liche RNS-Änderungen erfolgen: 1. Im Kernsaft der Ei- und Furchungskerne von Cyclops, der in der Interphase keine nachweisbare RNS enthält, sammelt sich in der Prophase RNS an, und zwar bereits zu einer Zeit, in der die Kernmembran und z. T. die Nucleolen noch nicht aufgelöst sind. 2. Die RNS des Kernsaftes läßt sich in der intranucleär entstehenden Spindel wieder vorfinden. Wie weit diese RNS-Umsetzungen der Kernteile mit den während der Prophase im Cytoplasma nachweisbaren RNS-Änderungen³ in Korrelation stehen, bleibt noch eine offene Frage.

¹⁸ H. Stich, Chromosoma [1951] (unveröffentlicht).

Neben einer RNS-Ansammlung im Kernsaft des Prophasekernes und der Teilungsspindel konnten in diesen Strukturen auch Polysaccharide nachgewiesen werden¹⁸. Hiermit sind die in der Mitose ablaufenden Stoffwechselvorgänge zweier Stoffe z. T. aufgedeckt, die mit der Spindelbildung in Verbindung gebracht werden können. Bei einer Zurückführung von Kernanomalien, die nach Bestrahlung oder nach Einwirkung von Mitosegiften auftreten, auf die Störung des Stoffwechsels der Nucleinsäuren oder der Kohlenhydrate, wird man diese extrachromosomalen Prozesse ebenfalls in Erwägung ziehen müssen.

Vorkommen und Bedeutung von Blastokolinen in fleischigen Früchten

VON FRANZ MOEWUS, LISELOTTE MOEWUS und ELISABETH SCHADER

Aus dem Max-Planck-Institut für medizinische Forschung, Heidelberg

(Z. Naturforschg. 6b, 261—270 [1951]; eingegangen am 10. Mai 1951)

Es wird eine Übersicht über die chemische Natur und biologische Bedeutung der Blastokoline gegeben. Als Testobjekte zum Nachweis von Blastokolinen eignet sich ein Standard-Saatgut, dessen Keimungsbedingungen bestens bekannt sind (Kresse, Weizen). Zum quantitativen Vergleich ist nicht nur die Feststellung des Keimprozentsatzes, sondern auch der Wurzellänge notwendig. Es wurde die Wirksamkeit von 167 Extrakten aus fleischigen Früchten bestimmt.

Blastokoline sind genuine Stoffe, die die biologische Funktion der Keimungshemmung haben. Nachgewiesen ist ihr Vorhandensein in fleischigen Früchten, Samen, Pollenkörnern und Zygoten.

1. Die chemische Natur der Blastokoline

In seinen Untersuchungen „Über eine keimungshemmende Substanz in fleischigen Früchten“ kommt Köckemann¹ zu folgendem Ergebnis: Preßsäfte von Äpfeln, Birnen, Quitten, Feigen und Tomaten enthalten einen Stoff, der die Keimung von Kressesamen hemmt. Er meint, daß es sich um einen allgemein verbreiteten Stoff handeln müsse, dem er den Namen Blastokolin (*βλαστανειν* = keimen, *χωλνειν* = hindern) beilegt. In einer weiteren Arbeit² nimmt er noch einmal „Zur Frage der keimungshemmenden Substanzen in fleischigen Früchten“ Stellung. Er bleibt dabei, daß „die Arbeiten von Oppenheimer³, Fukaki⁴, Reinhard⁵ und Köckemann¹ die Existenz einer hitzebeständigen, leicht oxydablen, äther- und wasserlöslichen Säure, welche

in reifen Früchten und deren Säften das Auskeimen von Samen verhindert, bewiesen haben“. Allerdings gibt er zu, daß „eine chemische Charakterisierung dieses Stoffes bis heute nicht geglückt ist“.

Im Jahre 1859 isolierte Hofmann⁶ aus reifen Früchten von *Sorbus aucuparia* (Vogelbeeren) das rechtsdrehende Sorbinöl (Parasorbinsäure, Hexen-(2)-olid-(5.1). Kuhn und Jerchel⁷ bewiesen durch Abbau und Synthese die Konstitution dieser Verbindung. Sollte sie das von Köckemann vermutete Blastokolin fleischiger Früchte sein? Tatsächlich stellte es sich heraus, daß die Keimung von Kressesamen noch in Verdünnungen von 1:1000 gehemmt wurde⁸. Bestünde die Annahme von Köckemann zu Recht, so müßte die Parasorbinsäure in allen fleischigen Früchten für die Keimungshemmung verantwortlich sein.

¹ A. Köckemann, Ber. dtsch. Bot. Ges. 52, 523 [1934].

² A. Köckemann, Beih. z. Bot. Zbl. A 55, 191 [1936].

³ H. Oppenheimer, S.-B. Akad. Wiss. Wien, Abt. I 131, 59, 279 [1922].

⁴ S. Fukaki, Bul. Sci. Fak. Terkultura, Kjusu Imp. Univ. Fukuoka, Japanujo 4 [1930].

⁵ A. W. Reinhard, Planta 20, 792 [1933].

⁶ A. W. Hofmann, Liebigs Ann. Chem. 210, 129 [1859].

⁷ R. Kuhn u. D. Jerchel, Ber. dtsch. chem. Ges. 76, 413 [1943].

⁸ R. Kuhn, D. Jerchel, F. Moewus, E. F. Möller u. H. Lettré, Naturwiss. 31, 468 [1943].

Wir begannen im Jahre 1939 gemeinsam mit F. Weygand Tomatenmark zu untersuchen, um die chemische Natur des Blastokolins aufzuklären⁹. Es wurde damals eine hochwirksame Fraktion erhalten. Nach Weygand¹⁰ hatte aber das Tomaten-Blastokolin nicht die Eigenschaften des Hexenolids aus Vogelbeeren. A. M. Akkerman und Veldstra¹¹ isolierten später aus Tomaten zwei Säuren, die für die keimungshemmende Wirkung des Fruchtfleisches verantwortlich gemacht werden: Kaffeesäure (3,4-Dioxyzimtsäure) und Ferulasäure (3-Methoxy-4-oxy-zimtsäure). Damit war bewiesen, daß es nicht *ein* allgemein verbreitetes Blastokolin gibt, sondern daß in fleischigen Früchten Stoffe enthalten sind, die chemisch verschiedenen Klassen angehören können, denen aber eine keimungshemmende Wirkung gemeinsam ist.

2. Die biologische Bedeutung der Blastokoline

Der Beweis für die biologische Bedeutung dieser genuinen Stoffe für die Pflanze ist die Austestung mit den arteigenen Samen. Wir haben Preßsäfte von Tomaten mit frischen, aus den Früchten isolierten Samen zu testen versucht. Jedoch setzte während der langen Keimzeit ein starker Pilzbefall ein, so daß die Versuche nicht ausgewertet werden konnten. Eine Pilzinfektion ändert die physiologischen Bedingungen im Keimbett, weil Hemmstoffe und Wuchsstoffe von dem Pilz gebildet und ausgeschieden werden können. Versuche mit Samen von *Sorbus aucuparia*, die im arteigenen Fruchtextrakt zur Keimung ausgelegt wurden, scheiterten ebenfalls an der auftretenden Pilzinfektion. Die Samen keimten selbst in den Wasserkontrollen nicht aus. Reinhard⁵ hat 1933 die Wirkung von Tomatensaft auf Tomatensamen geprüft. Wie aus seiner Arbeit hervorgeht, hemmt dieser nicht nur die Keimung, sondern auch das Wachstum der Keimlingswurzeln. In diesem Fall dürfte die biologische Bedeutung der Stoffe, die im Fruchtfleisch vorhanden sind und die die Keimung der reifen, wasserreichen Samen innerhalb der Frucht verhindern, wohl als bewiesen gelten.

Paech¹² untersuchte das Verhalten von Kakao-samen verschiedenen Reifegrades, die er mit und ohne Schleimhüllen zur Keimung brachte. Reife

Samen keimten sowohl mit als auch ohne Schleimhülle aus. Daraus wurde gefolgert, daß in den Hüllen der reifen Samen keine spezifischen Keimhemmstoffe vorhanden sind. Der Versuch, unreife Samen von ihren Hüllen zu befreien oder gründlich auszuwaschen und dann auf ihre Keimfähigkeit zu prüfen, wurde leider nicht gemacht. Daß die Schleimhüllen dennoch Stoffe enthalten, welche einen Einfluß auf die Keimung haben, wurde mit Kresse nachgewiesen. Es wurden Extrakte aus Schleimhüllen hergestellt und darin Kressesamen zur Keimung gebracht. Es ließ sich feststellen, daß in reifen und überreifen Schleimextrakten weniger Hemmsubstanzen enthalten sind. Die gebotenen Konzentrationen vermögen nur noch eine hemmende Wirkung auf das Wachstum der Kressewurzel auszuüben, nicht aber die Keimung zu verhindern. Paech sieht in dem verschiedenen Verhalten von Kressesamen und Kakao-samen gegenüber Hemmstoffen reifer Hüllen den Beweis, daß es sich um keine spezifischen Keimungshemmstoffe handeln könne. Sie erfüllen nicht die biologische Funktion der Keimungshemmung gegenüber dem arteigenen Samen. Das Auskeimen von Samen innerhalb überreifer Früchte, das Paech ebenfalls als Beweis anführt, ist nicht überraschend, da „es immer nur dann beobachtet wurde, wenn das Perikarp von Schimmelpilzen befallen war“. Tab. 7 zeigt, daß es einige unter den geprüften Fruchtextrakten gibt, bei denen mit Kresse eine Abnahme des Hemmstoffgehaltes während der Reife festgestellt wurde. Zumeist ist jedoch eine Zunahme gefunden worden. Die Prüfung, wie sich Extrakte verschiedener Reifegrade gegenüber arteigenen Samen verhalten, ist von uns nicht durchgeführt worden. Aber auch Paech hat nicht den Versuch gemacht, reife Samen in Extrakten unreifer Hüllen zum Keimen zu bringen. Die von Paech erhaltenen Ergebnisse können die Befunde von Reinhard nicht entkräften, so daß die biologische Bedeutung der Blastokoline fleischiger Früchte nicht bezweifelt werden kann¹³.

3. Testobjekte zum Nachweis von Blastokolinen

Wie eben beschrieben wurde, ist der Nachweis spezifischer Keimungshemmstoffe in einem Fruchtextrakt mit arteigenem Samen nur schwer zu erbrin-

⁹ F. Moewus, FIAT Review of German Science. Biochemie 2, 185 [1948].

¹⁰ F. Weygand, Die Chemie 56, 236 [1943]. Diskussionsbemerkung.

¹¹ H. Veldstra, Rec. trav. chim. Pays-Bas. 66, 411 [1947].

¹² K. Paech, Z. Naturforsch. 4b, 46 [1947].

¹³ Die Zahl der Kakao-Früchte (5!) und Samen (etwa 100!), mit denen Paech experimentiert hat, ist so gering, daß aus den erhaltenen Ergebnissen keine entscheidenden Schlußfolgerungen gezogen werden können.

gen, da die Samen oft wochen- oder monatelang im Keimbett ruhen, bevor sie zu keimen beginnen, auch wenn ihnen reines Wasser geboten wird. Ein Standard-Saatgut, dessen Keimungsbedingungen bestens bekannt sind, und das in Wasser in kurzer Zeit zu annähernd 100% keimt, ist also die direkte Voraussetzung für vergleichende Versuchsreihen. Seit Wiesner¹⁴ werden dazu Kressesamen (*Lepidium sativum*) verwendet. Evenari und Mitarbeiter¹⁵, die ausgedehnte Versuche auf diesem Gebiete ausgeführt haben, nehmen mit gleichem Erfolg Weizen. In der Evenari-Schule wurde festgestellt, daß sich verschiedene Samensorten gegen einen Fruchtextrakt verschieden empfindlich erweisen. Zum Beispiel hemmt Tomatensaft bei einer Verdünnung von 1:25 die Keimung von Kressesamen zu 100%. Bei Weizen muß für den gleichen Effekt eine Verdünnung von 1:4 angewendet werden. Fruchtextrakt der Zuckerrübe, 1:4 verdünnt, hemmt *Amaranthus*-Samen zu 100%, Kressesamen zu 96%, während er auf Samen von *Ipomoea purpurea* keinerlei hemmenden Einfluß hat. Kressesamen ist also sehr empfindlich. Er ist bestens als Testobjekt zum Nachweis keimungshemmender Stoffe geeignet. Man muß sich nur im Klaren sein, daß mit der leicht zu beeinflussenden Kresse noch geringe Mengen von Hemmstoffen nachweisbar sind, die für den arteigenen Samen bereits unwirksam sein könnten, wie es bei Kakaosamen der Fall zu sein scheint. Eine bei Kresse erreichte Keimhemmung ist nicht ohne weiteres gleichzusetzen mit dem Nachweis eines artspezifischen, biologisch wirksamen Blastokolins. Jeder Test ist ein Modellversuch, bei dem die natürlichen Bedingungen nur teilweise erfüllt sind. Es ist aber unmöglich, größere Serienvergleichender Untersuchungen auszuführen, wenn Versuchsbedingungen und Versuchsobjekte nicht bis zum höchstmöglichen Grade standardisiert sind. Eine erste Voraussetzung für die Austestung von Fruchtextrakten ist eine kurze Versuchszeit, um Veränderungen im Keimbett durch Bakterien- und Pilzbefall möglichst einzuschränken. Die schnellkeimende Kresse ist deshalb Weizen und anderen Samen vorzuziehen.

4. Quantitative Bestimmung des Blastokolin-Gehaltes

Um graduelle Unterschiede in der Wirksamkeit verschiedener Preßsäfte zu finden, müssen Verdünnungsreihen hergestellt werden, da unverdünnte

Preßsäfte fast stets die Keimung von Kresse völlig unterdrücken. Die Verdünnungsreihen können nach zweierlei Gesichtspunkten bereitet werden. 1. Man versucht, für jeden Preßsaft die Grenzkonzentration zu finden, bei der die hemmende Wirkung gerade aufhört. Dies läßt sich mit einiger Sicherheit feststellen, wenn kleinste Verdünnungsstufen geprüft werden (1:1, 1:2, 1:3 usw.). In der Versuchspraxis erweist sich diese Methode als umständlich. Die Ergebnisse der einzelnen Versuche lassen sich nur schwer reproduzieren und sichern. 2. Man wählt größere Intervalle, aber stets die gleichen (unverdünnt, 1:10, 1:100). Gleichzeitig wird eine Wasserkontrolle angesetzt. Dann werden die gekeimten Samen jeder Versuchsschale ausgezählt und prozentual auf die Wasserkontrolle bezogen, die gleich 100 gesetzt wird. Ein solches Versuchsergebnis besteht also in 3 Zahlen. Die Intervalle sind meist zu weit voneinander entfernt, so daß die Grenzkonzentration nicht erfaßt wird. Bei unseren Versuchen (vgl. Tab. 1—7) zeigte oft die 1:10-Verdünnung keine Keimhemmung mehr, oder einen Wert, der dicht bei der Wasserkontrolle oder bei „ungekeimt“ liegt.

Die Evenari-Schule¹⁵, die kleinere Verdünnungsintervalle anwendet (1:2, 1:4, 1:8, 1:16 usw.) findet graduell abgestufte Keimprozente bei den einzelnen Lösungen. Wir zogen trotzdem die Anwendung größerer Verdünnungsstufen vor, und zwar aus folgenden Gründen. Es wird immer wieder der Einwand erhoben, daß die Keimhemmung in fleischigen Früchten nicht durch einen spezifischen Keimungshemmstoff bedingt sei, sondern daß andere Faktoren im Fruchtfleisch dafür verantwortlich zu machen wären¹⁶: der hohe Zuckergehalt, hohe Acidität, Gerbstoffgehalt usw. Wir haben die einzelnen Faktoren eingehend untersucht⁹ — ebenso auch die Evenari-Schule — und fanden, daß sie zwar in natürlichen Preßsäften durch Summation eine keimungshemmende Wirkung entfalten können. In einer 1:10-Verdünnung ist z. B. bereits der pH -Faktor für die Keimungshemmung unwesentlich geworden, wie aus den Tab. 1—7 überall hervorgeht. Speziell für Tomatensaft ist von Konis¹⁷ nachgewiesen worden, daß der osmotische Druck die Keimungshemmung nicht bedingt, ebensowenig die Wasserstoffionenkonzentration. Pflanzliche Preßsäfte enthalten in der Regel neben Hemmstoffen auch Wachstumsstoffe. Heteroauxin hemmt in konzentrierteren Lösungen natürlich auch die Keimung von Kressesamen, wie eine im Jahre 1944

¹⁴ J. Wiesner, S.-B. Akad. Wiss. Wien, Abt. I 103 [1894].

¹⁵ M. Evenari, Botanic. Rev. 15, 153 [1949].

¹⁶ W. Tetjarew, Planta 32, 211 [1941/42].

¹⁷ E. Konis, Palest. J. Bot., Jerusalem, Ser. 2, 6 [1940].

Nr.	Sorte	Keimungshemmung in %			Wachstumshemmung in %			p_H des Preßsaftes
		1	1:10	1:100	1	1:10	1:100	
1	Große Fleisch	100	100	0	100	100	61	4,5
2	Radio	100	100	2	100	100	23	4,2
3	Vater Rhein	100	27	0	100	89	14	4,2
4	Dänischer Export	100	2	2	100	85	32	4,2
5	Undefatigable	100	7	8	100	44	26	4,1
6	Heterosis	100	6	0	100	69	10	4,3
7	Immun	100	2	+ 2	100	56	22	4,4
8	Niederer Busch × Blondköpfchen	2	4	3	94	90	29	4,3
9	Lucullus	7	1	0	83	20	14	4,2
10	Rote Kirsch	54	52	+ 1	93	93	17	4,2

Tab. 1. Die Wirkung von Preßsäften von zehn verschiedenen Tomatensorten im Keimungs- und Wachstumstest. Angegeben sind die prozentualen Hemmungen gegenüber der Wasserkontrolle im unverdünnten Preßsaft (1) und in den 1:10- sowie 1:100-Verdünnungen. + bedeutet Förderung. Reife Früchte.

Nr.	Art bzw. Sorte	Keimungshemmung in %			Wachstumshemmung in %			p_H des Preßsaftes
		1	1:10	1:100	1	1:10	1:100	
1	<i>Rosa canina</i>	100	100	5	100	100	17	4,0
2	<i>Rosa rugosa</i>	100	27	1	100	92	5	4,1
3	<i>Rubus idaeus</i>	100	56	+ 1	100	91	22	3,3
4	<i>Rubus idaeus</i>	100	100	2	100	100	9	3,2
5	<i>Rubus laciniatus</i>	100	100	+ 4	100	100	+ 4	3,0
6	<i>Rubus nitidus</i>	100	100	+ 5	100	100	+ 5	3,7
7	<i>Fragaria vesca</i>	100	100	6	100	100	8	3,5
8	<i>Fragaria vesca</i>	100	100	1	100	100	5	3,5
9	Monatserdbeere	100	100	5	100	100	41	3,8
	Gartenerdbeeren:							
10	Königin Luise	100	100	6	100	100	24	3,5
11	Oberschlesien	100	100	3	100	100	29	3,5
12	Madame Moutot	100	100	3	100	100	40	3,5
		1:1000 = 1			1:1000 = 12			

Tab. 2. Die keimungs- und wachstumshemmende Wirkung von Preßsäften verschiedener Rosoideenfrüchte. Die zwei Bestimmungen bei 3 und 4 sowie 7 und 8 liegen 4 Wochen auseinander.

durchgeführte Austestung ergab. Bei 10^{-6} g/ccm ist die Keimung nur noch zu 14 % gehemmt, ab 10^{-7} g/ccm wird sie nicht mehr beeinflusst. Im unverdünnten Preßsaft sind die Wuchsstoffkonzentrationen jedoch wesentlich geringer, so daß die Wuchsstoffe die Keimung im Preßsaft nicht hemmen.

Geht man also von der Voraussetzung aus, daß es spezifische, hochwirksame Keimungshemmstoffe gibt, dann ist es vorteilhaft, mit solchen Verdünnungsstufen zu arbeiten, bei denen man sich bereits jenseits der Wirksamkeitsgrenze der ebenfalls keimhemmenden Faktoren befindet. Betrachten wir die Ergebnisse, die mit Preßsäften von 5 *Sorbus*-Arten erhalten wurden:

Verdünnungsstufe:	Keimungshemmung in %			p_H des Preßsaftes
	1	1:10	1:100	
<i>Sorbus moravia</i>	100	100	9	3,2
<i>Sorbus torminalis</i>	100	100	2	4,1
<i>Sorbus aucuparia</i>	100	34	0	3,4
<i>Sorbus Aria</i>	100	20	1	4,2
<i>Sorbus domestica</i>	100	3	+ 4	3,2

Die beiden Arten mit dem niedrigsten p_H -Wert (3,2) hemmen in einem Fall bei 1:10 noch zu 100 %, im andern Fall nicht mehr (3 %). Daraus geht eindeutig hervor, daß die Hemmung nicht von der Acidität des natürlichen Saftes bedingt sein kann. Auch die anderen Werte sind nicht durch p_H -bedingte Keimungshemmung zu erklären. Aus den 1:10-Verdünnungen kann man schließen, daß die zwei ersten Arten und die letzte sich bestimmt im Gehalt ihrer Hemmstoffe unterscheiden. Bei den beiden mittleren Arten ist dies aus der 1:10-Verdünnung nicht ohne weiteres zu ersehen. Betrachtet man die 1:100-Verdünnung, dann kann bei allen 5 Arten nichts über eine unterschiedliche Wirksamkeit in diesem Bereich ausgesagt werden. Mit der Bestimmung der Keimprozentage können allgemein orientierende, vergleichende Aussagen über den Hemmstoffgehalt gemacht werden.

Eine weitere Charakterisierung der einzelnen *Sorbus*-Arten läßt sich durchführen, wenn man das

Nr.	Art	Keimungshemmung in %			Wachstumshemmung in %			p_H des Preßsaftes
		1	1:10	1:100	1	1:10	1:100	
1	<i>Sorbus moravica</i>	100	100	9	100	100	49	3,2
2	<i>Sorbus torminalis</i>	100	100	2	100	100	25	4,1
3	<i>Sorbus aucuparia</i>	100	34	0	100	93	13	3,4
4	<i>Sorbus Aria</i>	100	20	1	100	91	15	4,2
5	<i>Sorbus domestica</i>	100	3	+ 4	100	90	9	3,2
6	<i>Pirus salicifolia</i>	100	55	+ 1	100	92	5	3,3
7	<i>Pirus amygdaliformis</i>	100	31	1	100	92	24	3,9
8	<i>Pirus betulifolia</i>	100	18	3	100	92	16	3,8
9	<i>Pirus elaeagnifolia</i>	100	6	4	100	54	+ 3	4,0
10	<i>Pirus cordata</i>	100	2	2	100	44	+ 7	3,5
11	<i>Pirus communis</i> subsp. <i>nivalis</i>	100	+ 3	+ 1	100	22	+ 3	3,8
12	<i>Pirus communis</i> subsp. <i>sativa</i> „Alexander“	100	31	+ 3	100	92	6	4,5
13	<i>Malus arbutifolia</i>	100	42	1	100	92	+ 1	4,0
14	<i>Malus Scheideckeri</i>	100	14	0	100	92	+ 3	3,3
15	<i>Malus floribunda</i>	100	3	2	100	89	+ 1	3,9
16	<i>Malus cerasifera</i>	100	+ 2	3	100	61	3	3,0
17	<i>Malus orthocarpa</i>	100	7	2	100	55	0	4,0
18	<i>Malus baccata</i>	100	3	0	100	45	9	3,0
19	<i>Malus pumila</i>	100	1	+ 3	100	34	3	4,3
20	<i>Malus Graham</i>	100	+ 4	+ 2	100	6	0	3,2
21	<i>Malus communis</i> „Kasseler Renette“	100	3	+ 2	100	45	2	3,3

Tab. 3. Die keimungs- und wachstumshemmende Wirkung von Preßsäften aus Früchten der Pomoideen-Gattungen *Sorbus*, *Pirus* und *Malus*.

Nr.	Art bzw. Sorte	Keimungshemmung in %			Wachstumshemmung in %			p_H des Preßsaftes
		1	1:10	1:100	1	1:10	1:100	
1	<i>Prunus cerasus</i> (Schattenmorelle)	100	100	9	100	100	34	3,5
2	<i>P. avium</i> (rote Herz)	100	100	11	100	100	50	3,5
3	<i>P. avium</i> (schwarze Knorpel)	100	+ 4	1	100	68	12	3,8
4	<i>P. armeniaca</i> (Aprikose)	100	100	8	100	100	40	3,5
5	<i>P. domestica</i> (Mirabelle)	100	100	+ 5	100	100	22	3,8
6	<i>P. domestica</i> (Reineclaude)	100	100	1	100	100	10	3,2
7	<i>P. domestica</i> (Herbstzwetschge)	100	55	7	100	91	30	3,8
8	<i>P. domestica</i> (Lützelsachsener)	100	100	2	100	100	54	3,5
9	<i>P. domestica</i> (Eierpflaume)	100	100	30	100	100	79	3,5
10	<i>P. domestica</i> (Eisenkehl)	100	100	33	100	100	70	3,5

Tab. 4. Die keimungs- und wachstumshemmende Wirkung von Preßsäften aus verschiedenen *Prunus*-Früchten.

Verhalten der Wurzeln von Kresse-Keimlingen bei den einzelnen Verdünnungsstufen beachtet. Es zeigt sich, daß das Wurzelwachstum viel empfindlicher auf Hemmstoffe reagiert (vgl. Tab. 3). Jetzt findet man bei den 1:100-Verdünnungen noch eine deutliche Beeinflussung. Die Unterschiede im Hemmstoffgehalt der 5 Arten treten jetzt besser hervor. Die erste Art enthält etwa doppelt so viel wie die zweite und etwa 5-mal so viel wie die letzte Art. Bei allen untersuchten Preßsäften wurde deshalb neben der prozentualen Keimungshemmung auch die prozentuale Wachstumshemmung gegenüber der nicht beeinflussten Wasserkontrolle bestimmt, so daß ein Versuchsergebnis sich in 6 Zahlen ausdrückt. In keinem

Fall wurden Preßsäfte gefunden, die nur die Keimung, nicht aber das Wurzelwachstum hemmen. Andererseits wurden Säfte gefunden, die zwar das Wurzelwachstum hemmen, die Keimung aber nur wenig beeinflussen. Dies war aber nur bei einigen reifen Früchten der Fall (vgl. Tab. 7). Diesen beiden Beispielen wäre noch die Kakaofrucht zuzurechnen.

Mit Hilfe des eben beschriebenen Kresse-Testes, der eine Verbindung von Keimungs-Test und Wachstums-Test darstellt, wurden in den Jahren 1943—46 mehr als 500 verschiedene pflanzliche Extrakte auf ihre keimungs- und wachstumshemmende Wirkung untersucht. In allen Fällen wurde eine Hemmwirkung angetroffen, die bei den einzelnen Pflanzenarten je-

<i>Berberis</i>	Keimungs- hemmung in %	Wachstums- hemmung in %	p_H	<i>Berberis</i>	Keimungs- hemmung in %	Wachstums- hemmung in %	p_H
<i>Dealbata</i> 1	100	100	3,0	<i>Spathulata</i> 1: 1,5	100	100	2,9
1:10	28	89		1: 15	10	88	
1:100	+ 2	23		1:150	+ 4	9	
<i>Polyantha</i> 1	100	100	2,9	<i>Provincialis</i> 1:10	100	100	3,4
1:10	100	100		1:100	+ 7	61	
1:100	0	0		1:1000	+ 5	+ 9	
<i>Vulgaris</i> 1	100	100	3,9	<i>Hookeri</i> 1:10	100	100	3,3
1:10	5	89		1:100	1	79	
1:100	6	3		1:1000	+ 2	+ 1	
<i>Vernae</i> 1: 1,17	100	100	2,6	<i>Edworthiana</i> 1:10	100	100	3,0
1: 11,7	27	87		1:100	18	88	
1:117	0	0		1:1000	1	16	
<i>Crataegina</i> 1: 1,17	100	100	2,9				
1: 11,7	12	86					
1:117	+ 4	39					

Tab. 5. Die keimungs- und wachstumshemmende Wirkung von Preßsäften aus Früchten verschiedener *Berberis*-Arten. Die p_H -Werte der Preßsäfte sind stets unverdünnt bestimmt worden.

doch verschieden war. Im folgenden sollen die mit fleischigen Früchten erhaltenen Ergebnisse in Tabellenform zusammengestellt und kurz diskutiert werden. Besonders eingehend wurden Vertreter der Familien Solanaceen, Rosaceen und Berberidaceen untersucht.

5. Versuchsergebnisse

a) Solanaceen

Im Jahre 1944 waren wir in der Lage, 25 verschiedene Tomatensorten zu untersuchen, die uns von der Versuchs- und Forschungsanstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau in Geisenheim (Rhein) zur Verfügung gestellt wurden (Tab. 1). Nr. 1—7 stellt eine Reihe abnehmender Wirksamkeit dar. Auffallend ist das Verhalten von Nr. 8 und 9: Die unverdünnten Preßsäfte beeinflussen nicht die Keimung, wohl aber das Wurzelwachstum sehr stark. Ähnlich verhält sich Nr. 10. Die Sorten „verbesserte Zucker“ und „racemosum“ ähneln Nr. 1 und 2, „Frühbote“, „Kondine Red“, „Blondköpfchen“ Nr. 4, „Standard“, „Sieger“, „Riverside“, „Hellfrucht“, „Rheinlands Ruhm“, „Erste Ernte“, „gelbe Delikateß“ Nr. 5 und 6. Die Ergebnisse zeigen, daß in allen Preßsäften Hemmstoffe vorhanden sind, die die Keimung beeinflussen, noch empfindlicher aber das Wurzelwachstum. Durch diese Versuche sind wesentliche Sortenunterschiede erfaßt worden, während der Nachweis derartiger Hemmstoffe schon früher mehrfach erbracht worden ist¹⁸.

b) Rosaceen

Aus der Gruppe der Rosoideen wurden die Gattungen *Rosa*, *Fragaria* und *Rubus* untersucht (Tab. 2). Erdbeer-Extrakte sind sehr wirksam. Wie die Sorten „Königin

Luise“ und „Oberschlesien“ verhalten sich auch „Deutsches Memelland“ und „Hilgenstein“. Besonders viel Hemmstoffe enthält die Sorte „Madame Moutot“. Tetjuren¹⁶ vertrat die Ansicht, daß der Zuckergehalt vieler Früchte die keimungshemmende Ursache sei. Nach Beythien¹⁹ beträgt der durchschnittliche Zuckergehalt von Erdbeeren 6%. Keimungsversuche mit Kressesamen in Gegenwart verschieden konzentrierter Saccharose-Lösungen ergaben aber, daß eine 10-proz. Lösung die Keimung nicht, das Wachstum schwach beeinflusst, während eine 6-proz. Lösung weder Keimung noch Wachstum hemmt.

Aus der Gruppe der Pomoiden wurden Versuche mit den 3 Gattungen *Sorbus*, *Pirus* und *Malus* angestellt (Tab. 3). Das Material stammte größtenteils aus dem Heidelberger botanischen Garten. Vergleicht man die 3 Gattungen, dann ergibt sich, daß die Vertreter der Gattung *Sorbus* mehr Hemmstoffe enthalten als die der beiden anderen Gattungen. Bei den Arten jeder Gattung läßt sich eine Reihe abnehmender Wirksamkeit der Preßsäfte aufstellen. Die Kulturformen (Nr. 12 u. 21) nehmen keine Sonderstellung ein. Das Blastokolin der Vogelbeeren, die Parasorbinsäure, hemmt nicht nur die Keimung von Kressesamen und das Wachstum von Kressewurzeln⁸, sondern es beeinflusst auch zahlreiche andere Wachstumsprozesse, u. a. das Austreiben von Kartoffelknollen²⁰ und die Bildung sowie das Wachstum der Rhizoide bei *Marchantia polymorpha*²¹.

Wie aus Tab. 4 hervorgeht, sind die Preßsäfte von *Prunus*-Früchten reich an keimungs- und wachstumshemmenden Stoffen. Denn die 1:10-Verdünnungen der Preßsäfte unterdrücken meist noch die Keimung der Kressesamen vollständig. Über die chemische Natur der

¹⁹ A. Beythien, Handb. d. Lebensmittelchemie 5, 501 [1938].

²⁰ F. Moewus u. E. Schader, Z. Naturforschg. 6b, 112 [1951].

²¹ F. Moewus u. E. Schader, Beitr. Biol. Pflanzen, im Druck.

¹⁸ I. Juel, Dansk Bot. Ark. 12, No. 4 [1946]; P. Larsen, Planta 30, 160 [1939]; vgl. auch Evenari¹⁵, Reinhard⁵.

Nr.	Art	Keimungshemmung in %			Wachstumshemmung in %			p _H des Preßsaftes
		1	1:10	1:100	1	1:10	1:100	
1	<i>Morus alba</i>	100	100	2	100	100	14	5,6
2	<i>Ribes rubrum</i> „rot“	100	83	+4	100	83	9	2,6
3	<i>Ribes rubrum</i> „weiß“	100	100	5	100	100	15	3,2
4	<i>Ribes nigrum</i>	100	100	+1	100	100	15	2,9
5	<i>Ribes grossularia</i>	100	100	+3	100	100	9	3,2
6	<i>Hippophae rhamnoides</i>	100	4	+4	100	81	3	2,6
7	<i>Vitis vinifera</i> „Riesling“	100	6	0	100	81	0	3,8
8	<i>Vitis vinifera</i> „Müller-Thurgau“	100	49	1	100	91	25	3,8
9	<i>Viburnum Opulus</i>	100	74	2	100	93	8	5,4
10	<i>Sambucus nigra</i>	100	100	+5	100	100	23	4,2
11	<i>Symphoricarpos racemosus</i>	100	4	+3	100	64	+7	5,1
12	<i>Cucurbita Pepo</i>	100	0	+2	100	81	17	5,4
13	<i>Cucumis sativus</i>	45	0	+2	91	+10	+7	5,1
14	<i>Taxus baccata</i>	100	+1	0	100	8	+4	6,0
15	<i>Juniperus communis</i>	100	8	3	100	46	+7	5,1 x

Tab. 6. Die keimungs- und wachstumshemmende Wirkung von Preßsäften aus Früchten verschiedener Arten. x = der Extrakt aus Wacholderbeeren wurde dadurch gewonnen, daß 10 g Frucht zerrieben und mit 25 ccm Wasser versetzt wurden; 1,5 Stdn. später wurde filtriert (= Lösung 1).

Hemmstoffe bei *Prunus* ist nichts bekannt. Von anderer Seite²² sind bei Pfirsichen Keimungshemmstoffe nachgewiesen worden.

c) Berberidaceen

In Tab. 5 sind die Wirkungen der Preßsäfte aus Früchten von 9 *Berberis*-Arten angeführt. Da von einigen Arten nur geringe Mengen Früchte zur Verfügung standen, konnten die Original-Preßsäfte nicht getestet werden. Die an letzter Stelle stehenden Arten, *B. Hookeri* und *B. Edworthiana*, sind besonders reich an Hemmstoffen. Der Vergleich von *B. dealbata* und *B. Edworthiana* zeigt wieder, daß die verschiedene Wirkung der Preßsäfte nicht auf die Wasserstoffionenkonzentration zurückzuführen ist.

d) Sonstige fleischige Früchte

Tab. 6 zeigt die Wirkungen von Preßsäften aus anderen fleischigen Früchten. Von anderer Seite sind früher schon bei *Vitis vinifera*¹⁵, *Cucumis sativus*²³ und *Juniperus communis*²⁴ Hemmstoffe nachgewiesen worden.

e) Vergleich von unreifen und reifen Früchten

Im Laufe der Untersuchungen mit fleischigen Früchten konnten bei einigen Arten auch Früchte verschiedenen Reifegrades verglichen werden. Bei den in Tab. 7 zuerst angeführten Arten ist der Hemmstoffgehalt von reifen Früchten höher als derjenige in unreifen Früchten. Dies kommt sowohl in der Keimungshemmung als auch in der Wachstumshemmung deutlich zum Ausdruck, oder nur in der Wachstumshemmung. Bei *Sorbus aucuparia* wurden 3 verschiedene Reifegrade untersucht. Es ergibt sich eine Zunahme des Hemmstoffgehaltes während der Reife. Dagegen bleibt der Wuchsstoffgehalt während der Reife konstant, wie spätere Untersuchungen gezeigt haben²⁵. Bei einigen Arten ist der Hemmstoffgehalt in unreifen

Früchten größer als in reifen. Besonders deutlich kommt dies bei *Symphoricarpos* zum Ausdruck. Ob dieses abweichende Verhalten nicht nur vorgetäuscht ist, könnte erst entschieden werden, wenn als Bezugsgröße das Trockengewicht gewählt wird und wenn das Verhalten arteigenen Samens untersucht wird.

f) Zusammenfassung

Von der Jerusalemer Schule und von uns sind während der letzten Jahre in den fleischigen Früchten vieler Familien Blastokoline festgestellt worden. In Tab. 8 ist eine Übersicht, nach Familien geordnet, gegeben. Unsere Ergebnisse gründen sich auf die Untersuchung von 167 Extrakten in 565 Einzelversuchen mit insgesamt 56 500 Kressesamen bzw. Kressekeimlingen. Dieser einfache Kresse-Test erlaubt es, quantitative Bestimmungen des Blastokolin-Gehaltes in pflanzlichen Extrakten und Preßsäften vorzunehmen. Zugleich mit der Keimungshemmung wurde eine hemmende Beeinflussung des Wurzelwachstums des Keimlings festgestellt. Die Wurzel reagiert in der Regel etwa 10-mal empfindlicher auf die in den Preßsäften enthaltenen Hemmstoffe.

6. Was sind Blastokoline?

Auf Grund unserer Untersuchungen lassen sich folgende Aussagen über die Eigenschaften der Blastokoline machen. Blastokoline sind stets genuine Stoffe in fleischigen Früchten, denen die biologische Funktion der Keimungshemmung des arteigenen Samens zugesprochen werden muß. Die biologische Keimungshemmung von Tomatenmark auf Tomaten-samen ist von Reinhard⁵ bewiesen. Es ist noch zu untersuchen, ob die von Akkerman und

²² D. H. Scott, J. G. Waugh u. F. P. Cullman, Amer. Soc. Hort. Sci. 40, 283 [1942].

²³ E. Kaufmann, Planta 33, 516 [1943].

²⁴ S. B. Ullman, zitiert bei Evenari¹⁵ (Ph. D. Thesis, Jerusalem 1940).

²⁵ F. Moewus, Biol. Zbl. 68, 58 [1949].

Nr.	Art		Keimungshemmung in %			Wachstumshemmung in %			pH	Bemerkungen
			1	1:10	1:100	1	1:10	1:100		
1	<i>Rubus idaeus</i>	u	100	50	5	100	73	6	2,9	(langfrüchtig)
		r	100	100	5	100	100	20	3,5	
2	<i>Rubus idaeus</i>	u	100	35	2	100	82	0	2,9	(rundfrüchtig)
		r	100	100	8	100	100	12	3,5	
3	Brombeere	u	40	20	6	92	92	16	2,6	(grün)
		u	62	7	+1	92	92	12	2,6	(hellrot)
		r	100	38	5	100	92	26	3,0	
4	<i>Morus nigra</i>	u	100	100	2	100	100	+6	4,0	
		r	100	100	+1	100	100	16	4,3	
5	<i>Sambucus nigra</i>	u	100	100	+5	100	100	11	3,5	
		r	100	100	+5	100	100	23	4,2	
6	<i>Juniperus communis</i>	u	100	5	+2	100	2	+12	5,1	(je 10 g + 25 ccm Wasser)
		r	100	8	3	100	46	+7	5,1	
7	<i>Sorbus aucuparia</i>	u	100	+1	0	100	29	3	3,0	(grün)
		u	100	11	0	100	80	0	3,2	(gelbrot)
		r	100	34	0	100	93	13	3,4	(rot)
	Tomaten:									
8	„Bonner Beste“	u	100	5	3	100	39	+10	4,0	
		r	100	2	4	100	56	30	4,2	
9	„gelbe Delikatess“	u	100	6	3	101	27	16	4,2	
		r	100	3	4	100	70	20	4,2	
10	„Kondine Red“	u	100	+2	0	100	40	14	4,1	
		r	100	10	0	100	80	21	4,1	
11	„Blondköpfchen“	u	100	6	+1	100	71	16	4,2	
		r	100	+2	+1	100	90	31	4,2	
12	„Frühbote“	u	48	13	4	89	79	39	4,1	
		r	100	82	5	100	78	28	4,2	
13	„verbesserte Zucker“	u	100	4	+4	100	92	9	3,9	
		r	100	7	2	100	94	21	3,9	
14	„racemosum“	u	100	8	1	100	94	4	4,0	
		r	100	11	1	100	94	16	4,0	
15	<i>Malus coronaria</i>	u	100	5	0	100	86	16	3,6	
		r	100	+2	4	100	56	+2	2,9	
16	<i>Viburnum Opulus</i>	u	100	100	+4	100	100	6	4,5	
		r	100	74	2	100	93	8	5,4	
17	<i>Symphoricarpos racemosus</i>	u	100	100	3	100	100	85	4,5	(grün)
		u	100	41	+2	100	88	36	5,1	(hellgrün)
		r	100	4	+3	100	64	+7	5,1	(weiß)
18	<i>Cucumis sativus</i>	u	93	1	4	84	20	5	5,4	
		r	45	0	+2	91	+10	+7	5,1	
19	Tomate „erste Ernte“	u	100	2	0	100	72	59	4,2	
		r	100	8	2	100	67	24	4,0	
20	rote Kirschtomate	u	100	35	4	100	80	15	4,2	
		r	54	52	+1	93	93	16	4,2	
21	<i>Taxus baccata</i>	u	100	2	+2	100	69	16	5,1	(unreif: 1:2,
		r	100	+1	0	100	8	+4	6,0	1:20, 1:200)

Tab. 7. Die keimungs- und wachstumshemmende Wirkung von Preßsäften aus Früchten verschiedenen Reifegrades.

Veldstra¹¹ isolierte Kaffeesäure und Ferulasäure auf Tomatensamen hochspezifisch keimhemmend wirken. Für *Sorbus aucuparia* ist zu vermuten, daß die von Kuhn und Jerchel¹⁷ isolierte Parasorbinsäure das Blastokolin darstellt, obwohl auch hier der biologische Nachweis mit artemisinen Samen noch nicht vorliegt.

²⁶ H. Funke, Beih. z. Bot. Zbl. A 59, 235 [1939].

²⁷ A. M. Ozorio de Almeida, M. D. Goulart, M. Ielpo u. A. Viera Pinto, Rev. brasil. Biol. 1, 345 [1941].

²⁸ E. Konis, Thesis. Hebrew Univ. Jerusalem [1938]; Palest. J. Bot. Jerusalem Ser. 2, 6 [1940].

Werden Blastokoline durch ihre physiologische Fähigkeit der Keimungshemmung charakterisiert, dann sind als echte Blastokoline bisher noch zwei weitere Fälle bekannt.

1. Bei *Forsythia intermedia* wurde aus Pollenkörnern der Langgriffler-Blüten Rutin, aus Pollen-

²⁹ E. Konis, Palest. J. Bot. Jerusalem, Ser. 4 [1947].

³⁰ M. Stout u. B. Tolman, J. agric. Res. 63, 687 [1941].

³¹ R. Sroelov, Palest. J. Bot. Jerusalem, Ser. 2, 33 [1940].

³² R. Kuhn u. I. Löw, Chem. Ber. 82, 474 [1949].

Ordnung	Familie	Gattung	Literatur
<i>Piperales</i>	<i>Piperaceae</i>	<i>Piper</i>	24
<i>Urticales</i>	<i>Moraceae</i>	<i>Morus</i> (2 sp.)	d. A.
		<i>Ficus</i>	1
		<i>Maclura</i>	3
<i>Santalales</i>	<i>Loranthaceae</i>	<i>Viscum</i>	14, 26
<i>Centrospermae</i>	<i>Phytolaccaceae</i>	<i>Phytolacca</i>	3
<i>Polycarpiae</i>	<i>Berberidaceae</i>	<i>Berberis</i> (9 sp.)	d. A.
<i>Parietales</i>	<i>Caricaceae</i>	<i>Carica</i>	27
<i>Rosales</i>	<i>Saxifragaceae</i>	<i>Ribes</i> (3 sp.)	d. A.
	<i>Rosaceae</i>	<i>Rosa</i> (2 sp.)	d. A.
		<i>Fragaria</i>	d. A.
		<i>Rubus</i> (3 sp.)	d. A.
		<i>Sorbus</i> (5 sp.)	d. A.
		<i>Pirus</i> (6 sp.)	1, d. A.
		<i>Malus</i> (9 sp.)	1, d. A.
		<i>Prunus</i> (4 sp.)	22, d. A.
<i>Myrtales</i>	<i>Elaeagnaceae</i>	<i>Hippophae</i>	d. A.
<i>Columniferae</i>	<i>Sterculiaceae</i>	<i>Theobroma</i>	12
<i>Terebinthales</i>	<i>Rutaceae</i>	<i>Citrus</i> (4 sp.)	15
<i>Rhamnales</i>	<i>Vitaceae</i>	<i>Vitis</i>	15, d. A.
<i>Tubiflorae</i>	<i>Solanaceae</i>	<i>Solanum</i>	1, 5, 15, 18, 27, 28, d. A.
		<i>Capsicum</i>	3, 29
<i>Rubiales</i>	<i>Rubiaceae</i>	<i>Sambucus</i>	d. A.
		<i>Viburnum</i>	d. A.
		<i>Symphoricarpos</i>	d. A.
	<i>Caprifoliaceae</i>	<i>Lonicera</i> (2 sp.)	3
<i>Cucurbitales</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Cucumis</i> (2 sp.)	23, 30, d. A.
		<i>Cucurbita</i>	28, d. A.
		<i>Ecballium</i>	15
		<i>Lagenaria</i>	3
<i>Coniferae</i>		<i>Taxus</i>	d. A.
		<i>Juniperus</i>	24, d. A.
<i>Gnetinae</i>		<i>Ephedra</i>	31

Tab. 8. Das Vorkommen von Blastokolinen in Extrakten aus fleischigen Früchten (die mit „d. A.“ bezeichneten wurden von uns untersucht).

körnern der Kurzgriffler-Blüten Quercitrin isoliert³². Beide Flavonole unterdrücken noch in einer Verdünnung von 1:10⁶ g/ccm die Bildung der Pollenschläuche bei keimfähigen Pollen³³. Ihre biologische Funktion besteht darin, die Keimung von Pollen auf Narben des gleichen Blütentyps zu verhindern.

2. In Extrakten von Zygoten der Grünalge *Chlamydomonas eugametos* ist ein keimungshemmender Stoff enthalten, der die Keimung (Aufteilung in 4 Gonen) von Zygoten hemmt, die durch Auswaschen keimfähig gemacht worden sind³⁴. Die stärkste Keimungshemmung wurde mit *cis*-Zimtsäure erzielt, die

im Gegensatz zu anderen isomeren Verbindungen hochwirksam ist und bei einer Verdünnung von 1:800 000 000 die Keimung noch zu 50% hemmt³⁵. Die Isolierung dieses Zygoten-Blastokolins steht allerdings noch aus.

Auch mit den Pollen- und Zygoten-Blastokolinen wurde im Kressewurzel-Test eine Hemmung des Wurzelwachstums erzielt. Nur müssen für diesen Effekt höhere Dosen angewendet werden.

Auch in Samen sind Blastokoline nachgewiesen worden. In Tab. 1, bei *E v e n a r i*¹⁵, finden sich zahlreiche Angaben, u. a. *Apium graveolens*, *Brassica nigra*, *Coffea arabica*, *Lactuca sativa*, *Phacelia tanacetifolia*, *Pisum*, *Trifolium*, zahlreiche Gramineen.

Im Jahre 1949 veröffentlichten Marx und Mitarbeiter³⁶ eine Arbeit „Über die Blastokolin- und Rhizakolin-Wirkung einiger Cumarinderivate . . .“.

³² F. Moewus, Biol. Zbl. **69**, 181 [1950].

³⁴ F. Moewus, Z. Naturforschg. **5b**, 196 [1950].

³⁵ F. Moewus u. B. Banerjee, Z. Naturforschg. **6b**, 270 [1951].

³⁶ R. Marx, H. Bayerle u. E. Marx, Biochem. Z. **319**, 378 [1949].

Die Autoren erweitern den Begriff Blastokolin auf alle Verbindungen, welche die Keimung bei einer Verdünnung von mindestens 1 : 10000 deutlich herabsetzen. Dabei ist die Grundvoraussetzung, daß die Blastokoline genuine Stoffe sind, völlig vernachlässigt. Es genügt nicht, Blastokoline durch ihre Wirksamkeit bei 1 : 10000 zu charakterisieren. Auch die Unterscheidung besonderer Rhizakoline, die nur eine Hemmung des Wurzelwachstums bedingen, ist unnötig. Denn ob Sprosse oder Wurzeln gehemmt werden, ist

abhängig von der Dosierung. Jedes Rhizakolin hemmt bei einer genügend hohen Dosis sowohl die Keimung als auch das Sproßwachstum.

Der Begriff Blastokolin sollte nur dann gebraucht werden, wenn die biologische Funktion in Extrakten mit arteigenen Samen (oder Pollen, Zygoten) nachgewiesen ist. Sonst spricht man besser allgemein von Keimungshemmstoff (germination inhibitors¹⁵) oder von wachstumshemmenden Stoffen (growth inhibitors).

Über die Wirkung von *cis*-Zimtsäure und einigen isomeren Verbindungen auf *Chlamydomonas*-Zygoten

VON FRANZ MOEWUS und BASUDEV BANERJEE *

Aus dem Max-Planck-Institut für medizinische Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg

(Z. Naturforschg. 6b, 270—273 [1951]; eingegangen am 11. Mai 1951)

Im Keimungstest mit Zygoten der *blastikos*-Rasse von *Chlamydomonas eugametos* haben Zimtaldehyd, *o*-Cumarsäure und β -*d*-Glucosido-*o*-cumarsäure nur eine geringe keimungshemmende Wirkung. Cumarin ist etwa 100-mal wirksamer, *trans*-Zimtsäure etwa 10-mal aktiver als Cumarin. Die Wirkung der *cis*-Zimtsäure übertrifft die der *trans*-Form um fast das 100-fache. Die 3 allotropen Modifikationen der *cis*-Zimtsäure (Schmp. 42°, 58°, 68°) verhalten sich physiologisch gleichartig. Cumarin ergibt bei 10⁻⁸ g/ccm, *cis*-Zimtsäure bei 10⁻¹¹ und 10⁻¹² g/ccm eine statistisch gesicherte Keimungsförderung gegenüber der Kontrolle.

Die Zygoten der Grünalge *Chlamydomonas eugametos* enthalten einen Keimungshemmstoff (Blastokolin)¹. Ihre Keimung setzt erst dann ein, wenn die Konzentration dieses Stoffes innerhalb der Zelle herabgesetzt wird. Bei der Rasse *blastikos* läßt sich die Keimung auslösen, indem man die Zygoten aus dem Kulturmedium, in welchem sie sich seit der Entstehung befanden, in frische Nährlösung überträgt. Dadurch entsteht ein Diffusionsgefälle. Der Blastokolingehalt im Zellinnern sinkt. Nach nochmaligem Wechsel sind die Zygoten dann zu mehr als 85% keimfähig. Diese ausgewaschenen Zygoten wurden als Testmaterial zum Nachweis von Stoffen verwendet, die eine keimungshemmende Wirkung ausüben.

Da über die chemische Natur des Blastokolins nichts bekannt war, wurde zunächst die Wirkung einiger organischer Säuren geprüft. Dabei hat sich ergeben, daß *trans*-Zimtsäure die Zygotenkeimung auffallend stark hemmt¹: bei einer Konzentration von 10⁻⁷ g/ccm

wird die Keimung noch um etwa 50% gegenüber der Kontrolle unterdrückt. Auch Cumarin, das Lacton der Cumarsäure (*cis*-2-Oxy-zimtsäure) hat sich als sehr wirksam erwiesen. In verschiedenen pflanzlichen Wuchsstofftesten² hatte sich gezeigt, daß *cis*-Zimtsäure im Gegensatz zur *trans*-Form wachstumsfördernd wirkt. Es war daher wichtig zu wissen, welche Wirkung *cis*-Zimtsäure und andere isomere Verbindungen auf *Chlamydomonas*-Zygoten ausüben.

Folgende Verbindungen wurden im Keimungs-Test mit *Chlamydomonas*-Zygoten vergleichend untersucht:

1. Zimtaldehyd.
2. *o*-Cumarsäure (*trans*-2-Oxy-zimtsäure). Diese erhielten wir durch alkalische Hydrolyse von Cumarin mit Natriumalkoholat nach der Methode von Ebert³.
3. β -*d*-Glucosido-*o*-cumarsäure. Sie wurde dargestellt durch Kondensation von Helicin mit Malonsäure in Gegenwart von Pyridin und einigen Tropfen Anilin nach Helferich und Lutzmann⁴.

¹ F. Moewus, Z. Naturforschg. 5b, 196 [1950].

² J. B. Koepfli, K. V. Thimann, F. W. Went, J. biol. Chemistry 122, 763 [1937/38]; H. Veldstra, Enzymologie [Den Haag] 11, 97 [1943/45].

³ G. Ebert, Liebigs Ann. Chem. 226, 347 [1884].

* Senior Research Fellow of Bose Institute Calcutta, working as a Govt. of India Scholar.

⁴ B. Helferich u. H. Lutzmann, Liebigs Ann. Chem. 537, 11 [1939].