

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Königsberg, Pr.)

PFLANZENPHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE ALKALOIDE.¹

II. ZUR ALKALOIDFÜHRUNG DER PFROPFPARTNER
BEI HETEROPLASTISCHEN SOLANACEENPFROPFUNGEN.

Von

KURT HIEKE,

z. Z. bei der Wehrmacht.

(Eingegangen am 4. August 1942.)

A. Einleitung.

Die Beeinflussung nichtblühreifer Solanaceen durch blühreife Pfropfpartner hat zur Kenntnis der stofflichen Verankerung des Blühvorganges und photoperiodischer Erscheinungen wertvolle Beiträge geliefert. So vermag der Kunstgriff der Pfropfung Aufschlüsse zu geben über Wirkung und Wirkungsweise innerer physiologischer Faktoren, die sich in der normalen, ungepfropften Pflanze dem Zugriff des Untersuchers entziehen.

In ähnlicher Weise ist zu erwarten, daß die Biogenese der charakteristischsten Stoffwechselprodukte der Solanaceen, ihrer Alkaloide, durch Pfropfversuche einige Aufhellung erfahren könnte. Es erschien lohnend, auf dem Wege über die Pfropfung erneut das Alkaloidproblem anzugreifen, obwohl seit mehr als 30 Jahren bereits eine ganze Reihe von Untersuchungen in dieser Richtung durchgeführt worden sind, die aber des einheitlichen Planes und des eigentlichen Erfolges entbehrten.

Am Beginn dieses Zeitraumes der pflanzenphysiologischen Erforschung des Wesens und Wirkens der Alkaloide stehen die Arbeiten von ARTHUR MEYER und ERNST SCHMIDT, denen das Zusammenwirken eines Pflanzenphysiologen und eines Alkaloidchemikers zugute kam. Ich fasse zunächst die Ergebnisse dieser wie der folgenden Arbeiten anderer Autoren zusammen, da sie für die weiteren Erörterungen von besonderer Bedeutung sind und eine kurze Darstellung des seither auf dem in Rede stehenden Gebiet Geleisteten bislang fehlt.

MEYER und SCHMIDT (1910) führen drei Gruppen von Pfropfungen durch:
1. *Solanum tuberosum* → *Datura Stramonium*².

¹ Vgl. Teil I: Das Nikotin im Stoffwechsel der Tabakpflanze, von KURT MOTHES. *Planta* (Berl.) 5, 563 (1928).

² Zur einfachen Bezeichnung von Anordnung und Beschaffenheit der Pfropfpartner werden folgende Symbole eingeführt: Ein liegender Pfeil → bezeichnet die Pfropfstelle und zeigt in Richtung von der Unterlage zum Reis. So bedeutet *Nicotiana* → *Datura* in bisher üblicher Schreibweise: $\frac{Datura}{Nicotiana}$. Wird ein Pfropfpartner nach erfolgter Pfropfung blattlos gehalten, so wird sein Name in Klammern gesetzt.

2. *Nicotiana affinis* (eine verhältnismäßig nicotinarmer Tabakart) → *Nicotiana Tabacum*.

3. *Solanum tuberosum* → *Nicotiana Tabacum*.

Zur Pfropfung 1. Es wird nur eine Pfropfung ausgeführt und von dieser lediglich die Unterlage, nicht das Reis untersucht. Ein stark eingeeengter Auszug aus den Kartoffelknollen gibt positive Pupillenreaktion bei der Katze, allerdings erst nach Zusatz einer Spur Schwefelsäure, was gegen Atropin und Hyoscyamin spricht. Offenbar liegt ein noch unbekanntes mydriatisch wirkendes *Datura*-Alkaloid vor. Die Verfasser betonen selbst den äußerst geringen Alkaloidgehalt der Knollen. Dagegen ist in einem kurzen Achsenstück der Unterlage dicht unterhalb der Pfropfstelle deutlich ein Alkaloid der Atropinreihe nachweisbar.

Zur Pfropfung 2. Das Reis wird vor der Ernte in verschiedener Weise vorbehandelt, es steht jeweils (außer bei Nr. 7) nur *eine* Pfropfung zur Verfügung.

In einem Versuch (Nr. 4 der Verff.) wird der Alkaloidgehalt der Blätter am Reis niedriger als bei der ungepfropften Vergleichspflanze gefunden, und umgekehrt haben Achse und Wurzel der Unterlage einen gegenüber der Kontrolle höheren Alkaloidgehalt. Der Befund wird als bevorzugte Ableitung oder als gegenseitige Beeinflussung der Pfropfpartner im Alkaloidgehalt gedeutet.

Für Ableitung soll nach den Verff. auch Versuch Nr. 5 sprechen: Bei der gleichen Pfropfung werden die Mittelnerven am Reis 8 Tage später als die Blattspreiten geerntet. Achse und Wurzel der Unterlage zeigen dann die 4fache Nicotinmenge als im vorhergehenden Versuch. Nach anderen Untersuchungen verlieren bei analog behandelten ungepfropften Pflanzen (allerdings von *Datura Stramonium*) die stehen gelassenen Mittelnerven den größten Teil ihres Alkaloides, anscheinend durch Ableitung. Im vorliegenden Falle seien die anscheinend abgeleiteten Alkaloidmengen in der Unterlage wiederzufinden.

Versuch Nr. 6 ergibt an zwei Pflanzen nach 9tägiger Verdunkelung des Reises Abnahme des Alkaloidgehaltes im genetisch alkaloidreichen Reis und erhebliche Zunahme in der genetisch alkaloidarmen Unterlage. Die Verdunkelung zeigt aber dabei keinen Einfluß gegenüber der nicht verdunkelten Pfropfung bei Versuch 4.

Versuch Nr. 7 der Verff. umfaßt 7 Pfropfungen ohne Verdunkelungseingriff, von denen die gleichen Organe je zu einer Durchschnitts-(Sammel-)Analyse verarbeitet werden. Die Blätter des Reises zeigen einen bemerkenswert niedrigen Alkaloidgehalt (0,004% gegen 0,124% der ungepfropften Vergleichspflanze); der Gehalt der Achsen von Reis und Unterlage stimmt überein (0,07%).

Zur Pfropfung 3. Bei diesen Versuchen kann in keinem Falle Alkaloid einwandfrei qualitativ nachgewiesen werden. Es werden wiederum nur wenige Pfropfungen durchgeführt.

Bei der einen Pfropfung wird in den Tabakblättern des Reises ein sehr niedriger Alkaloidgehalt bestimmt, entsprechend 0,016% Nicotin (ungepfropfte Pflanze: 0,124%). Die Achse der Unterlage enthält 0,09%. Deren Knollen haben gar nur 0,014%, während die Schalen der gleichen Organe von der ungepfropften Pflanze einen Titrationswert ergeben, der einem scheinbaren Nicotingehalt von ebenfalls 0,014% entspräche. Eine zweite gleichartige Pflanze gibt ganz entsprechende Werte.

Aus dem Wert 0,09% in der Achse der Unterlage wird der Schluß gezogen, „daß ein Tabakalkaloid durch die Pfropfstelle hindurch zu wandern vermag, wenn die Pfropfung sehr gut gelungen, das Reis fast zur normalen Größe der normalen Pflanze herangewachsen ist“ (S. 382).

Eine andere Gruppe umfaßt 8 Pflanzen der gleichen Pfropfung, deren Reiser sich aber nur kümmerlich entwickeln. Die Achse des Reises enthält 0,044 bis 0,047% Alkaloid, berechnet als Nicotin, die „Pfropfstelle“ des Reises 0,141%. Daraus wird auf eine *Anreicherung* des Alkaloides nach der Basis des Reises zu

geschlossen, und in gleicher Weise wird innerhalb der *Unterlage* eine Alkaloid-*abnahme* basipetal von der Pfropfstelle aus beobachtet:

Achse der Kartoffelpflanze . . .	0,09%.
deren Nebenwurzeln	0,06%.
Kartoffelknolle	0,014%.

Es sei also in das kurze Achsenstück der Unterlage „viel“ Nicotin gelangt, in die Nebenwurzeln weniger, und in die Knollen kein Nicotin.

Die Ergebnisse der Versuche von MEYER und SCHMIDT werden zusammen mit denen der übrigen Untersucher besprochen werden. Zur *Methodik* von MEYER und SCHMIDT ist folgendes zu sagen: Die *Isolierung des Nicotins* erfolgt, je den Verhältnissen des Materials angepaßt, auf vier verschiedene Arten. Die getrockneten und gepulverten Pflanzenteile werden mit wenig Alkali befeuchtet, mit Äther oder Alkohol ausgezogen, mit Äther, Chloroform usw. gereinigt und entweder sofort oder nach Destillation aus alkalischem Medium acidimetrisch titriert.

Es besteht somit die Möglichkeit, daß trotz aller angewandten und betonten Vorsicht auch andere Basen in geringer Menge erfaßt und mit titriert werden. Daraus und aus einem Gehalt an anderen Alkaloiden, vor allem Solanin und Solanidin, die nach MEYER-SCHMIDTS eigenen Beobachtungen (S. 375) bei alkalischer Wasserdampfdestillation in geringer Menge übergehen, erklären sich die scheinbaren Alkaloid-(Nicotin-)werte in den Organen ungepfropfter Kartoffelpflanzen. Die titrierten Werte werden allgemein als Nicotin angesehen und mit Vorbehalt als Nicotin berechnet, obwohl eine Identifizierung des Alkaloids niemals einwandfrei gelingt.

So muß es überhaupt fraglich erscheinen, ob die durch Titration gefundenen minimalen absoluten „Nicotin“-werte wirklich Nicotin darstellen. Aus den Angaben der Verfasser können die folgenden *absoluten* Nicotinmengen entnommen bzw. berechnet werden:

In Vers. 10:	0,8 mg „Nicotin“ in 17 g Frischgewicht Kartoffelachse;
	2,2 mg „Nicotin“ in 42 g Frischgewicht Kartoffel-Knollenschalen;
	3,6 mg „Nicotin“ in 750 g Frischgewicht Kartoffel-Knolleninnerem.
In Vers. 8:	2,5 mg „Nicotin“ in 100 g frischen (ungepfropften!) Kartoffel-schalen.
In Vers. 8a:	1,8 und 2,6 mg „Nicotin“ in je 10 g Trockengewicht Kartoffelachse (ungepfropft!).
In Vers. 13:	4,7 und 4,5 mg „Nicotin“ in je 10 g Trockengewicht Tabakachse;
	2,02 und 0,32 mg „Nicotin“ in je 6,4 g Trockengewicht Kartoffelachse unter Tabakreis.

Es erscheint doch gewagt, derart *niedrige* und so unsicher gewonnene Werte zum Ausgang für bedeutsame physiologische Schlüsse zu machen, wie es die Verfasser tun. Auch die meist nur geringe Zahl der Versuche läßt manches Ergebnis unsicher erscheinen.

Ähnliche wie die MEYER-SCHMIDTSchen Untersuchungen werden etwa zur gleichen Zeit im Institut PASTEUR von JAVILLIER (1910) ausgeführt:

1. (*Solanum tuberosum*) → *Atropa Belladonna*:

850 g Kartoffelknollen werden mittels der VITALischen Reaktion und der Pupillenprobe auf Alkaloide der Atropinreihe geprüft und alkaloidfrei gefunden.

2. *Solanum tuberosum* → *Nicotiana*:

Zur Nicotinbestimmung: Verf. führt zusammen mit BERTRAND die Fällung des Nicotins mittels Kieselwolframsäure ein, die fortan allgemein das zuverlässigste, nunmehr gravimetrische Bestimmungsverfahren wird. Die Isolierung geschieht durch Wasserdampfdestillation.

470 g Kartoffelknollen ergeben nach längerem Stehen des Destillats nur einen schwachen amorphen Niederschlag, der als negativ für Nicotin angesehen wird.

3. *Solanum lycopersicum* → *Atropa Belladonna*:

Einmal 650 g, ein andermal 430 g Tomatenfrüchte geben eine zweifelhafte VITALISCHE Reaktion. Die Pupillenreaktion ist in einem Falle sehr schwach, im zweiten Fall etwas ausgeprägter.

4. *Atropa Belladonna* → *Solanum lycopersicum*:

500 g Tomatenfrüchte der einen Pfropfung geben deutlich positive VITALISCHE Reaktion und ausgeprägte Mydriasis. Von einer zweiten Pflanze geben 125 g Tomatenfrüchte, die zuvor im Schwefelsäure-Vakuum-Exsikkator getrocknet werden, ebenso deutlich positive Reaktionen. Dagegen fallen bei 250 g Stengeln und Blättern des Tomatenreises beide Reaktionen negativ aus.

Die Ergebnisse von 3. und 4. werden als Beweis für den Durchgang der Alkaloide des *Atropa*-Pfropfparters durch die Pfropfstelle angesehen. Dabei wird allerdings bemerkt, daß diese Wanderung mengenmäßig in sehr engen Grenzen bleibt. Durchgeführte quantitative Versuche werden nur erwähnt, aber nicht über sie berichtet.

Schließlich bringen DANIEL und RIPERT (1923) eine kurze Mitteilung, wonach bei doppelten Pfropfungen in der Weise: *Solanum lycopersicum* → *Atropa Belladonna* → *Solan. lycop.* das Zwischenreis, die Tollkirsche, alkaloidfrei bleibt. Sie meinen, daß die Assimilate des Oberreises den Stoffwechsel von Zwischenreis und Unterlage so beeinflussen, daß Eiweiße oder andere, der *Belladonna* spezifische und für die Alkaloidbildung notwendige Stoffe nicht entstehen können und damit auch die Bildung der Alkaloide unterbleibt.

Diese letztere Arbeit öffnet bereits neue Wege zur Bearbeitung des Problems. Sie erschöpft sich nicht in der Erörterung der Translokation, sondern weist auf Möglichkeiten hin, das Fehlen oder Auftreten des Alkaloids in Pfropfpartnern als eine Folge chemischer Umsetzungen zu sehen. Die von den übrigen Bearbeitern ausschließlich erörterte Alkaloidwanderung spielt gewiß in den ganzen Fragenkreis herein und wird zur vollen Klärung der Verhältnisse erörtert, wenn nicht gelöst werden müssen. Aber es bleibt vorerst fraglich, ob sie die letzte Entscheidung über die Alkaloidführung eines Pfropfparters geben wird.

Die im vorangehenden zusammengefaßten Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen zeigen also in knappster Form das folgende Bild der Alkaloidführung von Solanaceenpfropfpartnern:

1. In genetisch alkaloidfreier¹ Unterlage unter genetisch alkaloidführendem Reis ist entweder kein Alkaloid oder nur in verschwindend geringer Menge nachzuweisen. Sofern dort überhaupt Alkaloid einwandfrei feststellbar ist, liegt es meist nahe der Pfropfstelle, was von den Bearbeitern als beschränkte Ableitung angesehen wird.

Bei diesen Pfropfungen wird die Alkaloidführung *im Reis* nur in zwei Fällen untersucht (MEYER-SCHMIDT: Kartoffel → Tabak) und dabei allerdings Alkaloid gleichfalls nur in geringster Menge nachgewiesen. Bemerkenswerterweise wird ein genetisch alkaloidführendes Zwischenreis

¹ Es wird dabei von der Solaninführung in Kartoffel und Tomate abgesehen. Solanin und die ihm verwandten Sterinalkaloide stehen in ihrer chemischen Konstitution unter den Alkaloiden so isoliert, daß eine genetische Beziehung zu den übrigen Solanaceen-Alkaloiden sehr unwahrscheinlich ist.

(Tollkirsche) zwischen Tomate (als Unterlage und Oberreis) eindeutig alkaloidfrei gefunden (DANIEL und RIPLEY).

2. Bei Pfropfung von genetisch alkaloidfreiem Reis auf genetisch alkaloidführende Unterlage wird in zwei Fällen: Stechapfel → Tomate in den Tomatenfrüchten mydriatisch wirksames Alkaloid nachgewiesen, das aber Stengeln und Blättern des Reises fehlt.

3. Bei Pfropfungen nicotinreicheren Reises auf nicotinärmere Unterlage zeigen die Pfropfpartner in der Höhe ihres Nicotingehaltes eine gegenseitige Annäherung.

Bei allen Untersuchungen sind die Ergebnisse nur in wenigen Parallelversuchen erhalten worden. Soweit überhaupt quantitative Alkaloidbestimmungen vorliegen, können in vielen Fällen nur überaus geringe Alkaloidmengen festgestellt werden.

Das ausschlaggebende Bild vom Alkaloidhaushalt unter dem Einflusse von Pfropfpartnern gewinnen wir aber weniger durch Verfolgen von Nebenwegen des Stoffwechsels, die zu solch geringen Stoffumsätzen führen, sondern die wertvollsten Aufschlüsse sind von den Ergebnissen jener Versuchsanordnungen zu erwarten, die *beträchtliche* Änderungen im Alkaloidumsatz gegenüber der ungepfropften Pflanze bedingen.

Sollten diese Gesichtspunkte bei neuen Untersuchungen leitend sein, so war auch der Alkaloidgehalt der genetisch alkaloidführenden Pfropfpartner zu verfolgen und deren Beeinflussung durch den genetisch alkaloidfreien Symbionten zu prüfen. Es ergab sich also die Aufgabe, die Alkaloidführung *aller* Partner einer Pfropfung, in ihren verschiedenen Organen, *quantitativ* kennenzulernen und dabei durch geschickte Anordnung der Symbionten und gegebenenfalls durch weitere Eingriffe in das Leben des neuen Organismus die gewünschten Aufschlüsse über den Alkaloidhaushalt *des Ganzen wie seiner Teile* zu erhalten.

Derartige Versuche, wenn auch mit mehr praktischen Absichten und ohne diese ausgesprochen physiologische Zielsetzung, wurden in letzter Zeit in Japan und in Rußland begonnen. Die Ergebnisse sind uns aber nur in Referaten bzw. einer englischen Zusammenfassung, zum Teil auch erst nach dem Beginn unserer Untersuchungen, zugänglich geworden.

In Versuchen von HASEGAWA (1937) „verschwindet“ (disappears) im Tabakreis auf artfremder Unterlage innerhalb 44 Tagen das Nicotin. Über den Gehalt der Unterlage nach dieser Zeit ist nichts gesagt. Umgekehrt ist im Tomatenreis auf Tabakunterlage Nicotin nachweisbar, und zwar in fortlaufend steigender Menge: Nach 100 Tagen 0,19%, nach 210 Tagen 1,9%.

MOSKOV und SMIRNOVA (1939) pfpfen süße auf bittere Lupine und umgekehrt, bei jeweils beblätterter Unterlage. Dabei gleicht sich das Reis in seinem Alkaloidgehalt in beiden Fällen an den der Unterlage an. Das gleiche wird beobachtet bei entsprechender heteroplastischer Verbindung von Keimlingen (Transplantation der Sproßspitze zwischen die Keimblätter).

Neuerdings führt KRAYEVOY (1941) folgende Pfropfung durch: *Datura Stramonium* → (*Solanum lycopersicum*), Reis zum größten Teil dauernd verdunkelt

gehalten. In Früchten am Tomatenreis werden „merkliche Mengen Atropin“ festgestellt (Pupillenwirkung). Vom Verfasser wird wegen der im Reis unterbundenen Photosynthese auf Zuleitung aus der Unterlage geschlossen.

Aufgabe der gegenwärtigen Untersuchungen ist, die Alkaloidführung in Solanaceenpfropfungen nach rein physiologischen Gesichtspunkten zu prüfen, um dabei möglichst Aufschlüsse über die Biogenese der Alkaloide überhaupt zu gewinnen. Es soll zunächst über die Ergebnisse der beiden ersten Versuchsjahre (1940 und 1941) berichtet werden, ohne vorerst auf Möglichkeiten der Deutung näher einzugehen. Für diese sollen die fortlaufenden Untersuchungen erst noch weiteres Material liefern.

Den Hinweis auf das Arbeitsgebiet gab mein Institutsdirektor, Herr Prof. Dr. K. MÖTHES. Die Arbeit erfuhr weiter durch Herrn Prof. Dr. A. VOLK dankenswerte Unterstützung, die mir die Durchführung unter den Kriegsverhältnissen ermöglichte. Dem Reichsforschungsrat verdanke ich Sachbeihilfen.

B. Arbeitsplan.

Der Arbeitsplan für 1941 wurde in der folgenden Weise aufgestellt, nachdem Übersichtsversuche im Jahre 1940 mit Tabak und Tomate als Pfropfpartnern gewisse Hinweise gegeben hatten. Die diesjährige Hauptreihe wurde durchgeführt mit Tomate (Sorte Lukullus) als genetisch alkaloidfreier und mit den beiden Tabakarten *Nicotiana Tabacum* und *Nicotiana rustica* als genetisch alkaloidführenden Pflanzen.

Es wurden folgende Pfropfungen hergestellt:

Versuch Nr.	Anzahl	Bezeichnung	
1, 2	10	H 1	(<i>Nicotiana rustica</i>) → <i>Solanum lycopersicum</i>
5, 6	10	H 2	(<i>Solanum lycopersicum</i>) → <i>Nicotiana rustica</i>
4, 7—9	4	H 2a	<i>Solanum lycopersicum</i> → <i>Nicotiana Tabacum</i>
	5	H 3	(<i>Nicotiana rustica</i>) → <i>Nicotiana rustica</i>
13, 14	5	H 4	(<i>Nicot. rust.</i>) → <i>Solan. lycop.</i> → <i>Nicot. rust.</i>
11, 12	10	H 4a	<i>Nicot. rust.</i> → <i>Solan. lycop.</i> → <i>Nicot. rust.</i>
15, 16	9	H 5	(<i>Solan. lycop.</i>) → <i>Nicot. rust.</i> → <i>Solan. lycop.</i>
17	5	H 9a	<i>Atropa Belladonna</i> → <i>Solanum lycopersicum</i>
18	2	H 10a	<i>Solanum lycopersicum</i> → <i>Atropa Belladonna</i>
19—26	5	H 7	(<i>Nicotiana rustica</i>) → <i>Datura Stramonium</i>
27	1	H 8	(<i>Atropa Belladonna</i>) → <i>Nicotiana Tabacum</i>

Weiter waren unter anderem mit „nicotinfreien“ und nicotinarmen Tabaksorten Pfropfungen in verschiedenen Zusammenstellungen vorbereitet. Von diesen konnten aus äußeren Gründen nur wenige Pflanzen weiterbearbeitet werden (= H 14). — Einige Pfropfungen mit geringer Pflanzenzahl sind zunächst nur als Übersichtsversuche gedacht und sollen später in größerer Zahl hergestellt und untersucht werden.

Die *Aufarbeitung* wurde bei den einzelnen Analysen absichtlich häufig variiert, um zu zeigen, daß trotzdem einheitliche Ergebnisse zu erhalten sind. Bei besonders entscheidenden Versuchen wurden deshalb zwei oder mehr Analysen in etwas größerer Ausführlichkeit wiedergegeben.

Die Nicotinbestimmung erfolgte durch Wasserdampfdestillation aus alkalischem Medium und Fällen mit Kieselwolframsäure. Die geschnittenen Pflanzenteile

werden mit MgO (1 g auf 10 g Pflanzenfrischgewicht, bei Frischwurzeln die doppelte Menge; 1 g MgO auf 1 g Pflanzentrockengewicht), ferner mit 50 g Kochsalz und 150 g Wasser bei frischen bzw. 200 g Wasser bei getrockneten Pflanzen in Langhalskolben von 500 ccm Inhalt angeschüttelt und bei Zusatzheizung des Kolbens mit Wasserdampf destilliert. Die vorliegenden Nicotinmengen waren im allgemeinen in 300 ccm Destillat quantitativ enthalten. Vorversuche zeigten, daß es genügt, die Pflanzenteile nur geschnitten zu verwenden. Im übrigen wurde bei der Destillation, Fällung und Wägung nach den Angaben von PFYL und SCHMITT (1927), mit den Abänderungen von KOENIG und DÖRR (1934) verfahren. Der geringe Anteil des Nicotins am kieselwolframsauren Niederschlag (Faktor = 0,1011) macht das Verfahren besonders brauchbar.

C. Versuchsergebnisse.

1. Nur ein Pfropfpartner genetisch alkaloidführend.

a) Einfache Pfropfungen mit Tabak und Tomate.

Die klare Bestätigung des Befundes von HASEGAWA (1937) brachte die Pfropfung H 1, also die Pfropfung einer genetisch alkaloidfreien Pflanze, der Tomate, auf eine genetisch alkaloidführende Unterlage, *Nicotiana rustica*. Bei der Pfropfung wurden von der Unterlage alle Blätter entfernt, die Pfropfung in geringer Höhe über dem Erdboden ausgeführt und das kurze verbleibende Achsenstück der Unterlage mit Aluminiumfolie umwickelt, so daß die Unterlage keine Möglichkeit zur eigenen Photosynthese hatte.

Die Blätter des Reises zeigten einen Nicotingehalt, der durchaus die Höhe des in den Blättern der ungepfropften Tabakpflanzen üblichen erreichte.

Versuch 1¹. (*Nicotiana rustica*) × *Solanum lycopersicum*.

Aussaat: Mitte April 1941. Ins Freiland: 8. 7.

Eingetopft: 29. 5. Ernte und

Gepfropft: 16. 6 Untersuchung: 1. 10.

H 1, Pflanze Nr. 8.

Tomatenreis:

gesamte grüne Blätter	= 75 g	Fr.Gew. ²	= 68,2 mg Nic. = 90,8 mg/100 g Fr.Gew.
vergilbte Blätter	= 6 g	Fr.Gew.,	verworfen
Stengel	50 g }	= 71 g	Fr.Gew. = 9,3 mg Nic. = 13,1 mg/100 g Fr.Gew.
Früchte	21 g }		

Tabakunterlage:

Stengel (kurz)			verworfen
Wurzel insgesamt:	= 1,17 g	Tr.Gew.	= 7,02 mg Nic. = 571 mg/100 g Tr.Gew.
davon: Hauptwurzel	= 0,4 g	Tr.Gew.	0,57 mg Nic. = 143 mg/100 g Tr.Gew.
Faserwurzeln	= 0,77 g	Tr.Gew.	6,45 mg Nic. = 930 mg/100 g Tr.Gew.

Versuch 2. H 1, Pflanze Nr. 9.

Tomatenreis:

gesamte grüne Blätter	= 79 g	Fr.Gew.	= 78,4 mg Nic. = 99,2 mg/100 g Fr.Gew.
vergilbte Blätter	= 33 g	Fr.Gew.	verworfen
Stengel	87 g }	= 155 g	Fr.Gew. verworfen
Früchte	68 g }		

¹ Die Versuche werden durchlaufend gezählt, ohne Bezug auf die Bezeichnung der Pfropfungen (H 1 bis H 14) im Arbeitsplan.

² Fr.Gew. bedeutet künftig Frischgewicht, Tr.Gew. Trockengewicht.

Tabakunterlage:

Stengel (kurz)		verworfen	
Wurzel insgesamt:	= 1,40 g Tr.Gew.	= 8,53 mg	Nic. = 700 mg/100 g Tr.Gew.
davon: Hauptwurzel	= 0,5 g Tr.Gew.	= 0,41 mg	Nic. = 82 mg/100 g Tr.Gew.
Faserwurzeln	= 0,9 g Tr.Gew.	= 8,12 mg	Nic. = 902 mg/100 g Tr.Gew.

Grundsätzlich gleiche Ergebnisse zeigte die entsprechende Pfropfung mit der nicotinarmen Tabaksorte als Unterlage:

Versuch 3. H 14. Nicotiana Tabacum (nicotinarm) → Solanum lycopersicum.

Aussaart:	Mitte April 1941.	Ins Freiland:	29. 7.
Eingetopft:	29. 5.	Ernte und	
Gepfropft:	15. 7.	Untersuchung:	1. 10.

Bei der Pfropfung wurden von der Unterlage alle Blätter entfernt, die Pfropfung in größerer Höhe über dem Boden ausgeführt und die Achse der Unterlage nicht mit Aluminiumfolie umwickelt. Die Unterlage bildete neue Blätter, so waren am 24. 7. bereits drei neue entwickelt. Die Blätter wurden nicht entfernt.

Tomatenreis:

gesamte grüne Blätter	= 107 g Fr.Gew.	= 73,09 mg Nic.	= 68,3 mg/100 g Fr.Gew.
vergilbte Blätter	= 23 g Fr.Gew.	verworfen	
Stengel 100 g			
Früchte 26 g	= 126 g Fr.Gew.	= 13,8 mg Nic.	= 11,0 mg/100 g Fr.Gew.

Tabakunterlage: nicht untersucht.

Sofern nicht ein Einfluß der Beblätterung an der Unterlage vorliegt, entspricht die geringere Nicotinführung im Tomatenreis (gegenüber Versuch 1 und 2) der Nicotinarmut der Unterlage.

Es war nun der Nachweis notwendig: Ist das bei Wasserdampfdestillation aus alkalischem Medium erhaltene Alkaloid, das aus dem Destillat mit Kieselwolframsäure gefällt und zur Wägung gebracht wird, qualitativ als Nicotin zu identifizieren? Zum Nachweis des Nicotins wurden einige der von WENUSCH (1932, 1933, 1934) zur Erkennung von Nicotin zusammengestellten Reaktionen durchgeführt:

WENUSCH-Probe I = Nachweis des Pyridinkerns im Nicotin:

Das auf Nicotin zu prüfende Material wird mit kalter konzentrierter Natronlauge stark alkalisch gemacht, wiederholt mit Petroläther gründlich ausgeschüttelt und der Petroläther seinerseits mit 5—10 ccm 5% iger Schwefelsäure ausgeschüttelt. 2 ccm der schwefelsauren Lösung werden im Reagensglas mit wenigen Kristallen Dinitrochlorbenzol (Cl:NO₂:NO₂ = 1:2:4) einige Minuten gekocht, abgekühlt und langsam mit alkoholischer 1% iger Kalilauge im Überschuß versetzt. Mit eintretender Violettfärbung ist ein Pyridinkern nachgewiesen, also der eine Teil der Nicotinmolekel erkannt. Die Violettfärbung geht besonders von den an der Glaswand oberhalb der Flüssigkeit haftenden Kristallen von Dinitrochlorbenzol aus.

Bei sehr geringem oder zweifelhaftem Nicotingehalt erfolgt zweckmäßig zunächst eine Anreicherung durch alkalische Destillation: Es werden etwa 5 g trockene, zerriebene Pflanzenteile mit 4 ccm einer Mischung aus 1 Teil Alkohol und 3 Teilen 33% iger Natronlauge im Mörser mit dem Pistill durchfeuchtet und mit 40 ccm Petroläther durch Schütteln ausgezogen. Der Petroläther wird mit 10 ccm 5% iger Schwefelsäure ausgeschüttelt, diese schwefelsaure Lösung mit 5 ccm konzentrierter Natronlauge alkalisiert und unter guter Kühlung abdestilliert (Paraffinbad). Nach diesem Verfahren wurde in der Regel gearbeitet.

WENUSCH-Probe II = Nachweis des Pyrrolkerns nach Dehydrierung.

Hierbei wird der hydrierte Pyrrolkern des Nicotins zunächst dehydriert und das gebildete Pyrrol durch eine Reaktion mit p-Dimethylaminobenzaldehyd nachgewiesen.

Als Ausgangssubstanz kann die Pikratfällung aus der Alkaloidlösung (Destillat der Wasserdampfdestillation) oder besser noch das bei der Vorbereitung für WENUSCH-Probe I gewonnene Destillat dienen.

Etwa 5 mg des Pikrats oder wenige Kubikzentimeter des zuletzt genannten Destillats werden mit 5 ccm Wasser, 1—2 Tropfen 15%iger Natronlauge und 0,1 g Silberacetat 15 Min. bei alkalischer Reaktion am Rückfluß in schwachem Sieden gehalten. Das abgekühlte Reaktionsprodukt wird mit 5 ccm konzentrierter Natronlauge stark alkalisiert und zweimal mit Petroläther ausgeschüttelt. Einige Kubikzentimeter der petrolätherischen Lösung werden mit der gleichen Menge Reagens versetzt. Je nach der Nicotinmenge entsteht sofort oder allmählich beim Erwärmen Violettfärbung. Dieses Violett ist allerdings wesentlich rotstichiger als das bei Probe I entstehende.

Das Reagens besteht aus: 1 g p-Dimethylaminobenzaldehyd
+ 250 g Phosphorsäure.

WENUSCH-Probe III = Nachweis einer N-Methylgruppe am Pyrrolkern.

Einige Kubikzentimeter der bei Probe II durch Dehydrierung gewonnenen petrolätherischen Lösung werden mit 1 ccm Phosphorsäure ausgeschüttelt und die phosphorsaure Lösung mit einigen Tropfen einer frisch bereiteten Lösung von Chinon in Phosphorsäure versetzt. Violettfärbung soll eine N-Methylgruppe am Pyrrolkern anzeigen. Die violette Farbe ist hier häufiger noch als bei Probe II unrein, sie kann burgunderrot, selbst braunrot erscheinen.

Vom vorliegenden Material der Pflropfung: (*Nicotiana rustica*) → *Solanum lycopersicum* wurden Blätter des Reises wiederholt mit Probe I—III geprüft und deutlich positiv befunden. Weiter wurde das Destillat der alkalischen Wasserdampfdestillation aus Tomatenblättern von H 1, Pflanze Nr. 1 mit Pikrinsäure gefällt und der Schmelzpunkt des Pikrats nach Umkristallisieren im KOFLERSchen Apparat bestimmt. Ergebnis: 218,5°, von einer anderen Fällung 216°. Zum Vergleich wurde Nicotin KAHLBAUM im Vakuum destilliert und gefällt. Dieses Nicotindipikrat ergab bei der Mikrobestimmung einen Schmelzpunkt von 218°, bei einer zweiten Bestimmung von 218—219°. Angaben bei BEILSTEIN (1936), S. 115: 218° und 218—219°, dagegen bei SPÄTH (1939), S. 291: 224°.

Damit ist die Identität des Alkaloides mit Nicotin gesichert.

Wie verhielt sich nun die umgekehrte Pflropfung, genetisch alkaloid-führendes Reis auf genetisch alkaloidfreier Unterlage?

Versuch 4. H 2a. *Solanum lycopersicum* → *Nicotiana Tabacum*.

Aussaart: Mitte April 1941. Ins Freiland: 29. 7.

Eingetopft: 29. 5. Ernte und

Gepfropft: 15. 7. Untersuchung: 19. 9.

Bei der Pflropfung wurden von der Unterlage nur einige Blätter entfernt und später neue nachwachsen lassen. Die Pflanze wurde mit Ausnahme der Pflropfstelle am 19. 9. restlos aufgearbeitet.

Tabakreis:

Blätter = 38,8 g Fr.Gew. } Das Wasserdampfdestillat gab mit Kieselwolframsäure
Stengel = 22,0 g Fr.Gew. } eine geringe opalisierende Trübung, aber auch nach
langem Stehen im Kühlschrank keinen Niederschlag.

Tomatenunterlage:

Blätter = 56,2 g Fr.Gew. gab nahezu klare Lösung, keinerlei Niederschlag.

Stengel = 58,7 g Fr.Gew. } keine Trübung, kein Niederschlag.
Wurzel = 28,0 g Fr.Gew. }

(Das Mark der Tomatenstengel war zum Teil braun.)

Es kann also in keinem Teil der gesamten Pflanze ein wasserdampf-flüchtiges Alkaloid nachgewiesen werden.

Auch mit *Nicotiana rustica* als Reis und blattloser Tomatenunterlage liegen die Verhältnisse nicht anders:

Versuch 5. H 2. (*Solanum lycopersicum*) → *Nicotiana rustica*.

Aussaat: Mitte April 1941. Ins Freiland: 8. 7.

Eingetopft: 29. 5. Ernte und

Gepfropft: 16. 6. Untersuchung: 1. 10.

Die Pflanze (Gesamthöhe einschließlich Wurzeln 129 cm) wurde mit Ausnahme der Pfropfstelle restlos aufgearbeitet.

Tabakreis:

Blätter = 85 g Fr.Gew. } Das Wasserdampfdestillat gab mit Kieselwolframsäure sehr wenig braunrosa gefärbte amorphe Fällung und noch weniger winzige Kristallsplitter, schätzungsweise weniger als 1 mg, diese unter dem Mikroskop von der typischen Form des nicotin-kieselwolframsauren Salzes.

Stengel + Blüten + unreife Früchte = 119 g Fr.Gew. gab wenig braunrosa gefärbte amorphe Fällung.

Tomatenunterlage:

Wurzel einschließlich 4 cm des ergrüntem Tomatenstengels¹ = 11 g Fr.Gew. ohne jede Fällung oder Trübung.

Waren demnach in den Blättern des Tabakreises nur Spuren von Alkaloid nachweisbar, die bei Wasserdampfdestillation aus *alkalischem* Medium übergehen, so konnten doch Alkaloide oder verwandte Substanzen vorliegen, die bei der Destillation aus *saurer* Lösung isolierbar sind, z. B. Pyridin.

Es wurde deshalb ein Tabakreis der Wasserdampfdestillation aus saurem Medium unterworfen, unter Zugabe von 100 ccm 15%iger Essigsäure zu jeder Destillation:

Versuch 6. H 2. (*Solanum lycopersicum*) → *Nicotiana rustica*. Kulturdaten wie bei Versuch 5.

Tabakreis:

Blätter = 112 g Fr.Gew. } Destillat gab mit Kieselwolframsäure sehr wenig weiße amorphe Fällung, schätzungsweise weniger als 1 mg.

Stengel + Blüten + unreife Früchte = 117 g Fr.Gew., kein Niederschlag.

2 niederliegende Seitensprosse, die dicht über der Pfropfstelle abzweigten, wurden verworfen.

Nach diesem negativen Ergebnis bestand weiter die Möglichkeit, daß das Tabakreis Alkaloid führt, das weder aus alkalischem, noch aus saurem Medium wasserdampflich ist. Es wurde daher in Anlehnung an das von RASMUSSEN (1916) abgeänderte Nicotinbestimmungsverfahren von KELLER (1898) aus dem Reis einer entsprechenden Pfropfung durch Auszug mittels organischer Lösungsmittel Alkaloid zu gewinnen gesucht:

Versuch 7. H 2a. *Solanum lycopersicum* → *Nicotiana Tabacum*. Kulturdaten wie bei Versuch 4.

¹ Die Tomatenachse war auf eine Erstreckung von 5,5 cm unterhalb der Pfropfstelle ergrünt, mit kurzen, kolbigen Luftwurzeln.

Tabakreis:

Ernte der Blätter 15. 10. 41. Frischgewicht (etwas welk) = 41 g, getrocknet bei 50—60° im Trockenschrank = 6,5 g Tr.Gew.

Die 6,5 g gepulverten Tabakblätter wurden mit 5 ccm einer Mischung von 1 Teil Alkohol + 3 Teilen 33%iger Natronlauge im Mörser mittels Pistill gut durchfeuchtet und in einer Glasstopfenflasche mit 35 ccm Äther und 35 ccm Petroläther innerhalb 4 Stunden häufig geschüttelt. Der ätherische Auszug wurde nach Absetzen und Filtern 3mal mit je 25 ccm 1%iger Salzsäure ausgeschüttelt und die salzsaure Lösung mit 5%iger Kieselwolframsäure versetzt.

Zunächst erfolgte keine Fällung, am folgenden Tag war ein sehr geringer Niederschlag vorhanden, der unter dem Mikroskop eine größere Zahl kleinster sternförmiger Kristalle zeigte.

Somit können aus den Blättern des Tabakreises durch unmittelbare Extraktion (ohne Wasserdampfdestillation) sehr geringe Mengen eines Alkaloids gewonnen werden, das mit Kieselwolframsäure andere Kristallformen gibt als die wasserdampflichten Nicotiana-Alkaloide nach der Wasserdampfdestillation.

Von später in größerer Zahl durchzuführenden gleichen Pfropfungen ist eine brauchbare Menge der Substanz zur näheren Untersuchung zu erwarten.

Damit ist einwandfrei erwiesen, daß Blätter und Stengel des auf Tomate gepfropften *Tabakreises* nur in minimalster Menge Alkaloid führen.

Ist nun in der bei alkalischer Wasserdampfdestillation nicotinfrei gefundenen *Tomatenunterlage* der gleichen Pfropfung ein nichtwasserdampflichtiges Alkaloid nachweisbar?

Versuch 8. H 2a. *Solanum lycopersicum* → *Nicotiana Tabacum*. Kulturdaten wie bei Versuch 4.

Ebenfalls am 15. 10. 41 geerntete 68 g Tomatenblätter (Fr.Gew., etwas welk), die lufttrocken 9,0 g ergaben, wurden mit 7 ccm der Alkohol-Natronlauge Mischung durchfeuchtet und mit 45 ccm Äther + 45 ccm Petroläther 4 Stunden lang unter Schütteln ausgezogen, die Lösung 3mal mit je 25 ccm 1%iger Salzsäure ausgeschüttelt und mit 5 ccm 5%iger Kieselwolframsäure versetzt.

Die Lösung zeigte sofort schwache Opalescenz und nach einigen Tagen einen geringen Niederschlag, der aus zweierlei Kristallen bestand:

1. Drusen aus ziemlich spitzen Nadeln,
2. spießige Kristalle, die einseitig gefiedert sind und zum Teil auch zu drusigen Aggregaten zusammenliegen.

Der Niederschlag wog nur 6,7 mg; wie bei allen kieselwolframsauren Alkaloidniederschlägen entfällt hiervon sicher die Hauptmenge auf die Säure und nur ein kleiner Teil auf das Alkaloid.

Zur Bestätigung des Befundes wurde der Versuch wiederholt:

Versuch 9. Am 15. 10. 41 geerntete Tomatenblätter der Pfropfung H 2a mit 95 g Fr.Gew. = 12,4 g Tr.Gew. (lufttrocken) wurden geteilt und je 6,2 g der alkalischen Wasserdampfdestillation unterworfen bzw. mit alkalischem Äther ausgezogen. Das Destillat gab mit 10 ccm 5%iger Kieselwolframsäure keinerlei Niederschlag, dagegen fand sich bei der Fällung der alkalischen Ätherextraktion mittels Kieselwolframsäure wiederum eine geringe Menge Niederschlag, der unter dem Mikroskop wie bei Versuch 8 aus Drusen bestand, während die spießigen Kristalle fehlten. Die Drusen waren bei Versuch 9 nicht einheitlich, sie bestanden zum Teil

aus etwas derberen Nadeln als in Versuch 8, zum Teil aber auch aus sehr feinen, äußerst dicht liegenden Nadelchen, so daß die Drusen fast ein wavelitähnliches Aussehen hatten. Diese Formunterschiede in der Kristallausbildung dürften unwesentlich sein und von äußeren Faktoren abhängen. Die Menge des Niederschlages war auch hier gering.

Weiterhin bestand die Möglichkeit, daß der geringe kristallisierte Niederschlag auch bei entsprechender Behandlung *ungepfropfter* Tomatenblätter zu erhalten war. Es wurden deshalb im *Versuch 10* Tomatenblätter, die am 1. 8. 41 mit 44 g Fr. Gew. geerntet waren und lufttrocken 5,0 g ergaben, in der gleichen Weise behandelt. Der sehr geringe Niederschlag bestand aus feinsten Nadelchen, die wiederum drusenähnlich angeordnet waren, allerdings in der Weise, daß die Nadeln in der Richtung weniger Strahlen zusammengeschart lagen. So ergaben sich als Formen feinststrahlige Sterne, der wenn die Strahlen in der Vierzahl auftraten, kreuzähnliche Gebilde.

Jedenfalls lassen sich auf die angegebene Weise auch aus Blättern angepfropfter Tomatenpflanzen kleinste Mengen mit Kieselwolframsäure fällbarer Substanz gewinnen, so daß deren Auftreten in der Tomatenunterlage nicht auf einen Einfluß des darüber gepfropften Tabakreises zurückgeführt zu werden braucht.

b) Doppelte Pfropfungen mit Tabak und Tomate.

Bei einer ganzen Anzahl der doppelten Pfropfungen sind die Oberreiser nach zunächst anscheinend guter Verwachsung und Weiterentwicklung einige Wochen nach der Pfropfung abgestorben. Die Gründe waren nicht näher ersichtlich; vielleicht war auch die vorgeschrittene Jahreszeit oder die innere Umstimmung der blühenden und fruchtenden Pflanzen der günstigen Weiterentwicklung nach der zweiten Pfropfung hinderlich. Bei den verbliebenen Pflanzen waren die Oberreiser zwar gesund und kräftig, aber mengenmäßig nur gering entwickelt. Es kamen daher vom Oberreis nur geringe Blattmengen zur Untersuchung; zuweilen wurden mehrere Pflanzen zu einer Analyse zusammengefaßt. Einige Ergebnisse werden in der folgenden Übersicht gegeben:

Ver- such	Pfropf- partner	Frisch- gewicht	Blätter mit % Stengel	Nicotin absol.	Nicotin je 100 g Frisch- gewicht	Pfropf- ung	Pfropf- tag	Ernte	Tage seit Pfropf- ung
Nr.		g		mg	mg				
11	Oberreis	7,8	25	19,69	230	II	11. 8.	22. 10.	72
	Zwischen- reis	59,3	17	120,56	200	I	16. 6.	22. 10.	128
	Unterlage	34,0	0	23,43	68,9	—	—	24. 9.	—
		25,7	100	6,22	24,2	—	—	24. 9.	—
12	Oberreis	8,3	31	16,59	200	II	11. 8.	17. 10.	67
13	Oberreis	11,4	55	22,10	194	II	11. 8.	17. 10.	67
14	Oberreis	9,3	45	21,80	234,4	II	11. 8.	14. 10.	64
15	Oberreis	12,0	0	0,0	0,0	II	11. 8.	17. 9.	37
16	Oberreis	1,7	38	0,0	0,0	II	11. 8.	1. 10.	51

Versuch 11 = H 4a, Pfl.Nr. 3.	} <i>Nic. rust.</i> → <i>Sol. lycop.</i> → <i>Nic. rust.</i>
Versuch 12 = H 4a, Pfl. Nr. 4 + 5	
Versuch 13 = H 4, Pfl. Nr. 3 + 6 + 7.	} (<i>Nic. rust.</i>) → <i>Sol. lycop.</i> → <i>Nic.</i>
Versuch 14 = H 4, Pfl. Nr. 1 + 2.	
Versuch 15 = H 5, Pfl.Nr. 1.	} (<i>Sol. lycop.</i>) → <i>Nic. rust.</i> → <i>Sol. lycop.</i>
Versuch 16 = H 5, Pfl.Nr. 3.	

Wie bei den einfachen Pfropfungen gilt auch hier die Regel, daß das Reis, also hier Zwischen- und Oberreis, in seiner Alkaloidführung von der *wurzelnden* Unterlage bestimmt wird. Diese wichtige Erkenntnis wird in der Schlußbesprechung im Zusammenhang mit den übrigen Ergebnissen behandelt werden. Weiterhin ist ersichtlich, daß das Tabak-Oberreis durchweg hohen Nicotingehalt führt, der etwa in der gleichen Höhe wie in den Blättern des Tomaten-Zwischenreises liegt.

c) Einfache Pfropfungen mit Tollkirsche und Tomate.

Falls die mit Tabak und Tomate erhaltenen Befunde der Ausdruck einer allgemeineren Gesetzmäßigkeit für die Alkaloidführung in Solanaceen-Pfropfpartnern sind, mußten entsprechende Verhältnisse auch bei Pfropfungen mit anderen genetisch alkaloidführenden Pfropfpartnern als Tabak zu ermitteln sein. Als ein solcher genetisch alkaloidführender Partner wurde zunächst die Tollkirsche gewählt, deren Alkaloide, Atropin und Hyoscyamin, als mydriatisch stark wirksame Substanzen auch in geringen Mengen durch Pupillenerweiterung z. B. am Katzenauge leicht und sicher qualitativ nachgewiesen werden können.

Versuch 17. H 9a. *Atropa Belladonna* → *Solanum lycopersicum*.

Aussaat:	Mitte April 1941.	Gefropft:	22. 7.
Eingetopft:	29. 5.	Ins Blockhaus:	29. 7.
		Ernte:	19. 10.

Aufarbeitung in Anlehnung an das Verfahren zur Hyoscyaminbestimmung von GSTRNER (1936): 39,5 g Blätter des Reises wurden an der Luft vor- und 45 Min bei 105° nachgetrocknet. Die erhaltenen 3,94 g trockener Blätter wurden mit 50 g Äther unter Zusatz von 4,5 ccm Ammoniak (8%) etwa 2 Stunden unter gelegentlichem Schütteln ausgezogen, der Auszug durch Watte gegossen und mit 5 ccm Wasser zum Klären geschüttelt. Nach raschem Filtern blieben 30 g von den in Arbeit genommenen 50 g ätherischer Lösung verfügbar, davon wurde 1 ccm verdunstet, mit 4 Tropfen n/100 HCl + 6 Tropfen Wasser in Lösung gebracht und zur Pupillenreaktion verwandt.

Nach 40 Min. trat deutliche Mydriasis ein, die nach weiteren 30 Min. noch verstärkt war und nach insgesamt 4 Stunden weiter andauerte. Maximale Wirkung wurde nicht erreicht.

Die Wirkung auf die Pupille war also deutlich mit einer Verdünnung, die den Auszug von 5,7 mg trockenen Tomatenblattes in dem für die Reaktion verwandten einen Tropfen der salzsauren Alkaloidlösung enthielt.

Wegen der geringen verfügbaren Blattmenge wurde von der Durchführung quantitativer Bestimmungen abgesehen.

Versuch 18. H 10a. *Solanum lycopersicum* → *Atropa Belladonna*.

Aussaat:	Mitte April 1941.	Gepfropft:	11. 8.
Eingetopft:	29. 5.	Ernte:	22. 10.
Ins Blockhaus:	Anfang August.		

Vorbereitung und Aufarbeitung des Materials wie bei Versuch 17. Einwaage: 2,87 g. 38 g der ätherischen Lösung (von 50 g) wurden 3mal mit je 15 ccm 1%iger Salzsäure ausgeschüttelt und mit 5 ccm 5%iger Kieselwolframsäure versetzt. Zunächst erfolgte keine Fällung; nach 6 Tagen hatte sich ein ganz geringer amorpher Niederschlag gebildet, von dem nur wenige kleinste Körperchen im polarisierten Licht sich als kristallin auswiesen.

1 ccm (= 0,72 g) der ätherischen Lösung $\left(= \frac{1}{50} \cdot 0,72 \text{ von } 2,87 \text{ g Blatt} \right)$ wurden verdunstet, in 4 Tropfen n/100 HCl gelöst und zur Pupillenreaktion verwandt.

Die Pupille war nach 1 Stunde vielleicht minimalst erweitert, nach einer weiteren Stunde ebenso, nach insgesamt 5 Stunden wieder normal. Es wurden also etwa 25 mg Blatttrockensubstanz in salzsaurem Auszug angewandt und damit möglicherweise eine sehr schwache Pupillenerweiterung erzielt.

Bei Wiederholung aus neuem Material, entsprechend 36 mg Trockensubstanz, trat innerhalb 80 Min. schwache Mydriasis ein, die 3 Stunden erkennbar anhielt.

Zur Beurteilung dieses Ergebnisses ist wesentlich, daß ein zum Vergleich entsprechend hergestellter Auszug aus ungepfropften Belladonna-Blättern noch bei Anwendung von nur 3 mg Trockensubstanz innerhalb 90 Min. sehr deutliche Mydriasis gab, die 16 Stunden erkennbar anhielt! Und bei der umgekehrten Pflanzung H 9a trat sehr deutliche Erweiterung bei Verwendung von nur 5,7 mg des Tomatenreises ein.

Die Ergebnisse von Versuch 17 und 18 zeigen, daß auch für die Alkaloide der Tollkirsche die gleichen Verhältnisse gelten wie für das Nicotin der Tabakpflanze. Allerdings scheint die Alkaloidfreiheit nicht ganz so ausgeprägt zu sein wie bei den entsprechenden Pflanzungen mit Tabak, doch ist hierbei die hohe Empfindlichkeit der physiologischen Probe zu beachten.

2. Zwei Pflanzpartner genetisch alkaloidführend.

Es erhob sich nun die Frage, wie sich die Alkaloidführung gestaltet, wenn beide Pflanzpartner genetisch alkaloidführend sind. Der Hauptversuch wurde mit Tabak als Unterlage und Stechapfel als Reis durchgeführt (= H 7). Wieder bot der Stechapfel mit den gleichen mydriatisch wirksamen Alkaloiden wie die Tollkirsche (Atropin und Hyoscyamin) den Vorteil des einfachen Nachweises auf physiologischem Wege.

H 7. (*Nicotiana rustica*) → *Datura Stramonium*.

Kulturangaben für die 5 Versuchspflanzen:

Aussaat:	Mitte April 1941.	Gepfropft:	16. 6.
Eingetopft:	29. 5.	Ins Freiland:	8. 7.

Die Pflanzung wurde nahe dem Boden ausgeführt und dabei alle Blätter der Unterlage entfernt, es wuchsen auch keine nach. Die Möglichkeit zur Photosynthese der Unterlage war somit sicher gering, sie wurde allerdings experimentell nicht unterbunden. Einige Wochen nach der Pflanzung, nachdem das Reis die ersten größeren Seitensprosse mit stärkerer Belaubung gebildet hatte, verfärbten

sich diese Laubblätter zonenweise nach gelb, als ob das in ihnen nun vorhandene Nicotin das Gewebe geschädigt hätte. Dieser Zustand wurde aber überwunden, die zum Teil verfärbten Blätter blieben im übrigen Teil frisch, und die Reiser entwickelten sich kräftig, blühten und fruchteten.

Versuch 19. H 7, Pflanze Nr. 1.

Datura-Reis geerntet am 20. 9. und frisch verarbeitet.

Ergebnis: 61,3 g Fr.Gew. Datura-Stengel = 10,23 mg Nic./100 g Fr.Gew.
78,8 g Fr.Gew. Datura-Blätter = 100,7 mg Nic./100 g Fr.Gew.

Der Rückstand der Wasserdampfdestillation dieser Blattmenge wurde mit 30 ccm 30%iger Essigsäure versetzt, ausgepreßt, mit neuen 10 ccm der gleichen Essigsäure neu aufgeschwemmt, wieder ausgepreßt, der Destillationskolben mit 10 ccm 5%iger Essigsäure ausgespült und die vereinigten Flüssigkeiten (fast 500 ccm) mit 20 g Kaliumhydroxyd (in rotulis) alkalisiert und mit 150 ccm Äther ausgeschüttelt. Einige Kubikzentimeter des Äthers wurden auf einer Uherschale verdunstet, der Rückstand in wenig 5%iger Schwefelsäure gelöst, auf neue Uherschalen verteilt und mit allgemeinen Alkaloidreagenzien auf Alkaloide geprüft; die Reaktionen blieben mit MAYERS Reagens, mit Wismutjodidjodkalium und mit Cadmiumjodidjodkalium negativ. Aus äußeren Gründen war die weitere Verarbeitung dieser ätherischen Lösung leider nicht möglich.

Versuch 20. H 7, Pflanze Nr. 2.

75 g Blätter des Reises wurden am 7. 10. geerntet und bei 40—50° getrocknet. 75 g Frischgewicht ergaben 15,4 g lufttrockene Blattsubstanz. Diese wurde grob gepulvert und davon 10 g (entsprechend rund 50 g Frischgewicht) zur Wasserdampfdestillation verwandt. Ergebnis: 111,4 mg Nicotin, entsprechend 222,8 mg in 100 g Fr.Gew. oder 1,1% des Tr.Gew.

Weiter wurden 1 g der lufttrockenen Blattsubstanz mit 30 ccm Äther und 3 g Ammoniak (10%) 30 Min. geschüttelt, filtriert, der Äther verjagt, der Rückstand mit 4 ccm 1%iger Salzsäure aufgenommen, erneut filtriert, mit n/l KOH neutralisiert, mit wenigen Tropfen n/100 HCl angesäuert und auf 7 ccm ergänzt. Davon kam 1 Tropfen zur Pupillenreaktion, die innerhalb 6 Stunden deutlich negativ blieb.

Zur Beurteilung dieses negativen Ergebnisses ist der Ausfall der folgenden Gegenprobe wesentlich: Bei einem Parallelversuch mit ungepfropftem *Datura*-Blatt war eine Lösung, von der 100 ccm = 0,2 g Blattrockensubstanz entsprachen, mit einem Tropfen noch deutlich pupillenwirksam. Dagegen entsprachen bei vorliegendem Versuch 7 ccm = 1 g *Datura*-Blatt, die Reaktion blieb also beim gepfropften Blatt trotz 70facher Konzentration der angewandten Lösung negativ.

Versuch 21. H 7, Pflanze Nr. 3.

Um die Fermente unwirksam zu machen, wurden die Blätter zunächst 60 Min., die Stengel 30 Min. bei 102° gehalten, anschließend bei etwa 55° getrocknet, im Mörser grob gepulvert und bei 103° nachgetrocknet.

8 g des Blattpulvers ergaben bei der alkalischen Wasserdampfdestillation einen Nicotingehalt von 81,66 mg oder 1,02% des Tr.Gew.

Der Rückstand der alkalischen Wasserdampfdestillation wurde anschließend der essigsauren Wasserdampfdestillation unterworfen und dem Destillat 5%ige Kieselfolframsäure zugesetzt.

Ergebnis: erste 100 ccm Destillat: keinerlei Fällung,
folgende 120 ccm Destillat: ebenso.

Versuch 22. Weitere 10 g des Blattpulvers wurden durch alkalische Wasserdampfdestillation vom Nicotin befreit, der Destillationsrückstand zur Trockne verdampft und dieser mit alkalischem Äther extrahiert: 1 Tropfen der schließlich schwach salzsauren Lösung entsprach 0,1 g Blattrockensubstanz und bewirkte innerhalb 2 Stunden keine Pupillenerweiterung. Es wurde dann ein weiterer Tropfen an demselben Auge angewandt und nunmehr innerhalb 100 Min. vielleicht eine minimalste Erweiterung beobachtet, die nach nochmals 1 Stunde bereits wieder zurückgegangen war.

Das ist bei der angewandten Blattmenge von 0,2 g ein praktisch negatives Ergebnis, wenn wir uns der Wirkung eines Auszuges von ungepflöpftem *Datura*-Blatt im Parallelversuch zu Versuch 20 erinnern, wo die Pupillenwirkung noch in 2000facher Verdünnung gegenüber der hier angewandten Konzentration auftrat. Immerhin könnte eingewandt werden, daß die intensive Alkalieinwirkung (allerdings nur von MgO!) bei der Wasserdampfdestillation die mydriatisch wirksamen *Datura*-Alkaloide zerstört haben könnte. Dieser Einwand gilt jedoch nicht gegen die in schonendster Weise vorbereitete Lösung im Versuch 20, die ein gleichsinniges Ergebnis zeigte.

Der Rest der in salzsaurer Lösung vorliegenden alkalischen Ätherextraktion wurde mittels Kieselwolframsäure auf Alkaloide geprüft und so tatsächlich eine geringe Fällung erhalten. Bei der Beurteilung dieses Niederschlages waren nach dem negativen Ausfall der Prüfung mit allgemeinen Alkaloidreagenzien im Versuch 19 Alkaloide nicht zu erwarten, doch blieb wohl die Konzentration der fraglichen Substanz bei jenem Nachweis unterhalb der Erfassungsgrenze. Mydriatisch wirksame Alkaloide sind wegen des negativen Ausfalls der Pupillenreaktion auszuschließen, ebenso Pyridin bzw. pyridinhaltige Alkaloide, da die Anwendung der WENUSCH-Probe I nach Destillation der salzsauren Lösung negativ blieb. So bleibt die Frage nach der Natur der Substanz zunächst noch offen, doch handelt es sich auch hier nur um sehr geringe Mengen, die für den Alkaloidstoffwechsel ohne Belang sind.

Dagegen war das als Nicotin angesehene Alkaloid, das bei der Wasserdampfdestillation im Versuch 19 gewonnen wurde, noch als solches zu identifizieren. Das geschah mit Hilfe der WENUSCH-Proben I—III, die einwandfrei positiv gelangen, und durch Schmelzpunkt-Mikrobestimmung des Pikrats, die in 3 Fällen folgende Werte ergab: 217—217,5°, 217—218°, 219° (vgl. dazu S. 193).

Damit ist auch für eine Pflöpfung mit zwei genetisch alkaloidführenden Partnern, für (*Nicotiana rustica*) → *Datura Stramonium*, erwiesen, daß die *Unterlage* entscheidend ist für die Alkaloidführung der Blätter am Reis.

Es wurden noch Stengel und reife Früchte vom Reis der gleichen Pflöpfung auf Alkaloide untersucht.

Versuch 23. 10 g getrocknete *Datura*-Stengel vom Versuch 21 ergaben bei der alkalischen Wasserdampfdestillation aus $\frac{1}{3}$ des Destillats 0,0138 g kieselwolfram-

Zum Vergleich wurden ebenfalls 1,7 g Blattrockensubstanz von ungepfropfter *Belladonna*-Pflanze demselben Untersuchungsgang unterworfen und die Reaktionen 1 und 2 in ähnlicher Stärke erhalten.

Atropa-Unterlage. 14 Blätter zwischen 14 und 20 cm Länge (einschließlich Stiel) + einige kleinere, zusammen etwa 60 g Fr.Gew., lufttrocken = 5,85 g. Alkalische Wasserdampfdestillation, Fälln mit Kieselwolframsäure. In einer sehr geringen Menge amorphen Niederschlags lagen wenige feinstrahlige Sternchen, die in keiner Weise mit dem Bild der Kristalle von kieselwolframsaurem Nicotin übereinstimmten. Nicotin darf also auch hier in der Unterlage in nennenswerter Menge ausgeschlossen werden.

D. Besprechung der eigenen und der früheren Ergebnisse.

Wenn wir nach der Umstellung des Alkaloidstoffwechsels unter dem Einflusse von Pfropfpartnern fragen, brauchen zunächst, für den ersten Schritt der Bearbeitung, nur diejenigen Änderungen im Alkaloidhaushalt der beteiligten Pflanzen in Betracht gezogen zu werden, die sich mengenmäßig in einer ähnlichen Größenordnung wie die Alkaloidführung der ungepfropften Pflanze bewegen. Soweit dagegen in den durchgeführten Versuchen bei Aufarbeitung mittlerer Pflanzenmengen nur sehr geringe, in den meisten Fällen unwägbare Mengen kristallisierter Niederschläge auftreten, können diese nach den Ausführungen in der Einleitung (S. 189) bei der vorliegenden Fragestellung zunächst vernachlässigt werden. Unter diesen Gesichtspunkten sind vor allem entscheidend die Ergebnisse der Versuche 1—8 und 17—20. Überraschend ist die grundlegende Umstellung in der Alkaloidführung des Reises sowohl über genetisch alkaloidführender, wie über genetisch alkaloidfreier¹ Unterlage, die geradezu nach dem Alles- oder Nichts-Prinzip erfolgt. Das genetisch alkaloidfreie Reis gelangt zu einer Alkaloidführung im selben Ausmaße wie die entsprechenden Organe der Unterlage; und das genetisch alkaloidführende Reis bleibt über der alkaloidfreien Unterlage praktisch auch alkaloidfrei. Die in den Versuchen mitunter nachgewiesenen geringen Mengen Alkaloid im genetisch alkaloidführenden Reis über genetisch alkaloidfreier Unterlage können aus dem (absichtlich immer sehr klein gewählten) Pfropfling stammen, der ja von vornherein alkaloidführend war.

Weiter ist der Nachweis wichtig, daß im Tabakreis über Tomate auch andere, bei alkalischer Wasserdampfdestillation *nicht*flüchtige Alkaloide fehlen. Der Alkaloidstoffwechsel könnte durch die Pfropfung so umgestellt sein, daß die Nicotinbildung auf Vorstufen, etwa bei Pyridin- oder Pyrrolidinverbindungen stehen bliebe oder daß die Methylierung am Stickstoff unterbliebe und nichtflüchtiges Nornicotin gebildet würde. Beim Versuch, solche Alkaloide durch saure Wasserdampfdestillation bzw. alkalischen Ätherauszug zu gewinnen, konnte

¹ Es wird hier nochmals auf Fußnote 1, S. 188 verwiesen.

nur in geringster Menge eine Kieselwolframsäure-Fällung erhalten werden, die für den Alkaloidhaushalt nicht ins Gewicht fällt.

Wir gewinnen also die klare Erkenntnis, daß die *Wurzel* der Unterlage entscheidend ist für die Alkaloidführung der *ganzen* gepfropften Pflanze, denn auch bei unterbundener (Blattlosigkeit) oder stark gehemmter Photosynthese der Unterlage werden doch dieselben Verhältnisse wie bei voller assimilatorischer Tätigkeit der Unterlage beobachtet.

Damit erhalten wir völlig neuartige Vorstellungen über die Steuerung der Alkaloidführung in den einzelnen Organen der Pflanze. Die früheren Untersucher gingen allgemein von der Annahme aus, daß die Alkaloide in jedem Organ aus den *Blättern* zugeleitet sein müßten. Sie wandten also ihr Augenmerk in besonderem Maße der *Ableitung* zu, der Stoffbewegung von oben nach unten. Dagegen machen die Ergebnisse der neuen Versuche deutlich, daß die *Wurzel* in entscheidender Weise für die Alkaloidführung des Sprosses verantwortlich ist. Diesen Befund bringen zunächst unsere *einfachen* Pfropfungen, wie sie mit den verschiedensten Kombinationen ihrer Partner durchgeführt wurden. Er findet weiterhin seine Bestätigung durch die Ergebnisse, die die *doppelten* Pfropfungen mit Tabak als *Zwischenreis* zwischen Tomate als wurzelnder Unterlage und Oberreis ergaben (Versuche 15 und 16): Das Tomatenoberreis über Tabak-*Zwischenreis* verhält sich in seiner Alkaloidführung völlig abweichend gegenüber dem Tomatenreis über *wurzelnder* Tabakunterlage. Die *Wurzel*, nicht allgemein der basalwärts folgende Partner ist also für die Alkaloidführung des Reises entscheidend. Damit tritt uns auch am Beispiel der *Alkaloidführung* in deutlichster Weise die Korrelation zwischen *Wurzel* und Sproß entgegen, die in Arbeiten des hiesigen Institutes mehr und mehr als ein allgemeines physiologisches Prinzip erkannt und auf breiter Grundlage weiter untersucht wird.

Die *Befunde* der früheren Autoren stimmen mit unseren eigenen mit geringen Ausnahmen überein, wenn wir uns auch in der Art ihrer *Deutung* noch zurückhalten und uns ihnen nicht anschließen wollen. Daß MEYER und SCHMIDT der Lösung nicht näher kamen, lag in der ihnen selbst natürlich unbewußten, wenig günstigen Wahl der untersuchten Organe ihrer Pfropfungen begründet. Wo sie Kartoffel als Unterlage verwandten wie in ihren Versuchsgruppen 1 und 3, mußte nach unserer heutigen Kenntnis ihr Suchen nach dem Alkaloid des Reises *in der Unterlage* erfolglos bleiben, und dem zugehörigen Reis schenkten sie (mit einer Ausnahme) keine Beachtung, weil sie in ihm die normalen Verhältnisse wie in der ungepfropften Pflanze vermuteten. Sie suchten der *Wanderung* der Alkaloide näher zu kommen und übersahen deshalb wegen zu begrenzter Fragestellung bei Durchführung ihrer Pfropfungen und vor allem ihrer Analysen, daß der Alkaloidhaushalt der Pfropfungen jenseits von Stoffbewegung und Speicherung noch viel größere Überraschungen bereit hielt.

Auch die Erhebungen der übrigen Forscher, vor allem der französischen, fügen sich in den von uns nun gewonnenen Rahmen zwanglos ein. Bei JAVILLIERS Versuchsgruppen 3 und 4 ist der physiologische Nachweis durch die Pupillenprobe eben doch *zu* scharf, so daß auch eine sehr geringe Menge des „ortsfremden“ Alkaloids nachgewiesen und damit eine falsche Norm vorgetäuscht wird. Hier bewährt sich die von uns geübte Praxis, das physiologische Nachweisverfahren zu einem beschränkt *quantitativen* zu machen, indem im Parallelversuch mit bekannten Mengen normalen alkaloidführenden Gewebes die Pupillenwirkung am gleichen Tier verfolgt wird.

Dagegen bleibt ungeklärt, wie bei der Pfropfung Tollkirsche → Tomate die Blätter und Stengel des Reises im Gegensatz zu den Früchten alkaloidfrei gefunden werden können. Nähere analytische Angaben fehlen bei JAVILLIER.

Zu den früheren Angaben über Alkaloidführung in Pfropfpartnern mit genetisch verschieden hohem Gehalt an gleichen Alkaloiden konnten zunächst keine neuen Beobachtungen gemacht werden.

Wenn man den *Ursachen* der festgestellten Befunde nachgehen will, so halten wir beim gegenwärtigen Stand der Untersuchungen allerdings die Zeit noch nicht für gekommen, um klare Entscheidungen treffen zu können. Es sollen darum auch nur ganz kurze Andeutungen gemacht werden, auf welchen Wegen die beobachtete Alkaloidführung zustande kommen kann.

Am nächsten liegt die Erklärung durch Wanderung, was auch den Vermutungen der meisten früheren Untersucher entsprechen würde. Die Wurzel wäre dann der ausschließliche Bildungsort der Alkaloide und würde der übrigen Pflanze von ihrem Alkaloidspiegel (der tatsächlich, besonders in den Faserwurzeln, recht hoch liegt, vgl. Versuch 1 und 2) abgeben.

Es besteht aber auch die Möglichkeit, daß von der Wurzel her eine hormonale Steuerung des Stoffwechsels des Sprosses erfolgt oder daß die Wurzel entscheidende Bausteine zur Alkaloidsynthese liefert, die dann an jeder beliebigen anderen Stelle der Pflanze mit dort zur Verfügung stehenden mehr oder weniger allgegenwärtigen Stoffen erfolgen kann.

Zu diesen Möglichkeiten wird auf Grund neuer Versuche in Kürze Stellung genommen werden.

Zusammenfassung.

1. Tomate, gepfropft auf blattlose oder beblätterte Tabakunterlage, führt Nicotin (90—100 mg-% in frischen Blättern). Das Nicotin wird durch Reaktionen auf den Pyridin- und den Pyrrolidinkern nach WENUSCH qualitativ nachgewiesen.

2. Tabak, gepfropft auf blattlose oder beblätterte Tomatenunterlage, ist nicotinfrei. Auch andere Alkaloide sind nur in Spuren nachweisbar.

3. Bei doppelten Pfropfungen, mit aufeinanderfolgendem Wechsel von genetisch nicotinführenden und -freien Partnern, wird deren Nicotinführung ebenfalls von der *wurzelnden* Unterlage bestimmt.

4. Die Ergebnisse 1 und 2 gelten sinngemäß auch für Pfropfungen zwischen Tollkirsche und Tomate, doch sind im Tollkirschenreis über Tomate mit der sehr empfindlichen Pupillenprobe Spuren von Tollkirschenalkaloid feststellbar.

5. Bei erstmals durchgeführten Pfropfungen *zweier* genetisch alkaloidführender Pflanzen wird die Alkaloidführung im Reis gleichfalls durch die wurzelnde Unterlage bestimmt: Bei der Pfropfung (Tabak) → Stechapfel enthalten Blätter und Stengel des Reises keine Stechapfel-Alkaloide (Pupillenprobe), wohl aber Nicotin (100—110 mg-% in frischen Blättern).

6. Es werden die Arbeiten früherer Autoren in ihren Ergebnissen zusammengestellt und in Beziehung zu den eigenen besprochen. Dabei wird der klar erkannte Einfluß der *wurzelnden* Unterlage, auch bei deren fehlenden Photosynthese, herausgestellt.

Schrifttum.

- Beilsteins Handbuch der organischen Chemie Bd. 23. Berlin 1936. — Daniel, L. et J. Ripert: Recherches sur les variations du chimisme chez les plantes greffées. C. r. Acad. Sci. Paris 177, 894 (1923). — Gstirner, F.: Handbuch der Galenischen Pharmazie. Berlin 1936. — Hasegawa, H.: On some experiments in raising a nicotine-free Tobacco plant. Botanic. Mag. 51, 306 (1937). — Javillier, M.: Sur la migration des alcaloïdes dans les greffes de Solanées sur Solanées. C. r. Acad. Sci. Paris 150, 1360 (1910). — Koenig, P. u. W. Dörr: Methodik der Nicotinbestimmung. Eine kritische Untersuchung. Z. Unters. Lebensmitt. 67, 113 (1934). — Krayevoy, S. I.: Über den Einfluß der Unterlage auf das Reis bei Solanaccen. Bull. Acad. Sci. URSS, Sér. Biol. 3, 371 (1941). Ref. Züchter 14, 102 (1942). — Meyer, A. u. E. Schmidt: Über die gegenseitige Beeinflussung der Symbionten heteroplastischer Transplantationen, mit besonderer Berücksichtigung der Wanderung der Alkaloide durch die Pfropfstellen. Flora (Jena) 100, 317 (1910). — Mothes, K.: Das Nicotin im Stoffwechsel der Tabakpflanze. Planta (Berl.) 5, 563 (1928). — Moskov, B. S. u. M. I. Smirnova: Pfropfung als Mittel zur Beeinflussung des Alkaloidgehaltes von Pflanzen. C. r. Acad. Sci. URSS, N. s. 24, 88—90 (1939). Ref. Ber. wiss. Biol. 54, 264 (1940); Bot. Zbl. 34, 267 (1940). — Pfyl, B. u. O. Schmitt: Zur Bestimmung von Nicotin in Tabak und Tabakrauch. Z. Unters. Lebensmitt. 54, 60 (1927). — Rasmussen, H. R.: Über die Bestimmung des Nicotins im Tabak und Tabakextrakten. Z. anal. Chem. 55, 81 (1916). — Späth, E. u. F. Kuffner: Tabak-Alkaloide. Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe, Bd. 2, S. 248. Wien 1939. — Wenusch, A.: Über den Nachweis des Nicotins. Fachl. Mitt. Oesterr. Tabakregie 1932, H. 2, S. 2; H. 3, S. 1; 1933, H. 1, S. 4. — Über den Nachweis kleinster Mengen von Nicotin. Z. Unters. Lebensmitt. 67, 601 (1934).
-