

auf den Strahlenschaden ist damit bei der Ratte deutlich günstiger als bei der Maus^{1b), 2b)}; das gilt auch für den Schutzeffekt der Splenektomie vor der Bestrahlung³⁾.

Wir werden noch an anderer Stelle ausführlich zu diesen Fragen Stellung nehmen.

Radiologisches Institut der Universität, Freiburg i. Br., und Heiligenberg-Institut, Heiligenberg/Baden, Biophysikalische Abteilung (Direktor: Prof. Dr. H. LANGENDORFF)

H.-J. MELCHING, O. MESSERSCHMIDT und K. SHIBATA

Eingegangen am 12. Juni 1961

¹⁾ MELCHING, H.-J., u. O. MESSERSCHMIDT: a) Naturwissenschaften 47, 307 (1960); — b) Med. Klin. 55, 1831 (1960). — ²⁾ MELCHING, H.-J., O. MESSERSCHMIDT u. CH. STREFFER: Strahlentherapie a) 114, 179 (1961); — b) Im Druck. — ³⁾ FRANCIS, P. DE, u. E. SCANZANI: Radiology 73, 424 (1959). — ⁴⁾ TRIGOU, B., u. J. DOULL: USAF Rad. Lab. Quart. Progr. Rep. 36, 85 (1960). — ⁵⁾ MELCHING, H.-J.: O. MESSERSCHMIDT u. K. SHIBATA: Noch nicht veröffentlichte Ergebnisse.

Hemmende Wirkung von TRIS-Puffer auf die Hill-Reaktion in isolierten Chloroplasten

Über die pH-Abhängigkeit sowie über den Einfluß verschiedener Puffersysteme auf die Hill-Reaktion wurde bereits von verschiedenen Autoren berichtet^{1), 2), 3), 4)}. Der pH-Bereich, in dem die Hill-Reaktion gemessen werden kann, ist relativ groß (pH 5,9 bis 8,7); das Optimum ist vom verwendeten Oxydant abhängig. WARBURG et al.⁷⁾ berichteten, daß bei Verwendung von Benzochinon als Oxydant bei pH 8 eine chemische Reoxydation des gebildeten Hydrochinons erfolgt. Da das pH-Optimum der Photosynthese phosphorylierung jedoch in diesem pH-Bereich liegt, erfolgt die gleichzeitige Messung von Hill-Reaktion und Phosphorylierung in schwach alkalischem Milieu, wobei in erster Linie TRIS-Puffer verwendet wird.

Bereits KROGMANN und VENNESLAND³⁾ zeigten, daß die zyklische Photosynthese phosphorylierung bei höheren TRIS-

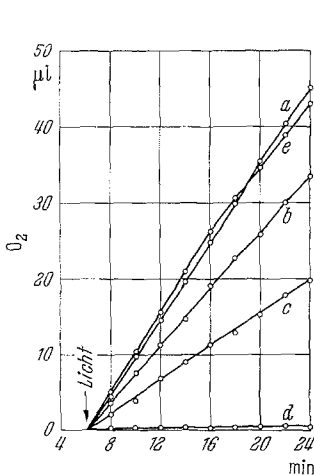


Fig. 1

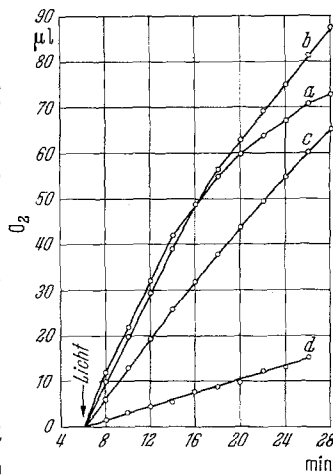


Fig. 2

Fig. 1. Einfluß von gealtertem TRIS-Puffer auf die Hill-Reaktion. a und b TRIS-Puffer (frisch), pH a 7,8, b 8,3. c und d TRIS-Puffer (alt), pH c 7,8, d 8,3. e Phosphatpuffer pH 7,8 und 8,3. Bedingungen: Einmal gewaschene Chloroplasten (C_1) in 0,2% NaCl aufgenommen und auf 1 mg Chlorophyll/ml eingestellt. Manometrische Messung in der Warburg-Apparatur der Fa. Braun/Melsungen (VL). Gas: N_2 , Temperatur: 15° C. Pro Gefäß: 0,5 mg Chlorophyll (Chloroplastenmaterial). Folgende Substanzen in μ Mol: Phosphat- oder TRIS-Puffer (Fa. Boehringer u. Soehne/Mannheim) 100; $MgCl_2$ 10; Ferricyanid (Seitenarm) 40. Im Zentralsatz: 0,2 ml 20% KOH. Gesamtvolumen der Flüssigkeit: 3,00 ml. Nach Begasung wurde gekippt und nach Ausgleich belichtet

Fig. 2. Einfluß verschiedener TRIS-Konzentrationen auf die Hill-Reaktion. Bedingungen wie in Fig. 1. Verwendung von frischem TRIS-Puffer. a 50, b 100, c 200, d 300 μ Mol

Konzentrationen gehemmt wird. Weiterhin wurde aus dem gleichen Laboratorium berichtet⁴⁾, daß TRIS-behandelte Spinachchloroplasten die Reduktion von Trichlorphenolindophenol sowie die Phosphorylierung mit FMN, besonders unter aeroben Bedingungen, hemmen. Dieser Effekt wurde von STERN⁵⁾ dahingehend gedeutet, daß die Cofaktoren des Elektronentransportes in TRIS aufoxydiert werden.

Naturwissenschaften 1961

In eigenen Untersuchungen konnte beobachtet werden, daß „gealterter“ TRIS-Puffer die Hill-Reaktion mit Ferricyanid in isolierten Chloroplasten von Spinat hemmt. Dieser Effekt tritt am deutlichsten hervor, wenn der Puffer 24 Std oder länger bei entsprechendem pH aufbewahrt oder aus einer Vorratslösung (0,4 mol) verdünnt wird. Als Vergleich dienten Borat- und Phosphatpuffer. Da die Werte für beide Vergleichspuffer nahezu übereinstimmen, wird im folgenden auf Phosphatpuffer bezogen. Fig. 1 zeigt einen derartigen Versuch, in dem Phosphatpuffer mit frisch angesetztem und 24 Std altem TRIS-Puffer bei pH 7,8 und pH 8,3 verglichen wurde. Das Ergebnis zeigt, daß frisch angesetzter TRIS-Puffer bei pH 7,8 keinen Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit hat. Dagegen wird ein Absinken bei Verwendung von gealtertem TRIS-Puffer beobachtet. Die Hemmung ist bei pH 8,3 größer als bei pH 7,8. Für Phosphatpuffer spielt diese Alterung keine Rolle. Im weiteren konnte gezeigt werden, daß mit beiden Puffersystemen ein Optimum bei pH 7,8 gemessen wird. Während jedoch dieses Maximum für Phosphatpuffer bis pH 8,3 bestehen bleibt, findet man mit frischem TRIS-Puffer in diesem Bereich ein Absinken.

Neben der spezifischen Wirkung spielt noch die verwendete Pufferkonzentration eine Rolle. Mit zunehmender Konzentration an TRIS sinkt die O_2 -Entwicklung stark ab, wie aus Fig. 2 hervorgeht. Das Abbiegen der Kurve bei 50 μ Mol TRIS/Gefäß beruht auf einem pH-Abfall, da die geringe TRIS-Menge nicht mehr ausreicht, die bei der Reaktion entstehenden H-Ionen zu neutralisieren. Ähnliche Werte werden für 100 μ Mol gefunden, während eine weitere Steigerung auf 200 und 300 μ Mol zu einer sukzessiven Hemmung führt.

Als Ursache für die Hemmwirkung muß in erster Linie eine chemische Zersetzung von Trihydroxyaminomethan in Betracht gezogen werden. Wahrscheinlich wird Formaldehyd freigesetzt, das sekundär auf das Elektronentransportsystem des Chloroplasten wirkt. Die Zersetzung wäre nach den dargestellten Befunden um so größer, je alkalischer das Milieu ist.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sei für finanzielle Zuwendungen, Fräulein M. MAIKOWSKI für technische Unterstützung gedankt.

Botanisches Institut der Tierärztlichen Hochschule, Hannover

GÜNTER JACOBI

Eingegangen am 24. Mai 1961

¹⁾ CLENDENNING, K.A., u. P.R. GORHAM: Canad. J. Res., Sect. C 28, 78 (1950). — ²⁾ HOLT, A.S., u. C.S. FRENCH: Arch. Biochem. 9, 25 (1946). — ³⁾ KROGMANN, D.W., u. B. VENNESLAND: J. biol. Chem. 234, 2205 (1959). — ⁴⁾ NAKAMOTO, T., D.W. KROGMANN u. B. VENNESLAND: J. biol. Chem. 234, 2783 (1959). — ⁵⁾ STERN, B.: Feder. Proc. 19, 328 (1960). — ⁶⁾ WARBURG, O., u. W. LÜTTGENS: Naturwissenschaften 32, 161, 301 (1944). — ⁷⁾ WARBURG, O., G. KRIPPAHL, H.S. GEWITZ u. W. VÖLKER: Z. Naturforsch. 14b, 712 (1959). — ⁸⁾ WESSELS, J.S.C.: Diss. Leyden (1954).

Über die Hemmung einzelner Blattanlagen an Caryophyllaceen-Sämlingen durch Phenylborsäure

In früheren Veröffentlichungen^{1), 2)} konnten wir zeigen, daß Phenylborsäure (PhB) in wäßriger Lösung rechtzeitig angewandt gerade in Anlegung begriffene Blattanlagen total zu hemmen vermag, ohne Schädigung des Vegetationspunktes und der bereits angelegten Primordien. In beiden bisher näher untersuchten Fällen [PhB-induzierte Monocotylie bei *Eranthis hiemalis*-Keimen¹⁾ und Reduktion der Petalenzahl bei Cucurbitaceen-Blüten^{2), 3)}] war festzustellen, daß die einzelnen Glieder eines Blattwirtels das zeitlich eng begrenzte PhB-sensible Anlegungsstadium *nacheinander* durchlaufen. Bezüglich des Kotyledonarwirtels ist dies besonders bemerkenswert.

Da wir vermuteten, daß das Gleiche auch für Laubblattwirtel gilt, haben wir Versuche mit angekeimten Samen dekuliert beblätterter Dikotylen-Arten angestellt. Eine Beeinflussung der (im Gegensatz zu *Eranthis*) am Embryo bereits ausdifferenzierten Cotyledonen war hier natürlich nicht mehr möglich, aber es war, in Analogie zu den Verhältnissen bei *Eranthis*, zu erwarten, daß sich bei einem richtig gewählten Zeitpunkt der PhB-Applikation nur das eine Glied des gerade in Anlegung befindlichen Laubblattwirtels in der PhB-sensiblen Phase befinden würde.

Während die untersuchten Vertreter der Labiatae, Plantaginaceae, Rubiaceae und Compositae unter den angewandten Bedingungen keine Reaktion zeigten, verhielten sich zahlreiche Caryophyllaceen- und einige *Euphorbia*-Arten wie erwartet.

Im Hinblick auf leichte Beschaffbarkeit, gute Keimfähigkeit und ausreichende Größe des Embryos wurden *Agrostemma githago* und *Vaccaria pyramidata* für die weiteren Versuche ausgewählt. Je 50 gut ausgereifte Samen wurden in Petrischalen auf Filterpapier in 10 ml Aqua dest. angekeimt und

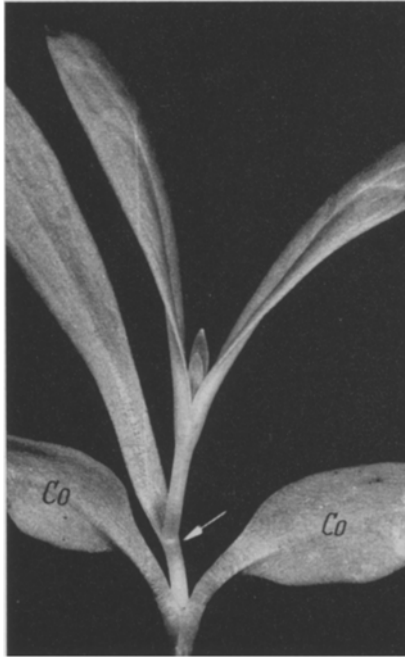


Fig. 1. *Vaccaria pyramidata*. Keimpflanze nach PhB-Behandlung der eben auskeimenden Samen (Co = Cotyledonen; → = Ort des total entwicklungsgehemmten Blattes)

dann in Schalen mit 10 ml einer $2 \cdot 10^{-3}$ m PhB-Lösung übertragen. Die Ankeim- sowie die Behandlungszeiten variierten wir von 1 bis 48 Std. Danach kamen die Keime in Blumentöpfe mit Aussaaterde, wo sie sich nach etwa 10 Tagen zu Pflänzchen mit 2 bis 3 ausgebildeten Blattwirteln entwickel-

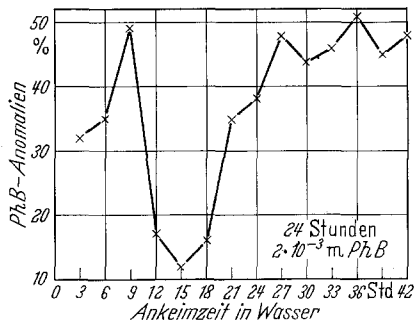


Fig. 2. *Agrostemma githago*. Anteil der PhB-Anomalien im 2. Blattwirtel (Ordinate) nach variierenden Ankeimzeiten und 24 Std Behandlungszeit (je 100 Samen)

ten. Diese wurden auf Blattauffälle und Stellungsanomalien hin untersucht.

Da bei *A. githago* der erste auf die Cotyledonen folgende Wirtel bereits am Embryo als Plumula angelegt ist, treten die typischen PhB-Anomalien stets erst am zweiten Laubblattwirtel auf, und zwar nach optimalen Ankeimzeiten (Fig. 2) bei etwa der Hälfte der behandelten Sämlinge. Man findet alle Übergänge von schwacher über starke Reduktion des einen Blattes bis zu dessen völligem Fehlen.

Die Sämlinge von *V. pyramidata* verhielten sich ganz entsprechend, nur war hier, im Zusammenhang mit dem Fehlen einer embryonalen Plumula, nach PhB-Beeinflussung der eben auskeimenden Samen bereits der erste epicotyle Wirtel eingliedrig ausgebildet (Fig. 1). Im Gegensatz zu *Agrostemma* treten bei *Vaccaria* neben den typischen Blattreduktionen und Ausfällen auch noch andere Mißbildungen auf, deren Zustandekommen wir zur Zeit noch klären. Auch ist der Prozentsatz an PhB-Anomalien insgesamt wesentlich höher als bei *Agrostemma*. Ein der PhB-induzierten Acotylie bei *Eranthis* ver-

gleichbares gänzlich Fehlen beider Blätter des ersten Wirtels wurde, wenn auch selten, ebenfalls registriert (blattlose Knoten).

Von Interesse ist, wie die Blattstellung der folgenden Wirtel auf den Wegfall eines Blattes reagiert. Während bei *A. githago* Gliedzahl und Stellung der folgenden Wirtel im allgemeinen nicht beeinflußt werden, fanden wir bei *V. pyramidata* alle Möglichkeiten verwirklicht von völlig fehlender Beeinträchtigung (Fig. 1) bis zu vorübergehend disticher Folge einer ganzen Reihe von Blattorganen.

Bezüglich der für den Effekt optimalen Ankeim- und Behandlungszeiten ist zu berücksichtigen, daß nach den Untersuchungen von BORRIS u. Mitarb.⁴⁾ *Agrostemma*-Keime eine Nachreife durchmachen. Hieraus wird erklärlich, daß wir je nach der Jahreszeit der Versuchsanstellung verschiedene Ergebnisse hatten.

Die Daten für den in Fig. 2 wiedergegebenen *Agrostemma*-Versuch sind: Samen-Ernte August 1960; Versuchsanstellung April 1961; Ankeimzeiten von 3 bis 42 Std; Behandlungszeit in 10 ml einer $2 \cdot 10^{-3}$ m PhB-Lösung 24 Std; Temperatur 20°C.

Bei diesem wie bei allen anderen Versuchen mit variierenden Ankeimzeiten waren zwei Gipfel der maximalen PhB-Empfindlichkeit zu erkennen. Der erste lag bei voll nachgereiften Samen ziemlich genau bei 9 Std und der zweite zwischen 27 und 42 Std Ankeimzeit in Wasser. Der Gedanke liegt nahe, daß sich nach der kürzeren Ankeimzeit das erste und nach der längeren das zweite Blatt des betroffenen Wirtels in der PhB-sensiblen Anlegungsphase befunden hat. Ob diese Vermutung richtig ist, wird zur Zeit noch geprüft.

Das zeitliche Nacheinander in der Anlegung der Blätter eines Wirtels ist speziell für die Caryophyllaceen bereits von älteren Morphologen behauptet, aber von GOEBEL⁵⁾ bestritten worden [vgl. TROLL⁶⁾]. Wir sehen in dem Ergebnis unserer Untersuchungen eine experimentelle Bestätigung der Konzeption der „Caryophyllaceen-Dekussation“ als einer nur scheinbaren Wirtelstellung [„binding whorls“ nach SCHOUTE⁷⁾].

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die wirksame Unterstützung unserer Untersuchungen.

Botanisches Institut der Universität, Mainz

BARBARA HACCIUS und DIETRICH MASSFELLER

Eingegangen am 19. Mai 1961

¹⁾ HACCIUS, B.: Naturwissenschaften 46, 153 (1959); Planta 54, 482 (1960). — ²⁾ HACCIUS, B., u. D. MASSFELLER: Naturwissenschaften 46, 585 (1959); Planta 56, 174 (1961). — ³⁾ LEH, H.-O.: Naturwissenschaften 48, 138 (1961). — ⁴⁾ BORRIS, H., u. M. ARNDT: Flora [Jena] 143, 493 (1956). — ⁵⁾ GOEBEL, K.: Organographie der Pflanzen, I. Jena 1913. — ⁶⁾ TROLL, W.: Vergleichende Morphologie der höheren Pflanzen. I/1. Berlin 1937. — ⁷⁾ SCHOUTE, J.C.: Ber. dtsh. bot. Ges. 50, 229 (1932).

Über den Nukleinsäuregehalt gibberellinsäurebehandelter Tomatenpflanzen

Die Frage, inwieweit Gibberellinsäure (GA) die Zellstreckung oder die Zellteilung beeinflusst, ist noch nicht völlig geklärt. Nach einigen Autoren^{1), 2)} scheint der Haupteffekt in der Zellstreckung zu bestehen. Nach anderen Berichten^{3), 4)} dürfte aber vor allem die Zellteilung durch Gibberellinsäure beeinflusst werden. Mit einer Steigerung der Zellteilung sollte aber auch eine Erhöhung des Nukleinsäurespiegels GA-behandelter Pflanzen festzustellen sein. Demgegenüber wurde jedoch gefunden⁵⁾, daß *Streptocarpus Wendlandii* nach GA-Behandlung eine Senkung des Gesamt-N-Spiegels zeigt, der Protein- sowie RNS- und DNS-Gehalt aber kaum beeinflusst wird. Es schien uns daher interessant, eine RNS- und DNS-Bestimmung an GA-behandelten Tomatenpflanzen durchzuführen.

Die Versuche wurden an 27 Tagen alten Tomatenpflanzen (*Lycopersicon esculentum*, Sorte: „Bonner Beste“) durchgeführt, wobei die Hälfte der verwendeten Pflanzen 4 Tage vor der Ernte mit einer 10⁻¹igen Lösung von Gibberellinsäure besprüht wurden. In vier Aufarbeitungsserien wurden insgesamt 110 Tomatenpflanzen auf ihren Nukleinsäuregehalt untersucht. Das Pflanzenfrischgewicht der gibberellinsäurebehandelten Pflanzen war durchschnittlich um 45 bis 48% höher als das der unbehandelten Pflanzen. Die in 60%igem Alkohol und 1,5 m heißer NaCl-Lösung unlöslichen hochpolymeren Stoffe (unter anderem Proteine und Zellulose) machten bei GA-behandelten 2,7% und bei unbehandelten Pflanzen 3,4% des Pflanzenfrischgewichtes aus. Die Nukleinsäuren wurden durch Salzextraktion und anschließende Alkohol-