

ÜBER DIE QUANTITATIVE VERÄNDERUNG DER NATIVEN GIBBERELLIN-ARTIGEN STOFFE IN MIT RINDITE* STIMULIERTEN NEUEN KARTOFFEL-KNOLLEN¹

VON

I. SZALAI

Institut für Pflanzenphysiologie der József Attila Universität Szeged, Ungarn
(Eingegangen am 24. Febr 1965)

Einleitung

Es werden immer mehrere Beobachtungen bekannt, wonach die gibberellinartigen Stoffe in den höher organisierten Pflanzen — wenn auch nicht in allen — ähnlich wie die Auxine gebildet werden. MURAKAMI (1) hat die reife Samen von 18 aus *Compositae*, *Cucurbitaceae*-, *Solanaceae*- und anderen Familien stammenden verschiedenen Arten untersucht und in je 100 g Samengewicht 0,3—9,0 γ Gibberellin A₁ äquivalente Mengen gibberellinartige Stoffe gefunden. CLODE (2) beobachtete die Ausscheidung von Gibberellin bei keimenden Bohnensamen. MARGARA und MOREL (3) extrahierten aus den Blättern und Sprossen von *Beta vulgaris* während des Schossens und das Blühens einen gibberellinartige Stoffe. LANG (4) konnte aus den Blättern und den Vegetationspunkte von *Hyoscyamus niger*- Pflanzen unter Kurz-, und Langtagbedingungen gleichermaßen mehrere Gibberelline extrahieren, WHEELER (5) isolierte aus den Keimblättern und Primärblättern einer kanadischen Bohnenart, und HARADA und NITSCH (6) aus der langtägigen *Rudbeckia* und dem kurztagigen *Chrysanthemum* gibberellinartige Stoffe. SMITH und RAPPAPORT (7) sowie OKAZAWA (8) wiesen fast gleichzeitig nach, dass auch die Kartoffelknollen natürliche, gibberellinartige Verbindungen enthalten, die in den sprossenden Knollen fast das Zwanzigfache der bei frisch geernteten bzw. in der Ruhe befindlichen Knollen gefundenen Menge ausmachen. OKAZAWA (8) fand in allen Bestandteilen der Kartoffelpflanzen einen „gibberellinartigen“ Stoff, der seine höchste Aktivität während des intensivsten Wachstums erreichte und zwar in der Reihenfolge: Blätter < alte Triebteile < Knollen < Triebspitze < junge Triebe. Nach den Feststellungen von OKAZAWA SOWIE SMITH UND RAPPAPORT tauchte der Gedanke auf, ob wohl jene

* Rindite = Aethylenchlorid-Aethylendichlorid-Tetrachlor-kohlenstoff (7:3:1).

¹ Vorgetragen an dem *Internationales Symposium Physiologie, Ökologie und Biochemie der Keimung*, 8—14. September 1963. Greifswald (DDR)

Knollen, die unmittelbar nach dem Roden mit Rindite behandelt das heisst durch Brechen der Keimruhe zum Keimen gebracht worden sind, über endogenes Gibberellin verfügen. In meinen früheren Arbeiten (9, 10, 11, 12, 13) wies ich darauf hin, dass der Stoffwechselcharakter der mit Rindite behandelten neuen Kartoffelknollen sich von dem der spontan keimenden unterscheidet. Dieser Unterschied kam auch in der Gestaltung des Auxin- und Inhibitorenniveaus zum Ausdruck. Es ist daher nicht uninteressant zu untersuchen, ob in den Rindite-behandelten Knollen endogenes Gibberellin vorhanden ist und ob seine Menge die gleichen Änderungen erfährt wie in den spontan keimenden Knollen.

Material und Methoden

Die Extraktion des Gibberellins erfolgte mit der von uns modifizierten Methode von WEST und PHINNEY (14).

Extraktion aus den Kartoffelschalen: 600 g Schalen wurden zusammen mit den Sprossen in 200 ml destilliertem Wasser im „Turmix“-Apparat homogenisiert, nach Zugabe von 800 ml Azeton 24 Stunden bei 2° C unter häufigem Umschütteln mazeriert, der Extrakt abgesehen der Rückstand zweimal mit einem Azeton-Wasser-Gemisch (800:200) ausgewaschen und die vereinigten Extrakte im Vakuum auf $\frac{2}{3}$ Volum eingengt.

Absorption und Eluierung. Der Extrakt wurde mit aktiver Tierkohle (10 g/l) zwei Stunden lang gerührt, abgenutscht und danach das Filtrat noch zweimal auf die gleiche Weise mit aktiver Tierkohle behandelt. Die drei Kohle-Portionen wurden vereint, auf der Nutsche mit bidestilliertem Wasser gewaschen, dann 30 Minuten bei 40° C mit Azeton (1 Teil Kohle, 6 Teile Azeton) ständig gerührt und durch die Nutsche filtriert. Mit der Kohle wurde die gleiche Prozedur noch zweimal wiederholt, dann die drei Azetonfraktionen vereint und im Wasserbad von 50–55° C bei 12 Hg-mm Druck eingedampft.

Aethylazetat-Extraktion. Der wässrige Rückstand wurde zweimal je 30 Minuten mit Aethylazetat (1:1) ausgeschüttelt, die beiden Aethylazetatfraktionen zusammengewaschen und zweimal je 30 Minuten in $\frac{1}{4}$ Volum Phosphatpuffer vom pH 6,2 übergewaschen. Der pH-Wert des pufferhaltigen Anteils wurde mit n HCl auf 3,0 pH eingestellt und derselbe dreimal mit Aethylazetat ausgeschüttelt, die vereinigten Aethylazetatfraktionen bei 32° C am Wasserbad im Vakuum vollkommen eingedampft und dann mit wenig Aethylazetat aufgenommen.

Chromatographie. Die eingengten Substanzen wurden auf Schleichers & Schüll'schem Filterpapier 2043/b mit der „Chromatopack“-Methode von PORTER (15) im aufsteigenden System bis zu 20 cm Höhe in einem Azeton: n-Butylalkohol: Ammonium-hydroxyd (0,9 spez. Gew.): Wasser-Solvens (25:25:10:15) entwickelt. Das Gibberellin als orientierende Standardsubstanz wurde auf jedes Papier mit aufgetragen. Zum Nachweise der Rf-Werte verwendeten wir die mit Schwefelsäure hervorgerufenen Fluoreszenz. Nach der Markierung der Gibberellinflecken wurden aus dem Papier ($\pm 1,5$ cm vom Zentrum des Gibberellin-Fleckes mit seinem Rf-Wert von 0,7 entfernt) 3 cm breite Streifen geschnitten und deren Aktivität bestimmt.

Test-Untersuchung. Der Gibberellin Gehalt der Chromatogrammflecken wurde nach FRANKLAND und WAREING (16) an eineinhalb Tage alten, im Dunkeln bei 25° C aufgezogenen *Lactuca sativa*-Keimpflanzen ermittelt. Als Indikator diente das zweitägige Wachstum des Hypokotyls von unter Lichtröhrenbeleuchtung bei 20° C gezüchteten Pflänzchen. Die Gibberellinaktivität wurde an Hand der Standard-Kurve (Abb. 1) bestimmt.

Experimentelle Ergebnisse

In der ersten Versuchsreihe haben wir im Frühjahr des Jahres 1963 Versuche mit den vorjährigen, das heisst die Ruheperiode überstandenen Knollen der Sorte „Frühe Rose“ angestellt. Die Knollen wurden bei 20° C im Gewächshaus

in feuchtem Sande zum Keimen gebracht und zu vier verschiedenen Zeitpunkten Proben entnommen, um den Gibberellin Gehalt der sprossenden Knollen zu bestimmen.

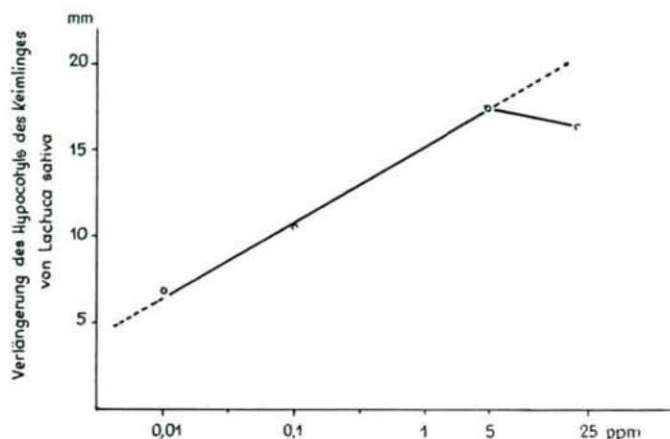


Abb. 1.: Eichkurve der Verlängerung mit verschiedenen Konzentrationen der GA_3 behandelten *Lactuca sativa* Hypokotyle

In der zweiten Versuchsreihe wurden Ende Juni (dieses Jahres) geerntete und mit Rindite behandelte neue Knollen der gleichen Sorte im Gewächshaus bei 24–25 °C in feuchten Sandgeplanz. Gegenüber den Kontrollen wurden auch hier zu vier verschiedenen Keimungsphasen Proben entnommen und auf ihren Gibberellin Gehalt untersucht. Bevor ich an die Besprechung der Ergebnisse der beiden Versuchsreihen gehe, möchte ich die wichtige Tatsache erwähnen, dass die mit Rindite stimulierten Knollen die einzelnen Phasen der Keimung innerhalb wesentlich kürzerer Zeit durchmachten, das heisst, die Triebe schneller an der Erdoberfläche erschienen, als im Falle der spontan keimenden Knollen. Binnen 15 Tagen nach der Behandlung konnten allen vier Proben entnommen werden, während die spontan keimenden Knollen zur Erreichung ähnlicher Entwicklungsgrade 28 Tage benötigten.

Abbildung 2 veranschaulicht, wieviel γ GA_3 äquivalente gibberellinartige Substanz — auf Grund der Verlängerung des Hypokotyls der Salatkeimling — die Knollen in den einzelnen Phasen der Keimung — auf 100 g frische Substanz berechnet — enthalten. Wie wir sehen, ist die Gibberellinmenge in den verschiedenen alter Knollen (vorjährige und neue) nicht identisch, und auch die Kurven sind abweichender Art. Das endogene Gibberellinniveau ist bei den reifen, in der Ruhe befindlichen Knollen wesentlich niedriger als in den — ebenfalls ruhenden — neuen Knollen. Zu Beginn der Keimung ist die Gibberellinmenge vorübergehend vermindert, um dann zu steigen und bei den energisch keimenden, 3–6 cm lange Sprossen aufweisenden Knollen fast das Dreifache zu erreichen. Im Gegensatz hierzu liess in den mit Rindite stimulierten Knollen der ursprünglich vorhandene Gibberellin Gehalt im Laufe des Keimungsprozesses ständig nach.

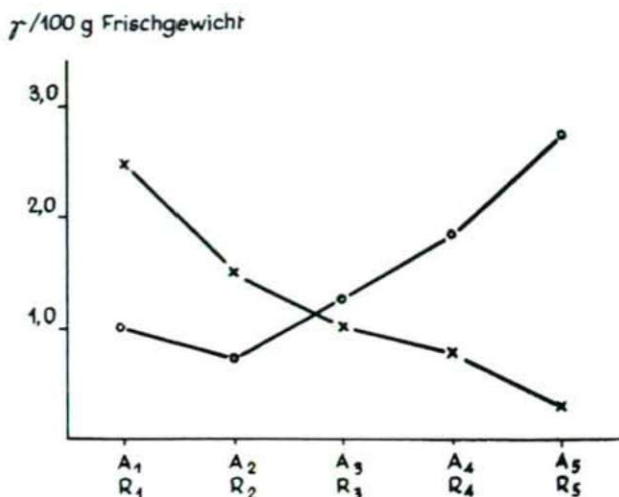


Abb. 2.: Veränderung des Gibberellinsäuregehaltes in den spontan keimenden —o—, bzw. mit Rindite stimulierten —x— Kartoffelknollen in den aufeinanderfolgenden Keimphasen. Die Zeichnungen: A₁ A₂ A₃ A₄ und A₅ bedeuten je 7-tägige, bzw. R₁ R₂ R₃ R₄ und R₅ je 3-tägige Intervalle

Besprechung

Ein Vergleich dieser Versuchsergebnisse mit den Befunden von SMITH und RAPPAPORT (7) lässt feststellen, dass auch die ungarische Sorte „Frühe Rose“ über endogenes Gibberellin verfügt, dessen Menge die in der „Red Pontiac“ enthaltene wesentlich übersteigt. Die zitierten Autoren benutzten als biologische Testobjekte Zwerg-Maismutanten, ich aber *Lactuca*-Keimflanzen, so dass die quantitative Vergleichstellung irreal ist. Es ist aber anzunehmen, dass hinsichtlich des endogenen Gibberellin gehaltes zwischen den Sorten wesentliche Unterschiede bestehen können. Viel augenfälliger ist die Tatsache, welche die Rinditebehandelten neuen Knollen in ihren einzelnen Keimungsphasen betreffs des Gibberellin gehaltes erkennen lassen.

Der Verlauf der Kurve lässt verschiedene Schlussfolgerungen zu:

1. Es ist anzunehmen, dass der Gibberellinbestand der neuen Knollen für die Keimung, zur Bildung normaler Sprosse bzw. zur Verlängerung derselben ausreichen ist. In diesem Falle würde die absteigende Kurve dessen fast vollkommenen Verbrauch anzeigen.

2. Man kann auch daran denken, dass möglicherweise während der kurzen Triebzeit der mit Rindite stimulierten Knollen (14 Tage) die Gibberellinsynthese noch nicht eingesetzt hat, bzw. ihre quantitative Vermehrung noch keine bedeutende ist.

3. Es ist auch vorstellbar, dass in den auf die Wirkung der Rindite-Behandlung zustandekommenden Veränderungen der Stoffwechselforgänge, die Bedingungen für eine Gibberellinsynthese nicht gegeben sind. Dies wiederum würde die Annahme wahrscheinlich machen, dass zum Austreiben der Knollen

sogar auch die im Ruhezustand vorhandene Gibberellinmenge genügend ist, das heisst, die bei der spontanen Keimung beobachtete, bedeutende Erhöhung des Gibberellin gehaltes als eine „überflüssige“ Überproduktion anzusehen wäre.

Diese letztere Hypothese scheinen die früheren Untersuchungen von SZALAI (10, 11, 12 und 13) zu bekräftigen, die ich zur Aufdeckung der Stoffwechselforgänge in den mit Rindite stimulierten Kartoffelknollen angestellt hatte und nach denen die quantitativen Verhältnisse sowohl der freien Aminosäuren und des Vitamin C, als auch der Verbindungen mit Indolgerüst und des β -Inhibitorenkomplexes bei künstlich stimulierten und spontan keimenden Knollen verschiedene sind.

Die angeführten Hypothesen bedürfen natürlich weiterer Beweise, denn nur auf Grund von mit mehreren Sorten durchgeführten, mehrfach wiederholten Versuchen und übereinstimmenden experimentellen Ergebnissen können gültige Feststellungen über die Gestaltung des endogenen Gibberellinniveaus bei spontan keimenden und mit Rindite angeregten Knollen gemacht werden.

Zusammenfassung

Wir haben die Gestaltung der endogenen Gibberellinmenge in spontan keimenden und mit Rindite stimulierten Kartoffelknollen der Sorte „Frühe Rose“ in verschiedenen Phasen der Keimung untersucht.

1. Es konnte festgestellt werden, dass das native Gibberellinniveau der reifen, in der Ruhe befindlichen Knollen niedriger ist als bei den unreifen, das heisst neuen Knollen derselben Sorte.

2. In Übereinstimmung mit den früheren Beobachtungen von SMITH und RAPPAPORT steigt auch in der Sorte „Frühe Rose“ im Laufe der Keimung der natürliche Gibberellin gehalt, und zwar annähernd auf das Dreifache der Ausgangsmenge. In den mit Rindite stimulierten neuen Kartoffelknollen zeigt das Gibberellinniveau im Laufe des Keimungsprozesses durchwegs abfallende Tendenz.

Nach unseren Feststellungen ist — ähnlich wie die quantitative Veränderung anderer Stoffe — auch die Gestaltung des Gibberellinniveaus bei künstlich stimulierten Knollen eine andere als die in den spontan keimenden Knollen gefundene.

Schrifttum

1. MURAKAMI, Y.: The occurrence of gibberellins in mature dry seeds. Bot. Magaz. 72: 438—442. (1959 b).
2. CLODE, J. J.: Note on gibberellin-like excretions from germinating beans, Port. Acta Biol. Ser. A 6: 75—76 (1959).
3. MARGARA, J. et MOREL, G.: Mise en évidence d'une substance du type gibbérelline chez plusieurs espèces du genre *Beta*. C. R. Acad. Sci. (Paris) 250: 749—751 (1960).
4. LANG, A.: Gibberellin-like substances in photoinduced and vegetative *Hyoscyamus* plants. Planta 54: 498—504 (1960).
5. WHEELER, A. W.: Changes in a Leaf-growth Substance in Cotyledons and Primary Leaves during the Growth of Dwarf Bean Seedlings J. exp. Bot. 11: 217—226. (1960).
6. HARADA, H., and NITSCH, J. P.: Changes in endogenous growth substances during flower development. Plant. Phys. 34: 409—415 (1959 b).

7. SCHMITH, O. E., RAPPAPORT, L.: Abstracts, Meeting Am. Soc. Plant Physiol., AAAS Meetings, San Diego, Calif. June 16—18, (1959).
8. OKAZAWA, Y.: Studies on the occurrence of natural gibberellin and its effect on the tuber formation of potato plants. Proc. Crop. Sci. Soc. Japan 28: 129—133 (1959).
9. SZALAI, I.: Ergebnisse Untersuchungen über die stoffwechselphysiologischen Grundlagen des Aktivitätwechsels der Kartoffelknolle. Acta Biol. Szeged, 35—47 (1959).
10. SZALAI, I.: Verteilung und Veränderung der freien Aminosäuren in den mit Rindite behandelten jungen Kartoffelknollen in den verschiedenen Keimungsstadien. Acta Biol. Szeged, 4: 17—21 (1958).
11. SZALAI, I.: Quantative changes of growth-promoting and inhibiting substances in the potato tubers treated with rindite. Physiol. Plantarum, 12, 237—344 (1959).
12. SZALAI, I.: Tryptophane contents of new potato tubers forced by rindite in the different phases of the germination. Physiol. Plantarum, 12: 155—161 (1959).
13. SZALAI, I.: Effect of rindite on the Vitamin-C content in new potato tubers during the sprouting. Acta Biol. Hung. 9: 245—252 (1959).
14. WEST, C. A., and PHINNEY, B. O.: Gibberellins from flowering plants. I. Isolation and properties of a gibberellin from *Phaseolus vulgaris* L. J. Amer. Chem. Soc. 81: 2424—7. (1959).
15. FRANKLAND, B., and WAREING, P. F.: Effect of gibberellic acid on hypocotyl growth of lettuce seedlings. Nature 185, 255—256 (1960).

* * *

Anschrift des Verfassers: Professor I. SZALAI, Institut für Pflanzenphysiologie der József Attila Universität. Szeged 428. (Ungarn).