiedene acylierte Cya-3-B und Cya-3, 5-T |
| 0101 | 2222 | neun verschiedene acylierte Cya-3, 5-T |

Cya-3-M = Cyanidin-3-Glucosid, Cya-3-B = Cyanidin-3-Sambubiosid

Cya-3, 5-D = Cyanidin-3, 5-Diglucosid, Cya-3, 5-T = Cyanidin-3-Sambubiosid-5-Glucosid.

* Die Identifizierungsnummer der Genotypen kennzeichnet die Besetzung der Loci mit 0 oder 2 funktionellen Allelen.

litative Änderung des Pigmentmusters Quantitätsunterschiede vortäuschen und so die Parameterschätzungen verfälschen.

Eine direkte Bestimmung der molaren Extinktionskoeffizienten der im untersuchten Material vorhandenen Anthocyane scheitert an der geringen Stabilität der Acylanthoncyanine bei der Reinisolierung. Dagegen sollte anhand der Konzentration des Aglycons in schonend hydrolysierten Anthocyanextrakten der 16 Genotypen verhältnismäßig einfach nachzuweisen sein, ob reale Quantitätsunterschiede vorliegen und wie groß sie sind.

Material und Methoden

Die Pigmentmuster der 16 Linien sind in den meisten Fällen sehr komplex. So liegen neben einfachen Anthocyanglycosiden oft auch Anthocyane vor, die mit einer oder mehreren verschiedenen Zimtsäuren verestert sind (Tabelle 1).

Als Zimtsäuren treten p-Cumarsäure, Kaffeesäure, Ferulasäure und Sinapinsäure auf. Die in Tabelle 1 nicht aufgeführten Linien 0909 bis 1616 (Genotypen 0222 bis 0000) haben hinsichtlich Glycosidierung und Acylierung das gleiche Pigmentmuster wie die Linien 0101 bis 0808, jedoch mit Pelargonidin als Aglycon. Bei Genotypen, die sowohl 3-Glycoside als auch 3,5-Glycoside enthalten, ist der Anteil der 3-Glycoside stets deutlich höher als der der 3,5-Glycoside.

Die Extraktion der Anthocyane erfolgte nach der Methode von Forkmann und Seyffert (1972). Die quantitative Hydrolyse der Extrakte wurde in Anlehnung an die von Nordström (1956) vorgeschlagene Methode vorgenommen. Dazu wurden 22 ml Extrakt am Rotationsverdampfer bei 25°C fast vollständig eingedampft und mit der gleichen Menge 10 % iger methanolischer Salzsäure aufgenommen. Davon wurden sofort zwei Proben von je 5 ml entnommen, mit Methanol auf 10 ml Gesamtvolume aufgefüllt, nochmals 1:10 mit Methanol verdünnt und zur Null-Wert Bestimmung im registrierenden Spektralphotometer zwischen 550 und 500 nm gegen 0,5 % ige methanolische Salzsäure gemessen. Zwei weitere Proben von je 5 ml wurden bei 90°C unter Rückfluß 4 Stunden im Dunklen hydrolysiert und nach Abkühlung analog zur Null-Wert-Bestimmung auf 10 ml Gesamtvolume aufgefüllt, verdünnt und gemessen. Die je zwei Wiederholungen wurden zu einem Mittel-

wert zusammengefaßt. Die Meßwerte lagen je nach Genotyp zwischen 0,3 und 0,8 der Extinktionsskala.

Die hier gewählten Versuchsbedingungen sind das Ergebnis aus Voruntersuchungen, bei denen die Extrakte der einzelnen Genotypen einer kontrollierten Hydrolyse bei verschiedenen Temperaturen (70, 80 und 90°C) und Salzsäurekonzentrationen (10, 15 und 20 %) unterworfen wurden. Dazu wurden von jedem Extrakt sieben Proben von je 5 ml hydrolysiert. Über einen Zeitraum von 7 Stunden wurde mit einstündigem Abstand eine der Proben entnommen, aufgefüllt, verdünnt und gemessen. Neben der photometrischen Auswertung wurde der Hydrolyseverlauf auch chromatographisch beobachtet. Zusätzlich zu den Anthocyanextrakten aus *Matthiola incana* wurden Lösungen der Handelspräparate Cyanidin, Pelargonin, Callistephin (alle Roth), Pelargonidin und Cyanin (Fluka) den beschriebenen Hydrolysebedingungen unterworfen. Die Bestimmung der molaren Extinktionskoeffizienten dieser Präparate erfolgte in 0,1 % iger methanolischer Salzsäure (Merck Uvasol). Das verwendete Cyaninpräparat ließ sich in diesem Lösungsmittel nicht vollständig lösen. Die unlöslichen Bestandteile wurden deshalb mit einer Fritte abgenutscht, nachgewogen und durch neues Cyanin ergänzt. Um die Verluste nahezu vollständig auszugleichen, mußte die Prozedur zweimal wiederholt werden.

Ergebnisse

In den Voruntersuchungen wurden dann die besten Ergebnisse erhalten, wenn mit 10 % iger Salzsäurekonzentration und bei 90°C gearbeitet wurde. Niedrigere Temperaturen verlängerten die Hydrolysezeiten der acylierten 3,5-Triglycoside erheblich (bis zu 7 h). Höhere Salzsäurekonzentrationen führten bei längeren Hydrolysezeiten in einigen Fällen zu einem nachweisbaren Verlust an Aglycon. Diesbezüglich erwies sich auch die Hydrolyse unter vollständigem Lichtabschluß als unbedingt erforderlich. Die chromatographischen Untersuchungen zeigten, daß 3,5-Triglycoside und besonders deren acylierte Derivate erst nach drei- bis vierstündiger Hydrolyse vollständig zum Aglycon abgebaut werden. Mit zunehmender Hydrolysedauer fal-

Tabelle 2. Extinktionswerte der Aglyca der 16 Genotypen als Prozent der entsprechenden Anthocyaninextrakte, deren Standardfehler und die resultierenden Korrekturfaktoren

| Genotyp bluv | \bar{x} in % | s_x in % | Korrekturfaktor |
|-----------------|----------------|------------|-----------------|
| 0000 | 115,22 | 1,25 | 1,44 |
| 0200 | 107,11 | 1,04 | 1,34 |
| 0020 | 111,57 | 0,60 | 1,40 |
| 0002 | 115,27 | 0,98 | 1,44 |
| 0220 | 79,86 | 0,61 | 1,00 |
| 0202 | 108,30 | 1,30 | 1,35 |
| 0022 | 112,16 | 0,87 | 1,40 |
| 0222 | 83,23 | 1,20 | 1,04 |
| 2000 | 115,32 | 1,05 | 1,15 |
| 2200 | 106,63 | 1,01 | 1,07 |
| 2020 | 111,99 | 1,29 | 1,12 |
| 2002 | 115,79 | 0,86 | 1,15 |
| 2220 | 86,80 | 0,83 | 0,87 |
| 2202 | 108,19 | 1,13 | 1,08 |
| 2222 | 112,29 | 1,44 | 1,12 |
| 2222 | 90,44 | 0,75 | 0,90 |
| <hr/> | | | |
| Pelargonidin | 99,37 | 0,67 | - |
| Cyanidin | 99,75 | 1,03 | - |
| Pelargonidin | 82,92 | 0,99 | - |
| Cyanin | 89,98 | 0,96 | - |

len dabei die Extinktionswerte der Hydrolysate deutlich unter den Ausgangswert und bleiben erst nach etwa vier Stunden in Übereinstimmung mit den chromatographischen Ergebnissen konstant. Dagegen werden Extrakte, die vorwiegend oder ausschließlich 3-Monoside, 3-Bioside oder acylierte 3-Bioside enthalten, bei den gewählten Bedingungen innerhalb von ein bis zwei Stunden vollständig hydrolysiert. Dabei steigen die Extinktionswerte der Hydrolysate bis zu zwei Stunden Hydrolysedauer deutlich über den Ausgangswert an und bleiben dann über mehrere Stunden konstant. Die Abbauversuche wurden deshalb einheitlich für alle Extrakte mit einer Hydrolysedauer von vier Stunden durchgeführt. Die methodischen Untersuchungen wurden durch den Einsatz definierter Handelspräparate ergänzt. Anhand von Pelargonidin- und Cyanidinlösungen wurde geprüft, ob die gewählten Hydrolysebedingungen eine möglichst vollständige Erhaltung der Aglyca gewährleisten. Dabei ergaben sich auch nach vier- bis fünfstündiger Hydrolysedauer keine signifikanten Veränderungen der Null-Werte (Tabelle 2). Dagegen zeigten Lösungen von Pelargonin bzw. Cyanin ein den 3,5-Triglycosiden vergleichbares Verhalten. Callistephin als 3-Monosid konnte nicht in die Untersuchungen einbezogen werden, da sich das Handelsprä-

parat als eine Mischung aus vorwiegend Pelargonin und Cyanin erwies.

Der Abbau zum Aglycon wurde für jede der 16 Linien und für die Handelspräparate mit sieben Wiederholungen durchgeführt. Dem natürlichen Material entsprechend, variieren dabei die Null-Werte der über einen längeren Zeitraum wiederholt hergestellten Anthocyanextrakte eines Genotyps. Deshalb wurden die Extinktionswerte der sieben Wiederholungen als Prozent der entsprechenden Null-Werte ausgedrückt und dann gemittelt. Die für die 16 Linien erhaltenen Ergebnisse sind zusammen mit denen der Handelspräparate in Tabelle 2 aufgelistet.

Anhand der Handelspräparat wurde für Pelargonidin ein Extinktionskoeffizient von 28300 und für Cyanidin von 35500 ermittelt. Die molaren Extinktionskoeffizienten der zwei 3,5-Diglucoside lagen deutlich über denen der Aglyca. Für Pelargonin ergab sich ein Wert von 34600 und für Cyanin ein Wert von 40200. Die beiden 3,5-Diglucoside und Pelargonidin sind allerdings chromatographisch nicht ganz rein. Alle Extinktionskoeffizienten wurden mehrfach bestimmt. Die bei den Wiederholungen erhaltenen Werte unterschieden sich nur geringfügig voneinander.

Sowohl die Abbauversuche als auch die erhaltenen Extinktionskoeffizienten zeigen, daß die Bestimmung der optischen Dichte zur Charakterisierung des Gesamtgehalts der Anthocyane eines Genotyps allein nicht ausreicht. Für die hier untersuchten 16 Genotypen können jedoch die bei den Abbauversuchen erhaltenen Prozentwerte direkt als Korrekturfaktoren eingesetzt werden (Tabelle 2). Damit lassen sich die bei Messungen der optischen Dichte erhaltenen Extinktionswerte in eine miteinander vergleichbare Form überführen. Da die vier Gene hinsichtlich des Pigmentmusters vollständig dominant sind, können auch die Extinktionswerte von Extrakten heterozygoter Genotypen mit dem Faktor des entsprechenden homozygoten Genotyps korrigiert werden.

Der Extinktionskoeffizient von Pelargonidin liegt deutlich unter dem von Cyanidin. Deshalb bedürfen alle Genotypen, die Pelargonidin als Aglycon enthalten, einer zusätzlichen Korrektur. Als Korrekturfaktor bietet sich hier der prozentuale Unterschied der zwei Extinktionskoeffizienten an. Er liegt bei 25 % und wurde in Tabelle 2 für die Genotypen 0000 bis 0222 zusätzlich berücksichtigt.

Tabelle 3. Unkorrigierte und korrigierte mittlere Meßwerte eines trifaktoriellen Systems und die daraus resultierenden Schätzwerte der Parameter (Modell 2.2) *

| Genotyp | Meßwerte | | Parameter | Schätzwerte | |
|---------|--------------|------------|-------------|--------------|------------|
| | unkorrigiert | korrigiert | | unkorrigiert | korrigiert |
| 0200 | 680,36 | 909,97 | z | 680,36 | 909,97 |
| 0201 | 743,00 | 1003,05 | u_b | 382,51 | 227,29 |
| 0202 | 768,69 | 1037,73 | u_u | 336,89 | 107,27 |
| 0210 | 1017,25 | 1017,25 | u_v | 62,63 | 93,07 |
| 0211 | 1038,23 | 1077,16 | b_b | 522,53 | 377,11 |
| 0212 | 1071,17 | 1111,33 | b_u | 378,69 | 149,08 |
| 0220 | 1059,06 | 1059,06 | b_v | 88,33 | 127,76 |
| 0221 | 1124,83 | 1167,01 | u_{ubu} | -277,45 | -268,14 |
| 0222 | 1108,12 | 1149,67 | u_{ubv} | -119,45 | -143,82 |
| 1200 | 1062,87 | 1137,27 | u_{uvv} | -41,65 | -33,16 |
| 1201 | 1006,04 | 1086,52 | ub_{bu} | -320,58 | -311,08 |
| 1202 | 982,63 | 1061,24 | ub_{bv} | -168,58 | -203,79 |
| 1210 | 1122,30 | 976,40 | ub_{uv} | -34,40 | -33,67 |
| 1211 | 1198,51 | 1078,66 | b_{bu} | -348,27 | -357,77 |
| 1212 | 1154,27 | 1038,84 | b_{bv} | -153,45 | -179,16 |
| 1220 | 1121,00 | 975,27 | b_{buv} | 3,43 | 14,87 |
| 1221 | 1209,52 | 1088,57 | b_{bbu} | -523,72 | -515,83 |
| 1222 | 1242,24 | 1118,02 | b_{bbv} | -194,99 | -230,91 |
| 2200 | 1202,89 | 1287,09 | bb_{uv} | -39,27 | -37,15 |
| 2201 | 1112,04 | 1201,00 | uu_{ubuv} | -263,84 | -258,96 |
| 2202 | 1096,24 | 1183,94 | uub_{buv} | -333,66 | -333,47 |
| 2210 | 1191,49 | 1036,59 | ubu_{buv} | -294,38 | -290,55 |
| 2211 | 1217,79 | 1096,01 | buu_{buv} | -384,52 | -391,43 |
| 2212 | 1198,93 | 1079,04 | ubb_{buv} | -287,76 | -296,10 |
| 2220 | 1057,87 | 920,35 | bub_{buv} | -429,16 | -443,09 |
| 2221 | 1250,95 | 1125,86 | bbu_{buv} | -393,26 | -403,40 |
| 2222 | 1349,96 | 1214,96 | bbb_{buv} | -319,84 | -348,98 |

* Forkmann und Seyffert 1976

Die Auswirkung der Korrekturen auf die Verteilung der Meßwerte und auf die Schätzwerte der Parameter ist für ein trifaktorielles System (Forkmann und Seyffert 1976) aus Tabelle 3 zu ersehen.

Diskussion

In der vorliegenden Untersuchung war die Frage zu klären, ob die Messung der optischen Dichte qualitativ unterschiedlicher Anthocyanextrakte als geeignetes Maß für den Gesamtgehalt an Anthocyanpigmenten gelten kann oder ob qualitative Änderungen des Pigmentmusters Quantitätsunterschiede vortäuschen. Zweifelsohne wäre dieses Problem am besten anhand der molaren Extinktionskoeffizienten zu lösen. Dieser Weg erschien jedoch aus einer Reihe von Gründen wenig erfolgversprechend.

Brauchbare Angaben über molare Extinktionskoeffizienten der Anthocyane sind in der Literatur nur in wenigen Fällen zu finden. Einige Angaben aus älteren Arbeiten (Schou 1927, Hayashi 1933-36) sind aufgrund

der unzureichenden technischen Ausrüstung nur bedingt verlässlich (Hayashi 1962). Neuere Angaben von Sondheimer und Kertesz (1948), Jorgensen und Geissman (1955), Nordström (1956), Hayashi (1962), Koeppen und Basson (1966) und Harborne (1967) sind oft nicht miteinander vergleichbar, da die Extinktionskoeffizienten in unterschiedlichen Lösungsmitteln und bei verschiedenen pH-Werten (Sondheimer 1953) bestimmt wurden. Ferner beschränken sich die Angaben zumeist auf einige wenige Aglyca und einfache Glycoside. Molare Extinktionskoeffizienten für 3,5-Triglycoside und besonders für acylierte Anthocyane, die in vielen Genotypen von *Matthiola incana* enthalten sind, fehlen meist vollständig. Die vorhandenen Angaben können somit nur wenig zur direkten Klärung des Problems beitragen. In einigen Fällen können sie jedoch die in den Abbauversuchen erhaltenen Ergebnisse verifizieren.

Eine direkte Messung der molaren Extinktionskoeffizienten der im Material enthaltenen Anthocyane wäre bestenfalls für einige Glycoside möglich. Die Reinisierung der in überwiegender Zahl vorliegenden Acyl-

anthocyane ist wegen ihrer geringen Stabilität (Harborne 1967) aussichtslos. Dagegen bot eine saure Hydrolyse der Anthocyanextrakte und die Messung der Extinktion der Aglyca im Hydrolysat eine verhältnismäßig einfache Möglichkeit, Aufschluß über die gegebenen Verhältnisse zu erhalten. Eine enzymatische Hydrolyse erwies sich schon deshalb als ungeeignet, da dabei das entstehende Aglycon spontan in eine farblose Pseudobase überführt wird (Huang 1955, 1956a, 1956b, Harborne und Sherratt 1957). Ferner bleiben bei enzymatischer Hydrolyse die acylierten Anthocyane unbeeinflußt (Harborne 1965).

Die nach saurer Hydrolyse der verschiedenen Anthocyanextrakte erhaltenen Ergebnisse zeigen, daß eine qualitative Änderung des Pigmentmusters die Extinktionswerte erheblich beeinflussen kann. Trotz der sehr unterschiedlichen Anthocyanausstattung der untersuchten Extrakte ergibt sich dabei ein klares Bild. Grob betrachtet, können zwei Gruppen unterschieden werden. Alle Anthocyanextrakte, die ausschließlich 3,5-Glycoside enthalten, weisen nach saurer Hydrolyse einen deutlich niedrigeren Meßwert auf als zuvor. Dagegen verhalten sich Extrakte, die ausschließlich oder hauptsächlich 3-Monoside und/oder 3-Bioside enthalten, gerade umgekehrt. Hier ist in jedem Fall ein Anstieg zu verzeichnen. Er liegt bei relativ hohem Anteil an 3,5-Glycosiden bei ca. 7-8 %, steigt bei nur geringem Anteil an 3,5-Glycosiden auf etwa 12 % an und erreicht bei Extrakt ohne 3,5-Glycoside ca. 15 %. Das heißt, 3-Monoside und 3-Bioside werden bei Extinktionsmessungen in ihrer Konzentration unterbewertet, wogegen 3,5-Glycoside überbewertet werden.

Die Acylierung der Anthocyanmoleküle und hier besonders die Anzahl der Zimtsäuren/Anthocyanmolekül scheint nur bei den 3,5-Triglycosiden einen nachweisbaren Einfluß zu haben. So liegen die Extinktionswerte der Linien 0101 bzw. 0909, die immer mehrere Zimtsäuren/Anthocyanmolekül enthalten, nach der Hydrolyse ca. 3-4 % über den Extinktionswerten der Linien 0404 bzw. 1212, die nur eine Zimtsäure/Anthocyanmolekül aufweisen. Bei den 3,5-Glycosiden gibt es auch hinsichtlich der beiden Aglyca deutliche Unterschiede. Die 3,5-Glycoside mit Pelargonidin als Aglycon (Linie 0909 bzw. 1212) liegen nach vollständiger Hydrolyse in ihren Extinktionswerten etwa 6 % niedriger als die entsprechenden Cyanidinderivate (Linie 0101 bzw.

0404). Eine Substitution der 5-Position führt bei Pelargonidin offensichtlich zu einem größeren Anstieg des Extinktionskoeffizienten als bei Cyanidin.

Anhand der Handelspräparate Pelargonin und Cyanin konnten die für die 3,5-Glycoside erhaltenen Ergebnisse weitgehend bestätigt werden. Ferner stehen die Ergebnisse der Abbaubersuche in guter Übereinstimmung mit den selbst bestimmten Extinktionskoeffizienten. Das gilt auch für einige der in der Literatur veröffentlichten Werte. Sondheimer und Kertesz (1948) fanden für Pelargonidin einen höheren Extinktionskoeffizienten als für Pelargonidin-3-Glucosid. Ähnliche Unterschiede gibt es zwischen Malvidin und Malvidin-3-Glucosid (Koeppen und Basson 1966). Auch die von Harborne (1967) für Cyanidin-3-Glycoside veröffentlichten Extinktionskoeffizienten liegen unter dem hier für Cyanidin bestimmten Wert.

Der Extinktionskoeffizient von Cyanidin ist nach Schou (1927) ca. 38 % und nach Hayashi (1962) ca. 20 % größer als der von Pelargonidin. Der in der vorliegenden Arbeit ermittelte Unterschied von 25 % dürfte auch nur ein Näherungswert sein, da das Pelargonidinpräparat chromatographisch nicht völlig rein war. Die Größe des Unterschieds ist jedoch nicht besonders kritisch. Wird beispielsweise statt 1,25 (25 %) ein Korrekturfaktor von 1,20 (20 %) verwendet, ergeben sich bezüglich der Parameterschätzwerte kaum Veränderungen.

Die durch die Korrekturfaktoren bedingten Meßwertveränderungen wirken sich hauptsächlich auf die Schätzwerte der additiven und dominanzbedingten Parameter aus. Die Beiträge der Loci b und besonders u erfahren eine deutliche Reduktion. Der Beitrag von v steigt dagegen leicht an und nähert sich dem von u . Die Rangordnung der Loci bleibt jedoch gleich und ihre Beiträge unterscheiden sich noch immer deutlich voneinander.

Der Dominanzgrad der drei Loci verändert sich ebenfalls. Es bleibt zwar in jedem Fall bei unvollständiger Dominanz. Der Wert für Δ_b sinkt jedoch von 0,46 auf 0,21 und der von Δ_u von 0,78 auf 0,44 ab. Dagegen zeichnet sich für Δ_v eine leichte Erhöhung ab (0,42 auf 0,46).

Die Interaktionsparameter werden nur unwesentlich verändert. Ihre Interpretation als Korrekturgrößen, die die Anpassung eines linearen Modells an die nichtlineare Merkmalsausprägung beschreiben, bleibt

auch nach der Meßwertkorrektur gültig. Die Rangfolge der genetischen Komponenten bleibt ebenfalls unverändert ($z > U > B > I3 > I2$). Insgesamt kann festgestellt werden, daß die Korrektur der Meßwertetrotz ihrer deutlichen Beeinflussung der additiven und dominanzbedingten Parameterschätzwerte die von Forkmann und Seyffert (1976) für die Vererbung des Anthocyangehalts erhaltenen Ergebnisse nicht wesentlich verändert.

Literature

- Forkmann, G.; Seyffert, W.: Die Simulation quantitativer Merkmale durch Gene mit biochemisch definierbarer Wirkung. *Theoret. Appl. Genetics* **42**, 279-287 (1972)
- Forkmann, G.; Seyffert, W.: Simulation of quantitative characters by genes with biochemically definable action. VI. Modifications of a simple model. *Genetics*, im Druck (1976)
- Harborne, J.B.: Plant Polyphenols. XIV. Characterisation of Flavonoid Glycosides by Acid and Enzymic Hydrolysis. *Phytochemistry* **4**, 107-120 (1965)
- Harborne, J.B.: Comparative biochemistry of the flavonoids. London and New York: Academic Press 1967
- Harborne, J.B.; Sherratt, H.S.A.: The specificity of fungal anthocyanase. *Biochem. J.* **65**, 24P (1957)
- Hayashi, K.: Spektrographische Untersuchungen über die Farbstoffe vom Benzopyryliumtypus. *Acta Phytochim.* **7**, 143-168 (1933); *Acta Phytochim.* **8**, 65-105 und 179-206 (1934); *Acta Phytochim.* **9**, 1-24 (1936)
- Hayashi, K.: The Anthocyanins. In: "The Chemistry of flavonoid compounds" ed. by Geissman, T.A., Oxford-London-New York-Paris: Pergamon Press 1962
- Huang, H.T.: Decolorization of anthocyanins by fungal enzymes. *J. Agric. Fd. Chem.* **3**, 141-146 (1955)
- Huang, H.T.: Enzymatic identification of the anthocyanin pigment of blackberry. *Nature, London* **177**, 39 (1956a)
- Huang, H.T.: The kinetics of the decolorization of anthocyanins by fungal "Anthocyanase". *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 2390-2393 (1956b)
- Koeppen, B.H.; Basson, D.S.: The Anthocyanin pigments of barlinka grapes. *Phytochemistry* **5**, 183-187 (1966)
- Jorgensen, E.C.; Geissman, T.A.: The chemistry of flower pigmentation in *Anthirrhinum majus* color genotypes. III. Relative anthocyanin and aurone Concentrations. *Arch. Biochem. Biophys.* **55**, 389-402
- Nordström, C.G.: The flavonoid glycosides of *Dahlia variabilis*. IV. 3-Glucosido-5-arabinosidocyanidin from the Variety "Dandy". *Acta Chem. Scand.* **10**, 1491-1496 (1956)
- Schou, S.A.: Über die Lichtabsorption einiger Anthocyanidine. *Helv. Chim. Acta* **10**, 907-915 (1927)
- Seyffert, W.: Über die Wirkung von Blütenfarbengenen bei der Levkoje, *Matthiola incana* R.Br. Z. Pflanzenzüchtg. **44**, 4-29 (1960)
- Seyffert, W.: Über Geninteraktionen bei der Ausbildung von Blütenfarben. Rep. XVI. Intern. Hort. Congr. (Brussels) **IV**, 19-28 (1962)
- Seyffert, W.: Simulation of quantitative characters by genes with biochemical definable action. II. The Material. *Theoret. Appl. Genetics* **41**, 285-291 (1971)
- Sondheimer, E.: On the relation between spectral changes and pH of the anthocyanin pelargonidin 3-monoglucoside. *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 1507-1508 (1953)
- Sondheimer, E.; Kertesz, Z.I.: The anthocyanins of strawberries. *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 1507-1508 (1953)

Eingegangen am 25. Juni 1976
Angenommen durch W. Seyffert

Dr. G. Forkmann
Inst. f. Biologie II der Universität Tübingen
Lehrstuhl f. Genetik
Auf der Morgenstelle 28
D-7400 Tübingen (Germany (BRD))