Beitrag zum Aneurinstoffwechsel bei höheren Pflanzen

Autor(en): **Rytz, Walter**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse**

Band (Jahr): **49 (1939)**

PDF erstellt am: **02.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-33377

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Beitrag zum Aneurinstoffwechsel bei höheren Pflanzen.

Von *Walter Rytz* jun.

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Bern.)

Eingegangen am 6. März 1939.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Einleitung und Fragestellung 340
I. Analytischer Teil. Material und Methodik 344
Untersuchungsergebnisse:
1. Der Aneurinstoffwechsel während des Keimens 349
2. Der Aneuringehalt während der Hauptvegetationsperiode 353
3. Der Aneurinstoffwechsel während der Samenreife 356
4. Aktive Stoffe in andern Pflanzen 360
5. Besprechung der Resultate 364
6. Zusammenfassung der bisherigen Ergebnisse 365
II. Teil. Untersuchungen über die Wirkung von Vitaminen bei der ersten Entwicklung der Pflanzen:
1. Geschichtliches zur Zucht isolierter Embryonen 365
2. Problemlage 371
3. Experimentelles 371
4. Die Ergebnisse 373
a) Der organische Teil der Nährlösung 373
b) Wirkstoffprobleme 374
c) Der Einfluss von Wirkstoffen auf die Entwicklung cotyledonenloser Embryonen 377
d) Zum Aneurinstoffwechsel bei cotyledonenlosen Embryonen . . . 381
e) Untersuchung der Nährböden 382
f) Die Blütenbildung 383
5. Besprechung der Ergebnisse 384
III. Zusammenfassung der Resultate 385
Literaturverzeichnis 386
Anhang: Tabellen 391

Verzeichnis der Abbildungen.

Abb. 1 3 Serien einer Phycomyceskultur 344
» 2 Kurven der 3 Serien 345
» 3 Aneurinkurve des Phycomyces 347
» 4 Kurve von Trockengewicht: Frischgewicht bei Pisumkeimlingen . 350
» 5 Gehalt an wirksamen Substanzen während der ersten Entwicklung der Pisumpflanze (Kurve) 351
» 6 Stickstoffwinkel in Phycomyceskurven 353

Seite
Abb. 7 Aneurinkurven verschieden alter Pisumpflanzen 354
» 8 Aneuringehalt während der ganzen Entwicklung der Pisumpflanze 358
» 9 Cotyledonenlose Keimlinge 371
» 10 Pisumzucht in Agar 372
» 11 Pisumzucht in flüssigem Nährmilieu 372
» 12 Verschieden ausgebildete Wurzeln 374
» 13 Die Wirkung verschiedener Glucosekonzentrationen 374
» 14 Trockengewicht und Sprosslänge von Pisumkeimlingen mit und ohne Aneurinzusatz 376
» 15 Trockengewicht und Sprosslänge von Pisumkeimlingen in verschiedenen Nährböden 377
» 16 Wachstum mit verschieden grossen Cotyledonenstücken 380
» 17 Blütenbildung in vitro 383
» 18 Eine Blüte vergrössert 383

Einleitung und Fragestellung.

Die immer weitgehendere Kenntnis von der Natur und der Wirkungsweise gewisser wachstumsfördernder Stoffe bei Pflanzen lässt neben der Frage nach Ort und Menge ihres Vorkommens auch diejenige nach ihrer Entstehung und Veränderung im Laufe der Entwicklung eines pflanzlichen Organismus stellen.

Die Geschichte der Forschung in diesem Gebiet ist so ausgedehnt, dass es im Rahmen dieser Arbeit nur möglich ist, sie skizzenhaft zu streifen. Wir erkennen dabei im Laufe des fortschreitenden Vordringens 3 Stufen, jede mit besonderen Folgen für die weitere Forschung :

1. Bei den ersten Versuchen in dieser Richtung wurden an Bodenproben, die reich waren an organischen Substanzen, mit Hilfe von Bakterien Veränderungen hervorgerufen (bakterielle Zersetzung von Torf) und hierauf durch Extraktion gewisse Stoffe daraus gewonnen, die auf höhere Pflanzen in synthetischer Nährlösung wachstumsfördernd wirkten (Bottomley, 1914, 1917). Diese durch geeignete Verfahren angereicherten «Auximone», in kleinsten Mengen hochwirksame Substanzen, werden also von bestimmten Organismen gebildet und können von andern als Wuchsstoffe verwendet werden.

Diese Entdeckung gab nicht nur Anlass zu neuen Forschungen, sie zeigte auch, dass weitere Untersuchungen nur unter sterilen Bedingungen durchgeführt werden durften, wenn ein unkontrollierbarer Wuchsstoffaustausch vermieden sein sollte.

2. Bald nach der Erforschung und synthetischen Herstellung der für das Tier notwendigen Vitamine pflanzlicher Herkunft wurden Untersuchungen unternommen über ihre Bedeutung in der Pflanze als dem Organismus, der sie zu bilden vermag. Die Ergebnisse zeigten, dass sie als Wirkstoffe in ganz geringen Mengen die Entwicklung der Pflanzen in irgendeiner Weise fördernd beeinflussen, somit irgendwie in den Stoffwechsel eingreifen.

Wahrscheinlich handelt es sich bei den früher nur nach ihrer Wirkung so genannten Auximonen um die einen oder andern der heute genauer bekannten Wirkstoffe mit vitaminischer oder hormonaler Wirkungsweise.

3. Die Erforschung der Struktur des Aneurins (Vitamin B_1) mit seinen beiden Komponenten, dem 2-Methyl-4-amino-5-aminomethyl-pyrimidin und dem 4-Methyl-5-hydroxyaethyl-thiazol, und die Synthese dieser Stoffe durch den Chemiker, gab Anlass zu aufschlussreichen Versuchen, vorab zu solchen mit Mikroorganismen. Gewisse unter ihnen, die in einer reinen, synthetischen Nährlösung mit den gewohnten Stoffen (Zucker, Asparagin und mineralische Salze) nicht zur Entwicklung gelangen, weisen ein sehr schönes Wachstum auf, wenn Spuren von Aneurin in der Nährlösung vorhanden sind. So verhält sich die Mucorinee *Phycomyces blakesleeanus* (Schopfer, 1934).

Sind in der Nährlösung an Stelle des Aneurins dessen beide Komponenten, Pyrimidin und Thiazol, nebeneinander vorhanden, dann ist bei bestimmten Organismen die Wirkung die gleiche wie mit Aneurin, was von Knight mit *Staphylococcus aureus* gezeigt wurde (1937), dann von Schopfer und Jung (1937) und von Robbins und Kavanagh (1937) mit *Phycomyces,* und von Schopfer und Blumer mit *Ustilago violacea* (1938).

Fehlt aber die eine oder die andere Komponente, dann ist für diese Organismen die Entwicklung nicht mehr möglich, wohl aber für gewisse andere, wie die Hefe *Rhodotorula rubra,* die gedeiht, wenn Pyrimidin allein in der Nährlösung vorhanden ist (Schopfer, 1937 b), oder wie *Mucor Ramannianus,* der nur eines Zusatzes von Thiazol bedarf (Müller und Schopfer, 1937).

Es darf aber als sehr wahrscheinlich betrachtet werden, dass dem Aneurin auch in der Pflanze die Rolle einer Cocarboxylase zukommt, dass also dieser Wirkstoff ein Co-Ferment des Kohlehydratstoffwechsels darstellt (Lohmann, 1937). Somit muss der verschiedenartige Bedarf an Aneurinstoffen in folgender Weise interpretiert werden: Pflanzen vom Ramannianus-Typus sind imstande, Pyrimidin selbst zu bilden und es mit dem Thiazol aus der Nährlösung zu Aneurin zu verknüpfen; Pflanzen vom Rhodotorula rubra-Typus vermögen umgekehrt das Thiazol zu bilden und es mit dem Pyrimidin der Nährlösung zu Aneurin zu verknüpfen (Beweis durch künstliche Symbiose von *Rhodotorula rubra* und *Mucor Ramannianus:* Müller und Schopfer, 1937). Pflanzen vom Phycomyces-Typus dagegen sind nur noch befähigt, die Komponenten zu Aneurin zu verknüpfen, nachdem sie beide aus der Nährlösung aufgenommen wurden (Schopfer, 1937 a). Sie gehören einem fast total auxoheterotrophen Typus an, während *Rhodotorula*

rubra und *Mucor Ramannianus* partiell auxoautotroph sind (Schopfer, 1938).

Diese Verhältnisse seien kurz tabellarisch dargestellt:

	Absidia glauca höhere Pflanze	Rhodotorula rubra	Mucor Raman.	Phycomyces
synthetisiert .	Aneurin (od. Pyr. + Thiaz.)	Thiazol	Pyrimidin	—
verlangt . .	—	Pyrimidin	Thiazol	Pyr. + Thiazol

Die beiden Komponenten, Pyrimidin und Thiazol, sind als Vorstufen bei der Bildung des Aneurins anzusehen. Das zeigten in erster Linie Versuche mit andern Pyrimidinen und Thiazolen als den genannten, die zum Teil positiv ausfielen, d. h. die an Stelle des Aneurin-Pyrimidins oder des Aneurin-Thiazols wie diese wirksam waren. Die betreffenden Organismen sind offenbar in der Lage, diese Stoffe in bestimmter Weise umzubauen und zu Aneurin oder einem wie Aneurin wirkenden Stoff zu verknüpfen. Pyrimidin und Thiazol sind demnach als Vorstufen bei der Bildung des Vitamins zu betrachten.

Höhere Pflanzen, oder Teile von solchen wurden in analoger Weise auf ihren Vitaminbedarf untersucht. Auch hier ist der Ramannianus-Typus vertreten, indem isolierte Tomatenwurzeln nur Thiazol nötig haben als Nährlösungszusatz (Robbins, 1937 b). Der Phycomyces-Typus wurde auch bei gewissen Wurzeln, z. B. bei Pisumwurzeln beobachtet (Bonner, 1937). Bei höheren Pflanzen scheinen also hinsichtlich des Aneurins ähnliche Verhältnisse zu bestehen wie bei Mikroorganismen.

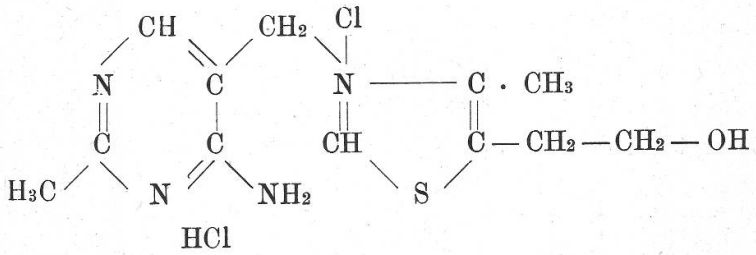
Die genannten Abbau-, Umbau- und Aufbauvorgänge beim Aneurin bezeichnen wir im Folgenden mit Aneurinstoffwechsel (Schopfer, 1938). Sie sollen im Verlaufe der Entwicklung einer höheren Pflanze näher untersucht werden als ein Beitrag zum Aneurinstoffwechsel bei grünen, höheren Pflanzen.

Nach Untersuchungen mit dem Tiertest enthalten die höheren Pflanzen Aneurin. Anderseits aber übt, wie schon erwähnt, Aneurin auf höhere Pflanzen oder auf Teile von solchen einen wachstumsfördernden Einfluss aus, indem sie wesentlich besser gedeihen, wenn sie das Vitamin in der Nährlösung zugesetzt erhalten. Solche den Pilzversuchen analoge Arbeiten lieferten hauptsächlich Bonner, Gautheret, Kögl, White.

Um Näheres zu erfahren über die Rolle des Aneurins in höheren Pflanzen musste daher untersucht werden,

1. in welchen Organen, zu welcher Zeit und in welcher Menge Aneurin nachweisbar ist, um zu bestimmen, in welcher Entwicklungsphase es von der Pflanze gebildet wird;
2. ob es von der Pflanze gespeichert wird für die Entwicklung in der neuen Vegetationsperiode;
3. welche Anzeichen für einen Abbau oder Umbau des Aneurins vorhanden sind.

Der Begriff Aneurin wurde bis jetzt sensu stricto gebraucht für das 4-Methyl-5-β-hydroxyaethyl-N-[(2-methyl-4-amino-pyrimidyl-[5])-methyl]-thiazol :



Unsere Methode, diesen Stoff in kleinsten Mengen nachzuweisen, beruht auf der hohen Reaktionsspezifität des *Phycomyces*. Wie schon erwähnt, gedeiht dieser Pilz nur, wenn er im Nährsubstrat Aneurin oder dessen Komponenten, Pyrimidin und Thiazol in äquivalenten Mengen zur Verfügung hat. Andere, analoge Stoffe wurden auch geprüft auf ihre Wirksamkeit auf *Phycomyces*. Wenn es auch nicht ganz ausgeschlossen ist, dass noch andere Aneurinderivate wirksam sind, so kann es sich doch nur immer um Stoffe handeln, die in ihrer Wirkung dem Aneurin ähnlich sind. Wir schliessen auf diese Wirkung, wenn der *Phycomyces* auf irgendeine Substanz mit starkem Wachstum reagiert. Solche wirksame Substanzen sind im Pflanzenreich weitverbreitet. Ob sie alle identisch sind mit dem oben durch die Formel angegebenen Stoff, wissen wir nicht. Wir sprechen sie aber als Aneurin an und fassen damit diesen Begriff weiter : Er umfasst alle diejenigen Stoffe, die auf *Phycomyces* die gleiche Wirksamkeit haben wie das synthetische Vitamin B_1, diesem also analog sind. (Eine Methode zur Entscheidung, ob es Aneurin ist, oder ob Pyrimidin und Thiazol[1] nebeneinander vorliegen, wird später angegeben werden.) Der Begriff Aneurin wird gebraucht für eine Substanz, welche zur Bildung der Cocarboxylase führen kann.

---

[1] Die Ausdrücke Pyrimidin und Thiazol bedeuten immer die oben erwähnten Komponenten des Vitamins B_1. Der Einfachheit wegen wird der präzise chemische Name nicht jedesmal angeführt.

I. Analytischer Teil.

Material und Methodik.

Hauptversuchspflanze war Pisum sativum, auf ihre Keimfähigkeit geprüfte Sorten (« Express », « Prinz Albert », « Aldermann ») von der Firma Vatter in Bern. Daneben wurde eine Reihe anderer Pflanzen oder Teile davon untersucht.

Zur Ermittlung des Aneuringehaltes wurde der betreffende Pflanzenteil vorerst getrocknet, und zwar musste dies, wie es sich aus früheren Versuchen ergab, bei gewöhnlicher oder nicht wesentlich erhöhter Temperatur geschehen. Wir trocknen unser Material gewöhnlich sorgfältig in warmer Luft oder im Exsiccator. Nach dem Trocknen wurde das Material pulverisiert, gewogen und mit einer dazu in einem bestimmten Verhältnis stehenden Wassermenge (in Glas dest. H_2O) extrahiert. Ein kurzes Aufkochen der Suspension mit unmittelbar darauffolgender Filtration liefert das günstigte Ergebnis.

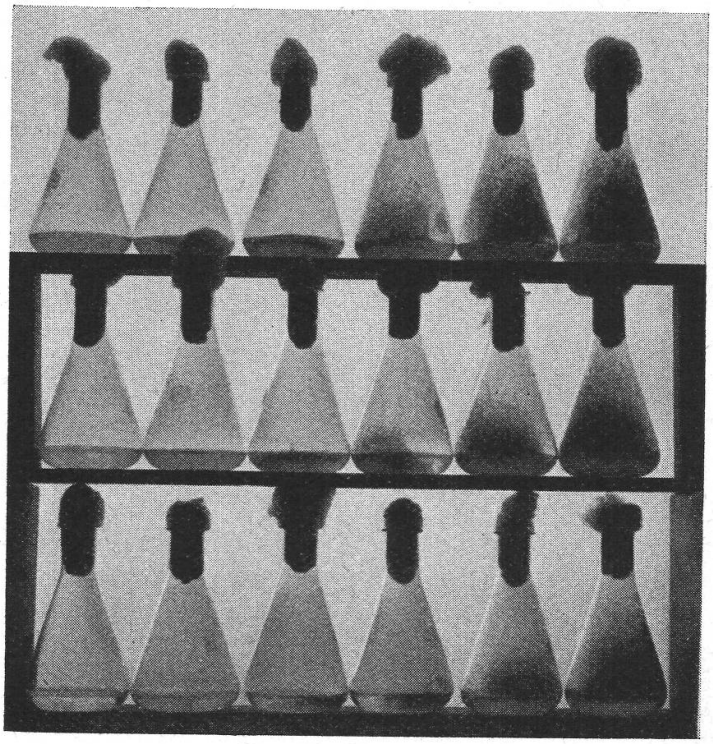


Abbildung 1.
3 Serien einer Phycomyceskultur.

Aktive Substanzen	2/10	5/10	1	2	4	8 ccm
B_1-Lösung 0,05 γ/ccm	9	13	22	39	73	84
Erbsenmehl 4 mg/ccm	7	11	17	26	48	83
B_1-Lösung 0,02 γ/ccm	6	9	12	17	34	62

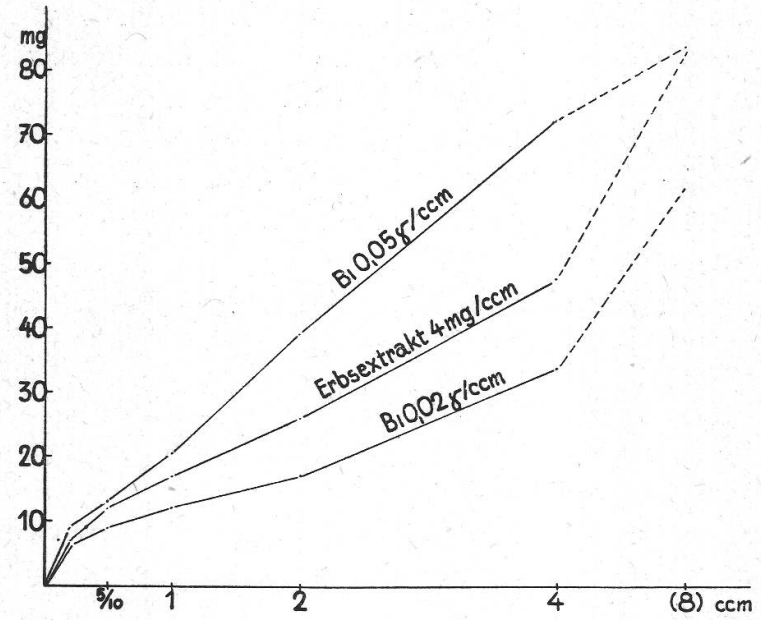


Abbildung 2.
Die Kurven der 3 Serien (vgl. Tabelle und Abb. 1).

Zum Nachweis des Aneurins im Extrakt diente der Phycomycestest nach Schopfer. Der Schimmelpilz *Phycomyces blakesleeanus,* der ja nur dann gedeiht, wenn er Spuren von Aneurin oder dessen zwei Komponenten, Pyrimidin und Thiazol, als « aktive Substanzen » zur Verfügung hat, wurde in Erlenmeyerkolben à 150 ccm kultiviert. (Abb. 1.) Diese enthielten je 25 ccm Coonscher Nährlösung und das zu untersuchende wässerige Extrakt in 6—8 verschiedenen Konzentrationen, 20 Minuten bei 115° sterilisiert. Geimpft wurden sie mit gleichen Mengen einer homogenen Sporensuspension des Pilzes. Nach einer elftägigen Entwicklungsperiode (bei Zimmertemperatur) wurde das Mycel herausgenommen und im elektrischen Ofen bei 100° getrocknet. Aus der Kurve der Myceltrockengewichte (Abb. 2) lässt sich durch Vergleich mit der jeweils parallel geführten Serie mit reinem, synthetischem Aneurin[1] an Stelle eines Extraktes die Menge der auf *Phycomyces* wirksamen Stoffe berechnen.

Um unterscheiden zu können, ob es sich dabei um Aneurin handelt oder um Stoffe wie Pyrimidin und Thiazol, die ja auf *Phycomyces* gleich wirken wie Aneurin, sofern sie beide gleichzeitig in entsprechenden Mengen vorhanden sind, wurde jeweils ein Teil des Extraktes noch mit Lauge behandelt.[2] Dieses Verfahren war mit reinen Substanzen geprüft worden. Es besteht darin, dass man ein Extrakt mit NaOH $\frac{n}{10}$ versetzt, 30 Minuten lang bei 120° autoklaviert, nach dem Erkalten mit

[1] I. G.-Farben.

[2] Wir wissen aus der Tierphysiologie, dass bei Laugebehandlung die Wirksamkeit des Aneurins auf das Tier erlischt.

HCl neutralisiert und der Pilzkultur beifügt. Dadurch wird alles Aneurin in eine auf *Phycomyces* unwirksame Form übergeführt, währenddem Pyrimidin und Thiazol ihre Wirkung unvermindert beibehalten. Durch Vergleich der Ergebnisse der Phycomyceskulturen mit Extrakten mit und ohne Laugebehandlung lässt sich dann mit einiger Sicherheit auf den tatsächlichen Gehalt an Aneurin schliessen.

Die Berechnung der absoluten Aneurinmenge[1] aus den Phycomyces-Myceltrockengewichten.

Die Abb. 1 zeigt drei Serien einer Phycomyceskultur. Die Flaschen jeder Serie enthalten neben der neutralen Grundnährlösung eine aktive Substanz in steigender Konzentration. Schon ein kurzes Überprüfen des Pilzwachstums genügt, um zu erkennen, dass die Entwicklung in der untersten Reihe einen niedrigeren Grad erreichte als die entsprechende Entwicklung der mittleren Reihe, und diese wiederum ist nicht so üppig wie diejenige der obersten Reihe. Die oberste und die unterste Reihe sind Kontrollserien. Sie enthalten reines, synthetisches Aneurin in steigender Konzentration. In die Flaschen der mittleren Reihe wurde ein Extrakt aus Erbsenmehl (Cotyledonen trockener Erbsen Sorte « Express ») gegeben, auch in steigender Konzentration. Die abgebildeten Pilzrasen sind 10 Tage alt. Die darunter stehende Tabelle gibt das Trockengewicht der abgebildeten Mycelien an (in mg) in Abhängigkeit der zugefügten Mengen aktiver Substanzen.

In der graphischen Darstellung (Abb. 2) wird auf der Ordinate das Myceltrockengewicht (in mg) angegeben, auf der Abszisse die Menge der der neutralen Pilznährlösung zugefügten aktiven Substanz (in ccm).

Ergebnis: Die Wachstumskurve des *Phycomyces* mit Erbsextrakt nimmt ziemlich genau die Mitte ein zwischen den beiden Kontrollkurven der reinen Substanz. (NB. Dass die obere Kurve [0,05 γ] oben weniger steil verläuft, darf uns nicht verwundern. Wir sind mit 84 mg Mycelgewicht schon beim Maximum angelangt, das der Pilz unter solchen Umständen erreichen kann. Höhere Aneurinkonzentrationen lassen die Kurven im Anfang stärker ansteigen, dann werden sie aber immer flacher im obern Teil). Wir dürfen also aus diesen Ergebnissen auf den Aneuringehalt in den verwendeten Erbsen schliessen : 0,03 bis 0,04 γ in 4 mg Trockensubstanz, das sind 7,5—10 γ pro g.

Es ist aber noch eine andere Art der Berechnung möglich : Wir können eine Anzahl von Kontrollkurven in eine einzige verwandeln, wenn wir auf der Abszisse nicht die Anzahl ccm der zugesetzten, verschieden stark verdünnten Aneurinlösungen angeben, sondern gleich

[1] Genauer : Die einer bestimmten Menge von synthetischem Aneurin in der Wirkung äquivalente Wirkstoffmenge.

die Menge Aneurin in γ. Dann ordnen wir in Gedanken alle Erlenmeyer der Kontrollserien auf der Abszisse je nach der in ihnen enthaltenen Aneurinmenge. Auf der Ordinate werden, wie gewohnt, die Myceltrockengewichte in mg angegeben. So zeichnen wir über jedem Punkt der Abszisse das zu dieser Aneurinmenge gehörende Mycelgewicht.

Alle in dieser Weise aufgezeichneten Punkte müssten im Idealfall auf einer Kurve liegen, der idealen Aneurinkurve. In Wirklichkeit liegen sie dieser Idealkurve sehr nahe. Höchstens im obersten Teil der Kurve zeigen sie grössere Abweichungen, dem Teil, den man oft als etwas labil kennen lernt. Je mehr Kontrollserien und damit Aneurinwerte man hat, desto genauer lässt sich die Kurve ermitteln. Aus 4 Kontrollserien ergibt sich für unsern Fall das folgende Kurvenbild:

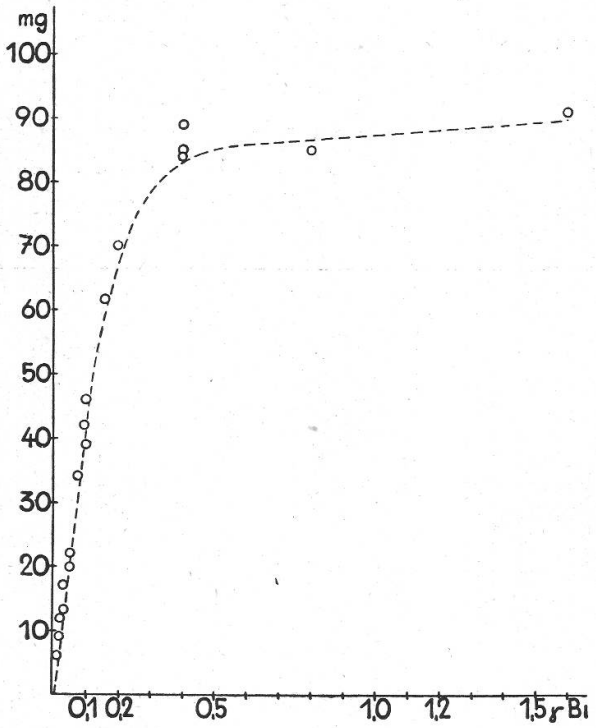


Abbildung 3.
Aneurinkurve des Phycomyces.

Die den gefundenen Mycelgewichten entsprechenden Punkte sind als solche angegeben; die Kurvenlinie stellt die darauf basierende ideale Aneurinkurve dar. Jeder Punkt dieser Kurve entspricht einer ganz bestimmten Aneurinmenge. Haben wir gleichzeitig mit diesen Aneurinkontrollen auch *Phycomyces* geimpft in Flaschen mit einer unbekannten, aktiven Substanz, und diese Flaschen unter genau denselben innern und äussern Bedingungen belassen wie die Kontrollen, dann dürfen wir die daraus erhaltenen Mycelgewichte auf der Kontrollkurve aufsuchen und senkrecht darunter auf der Abszissenachse die dazugehörige Menge Aneurin ablesen.

Da wir von jeder untersuchten Substanz mindestens 6 verschiedene Konzentrationen mit *Phycomyces* prüften, erhielten wir mit dieser Berechnungsart 6 Werte, die theoretisch übereinstimmen sollten, sich in Wirklichkeit aber um einen Mittelwert gruppieren, der sich durch Berechnung des arithmetischen Mittels aus den 6 Zahlen ergibt. Die hohen und niedrigen Konzentrationen sind oft recht abweichend; die niedrigen Konzentrationen wahrscheinlich aus Ungenauigkeitsgründen, die hohen dagegen wegen der Einwirkung organischen Stickstoffs, wie er sich in solchen Extrakten natürlich vorfindet. Die Aneurinvergleichskurve verläuft ja oben flach; die Kurve aber, wie sie ein N-haltiges Extrakt ergibt, steigt auch oben noch mehr oder weniger steil an (vergl. S. 352). Solchen Abweichungen vom Mittelwert muss natürlich entsprechend Rechnung getragen werden. Die Berechnung des Aneuringehaltes unseres Erbsenpulvers nach der eben erläuterten Methode ist wie folgt vorzunehmen :

Phycomycesmycelgewichte der Kulturen mit Erbsextrakt	Extraktmenge (Anzahl der zur Nährlösung zugesetzten ccm)	Entsprechende Menge Erbspulver (mg)	Aus der Kurve abgelesene Aneurinmenge	Aneurinmenge pro 1 g Trockensubstanz
mg	ccm	mg	γ	γ
7	$^2/_{10}$	0,8	0,01	12,5
11	$^5/_{10}$	2	0,02	10
17	1	4	0,04	10
26	2	8	0,07	8,75
48	4	16	0,12	7,5
83	8	32	0,35	11
			Mittelwert:	59,75 : 6 = 10 γ

Die Erklärung der Tabelle soll an Hand der Ausrechnung eines Wertes geschehen. In der ersten Kolonne der Tabelle greifen wir einen beliebigen Wert heraus, z. B. den zweitobersten : 11 mg. Das ist das Gewicht des Mycels aus einem Erlenmeyerkolben mit $^5/_{10}$ ccm Erbsextrakt. Bei der Extraktbereitung kam auf 4 mg Erbspulver 1 ccm H_2O, also entspricht nun den $^5/_{10}$ ccm Extrakt 2 mg Trockenpulver. Das Mycelgewicht von 11 mg wird auf der Kurve aufgesucht. Senkrecht unter diesem Kurvenpunkt kann auf der Abszisse die dazugehörige Aneurinmenge abgelesen werden : 0,02 γ. In 2 mg Erbspulver kann also 0,02 γ Aneurin nachgewiesen werden, d. h. 1 g Erbspulver enthält die Menge von zirka 10 γ Aneurin (der Wert in der hintersten Kolonne).

Auf diese Weise werden alle gefundenen Mycelgewichte ausgewertet, und aus allen Werten einer Serie wird der Mittelwert als der Aneuringehalt der betreffenden Substanz angesehen.

Das Resultat, das wir mit dieser Berechnungsart erhalten, stimmt überein mit demjenigen, welches sich durch Interpolieren der Kurven ergab. Die verwendeten Erbsen haben also in diesem Stadium einen Gehalt von 8—12 γ Aneurin pro g Trockensubstanz.

Da bei der grossen Anzahl Versuchsserien nicht immer so viele Kontrollserien mit reinem Aneurin hergestellt werden konnten, dass jede Kurve nahe zwischen zwei Kontrollkurven zu liegen kam (erste Berechnungsart), so wurde der Aneuringehalt nach der eben beschriebenen zweiten Berechnungsart ermittelt, da sie sich in Kontrollversuchen als zuverlässig erwiesen hatte. Allerdings werden die Werte um so unsicherer, je weiter die Kurve der Vergleichsserie von der Versuchskurve entfernt ist, da die Abstände der einzelnen Aneurinwerte nicht linear zunehmen.

Untersuchungsergebnisse.

1. Der Aneurinstoffwechsel während des Keimens.

Trockene Erbsensamen, sterilisiert nach Molliard (1921) und Combes (1918), nämlich zuerst für einige Sekunden in Alkohol 99 %, dann 2 Minuten lang in $HgCl_2$ belassen, hierauf mit sterilem Wasser gewaschen, wurden in einem sterilen Gefäss mit wenig Wasser zum Quellen und Keimen gebracht. Nach 6 Stunden, und dann alle 24 Stunden, wurden 50 dieser Erbsen von ihren Cotyledonen getrennt, die isolierten Keimlinge gewogen und getrocknet und dann, wie ihre Cotyledonen, zu Pulver verarbeitet für die Extraktion.

Dabei konnte die schon von van Tieghem (1918) erwähnte Erscheinung beobachtet werden, dass Frisch- und Trockengewicht des Keimlings zuerst abnehmen in den ersten Stunden der Keimung, was auf die Veratmung der im Keimling selbst vorhandenen Reservestoffe hindeutet. Nach zirka 50 Stunden erst beginnt das Trockengewicht des Keimlings wieder zuzunehmen. Die Zahlen gibt die folgende Tabelle an:

Zeit seit Beginn der Quellung	Mittleres Frischgewicht (Mittel aus 50 Keimlingen)	Mittleres Trockengewicht (50 Keimlinge)	%
Stunden	mg	mg	
6	9	2,8	31
24	8,76	2,29	26
48	11,44	2,14	22
72	21,6	2,8	13
100	61,8	5,08	8,2
120	68	5,65	8,3
144	123	9,04	7,35
168	138	10,18	7,37
216	209	15,8	7,5
264	276,66	22,26	8,03

Interessant ist dabei das Verhältnis von Trockengewicht zu Frischgewicht $\left(\frac{T}{F} \text{ in } \%\right)$:

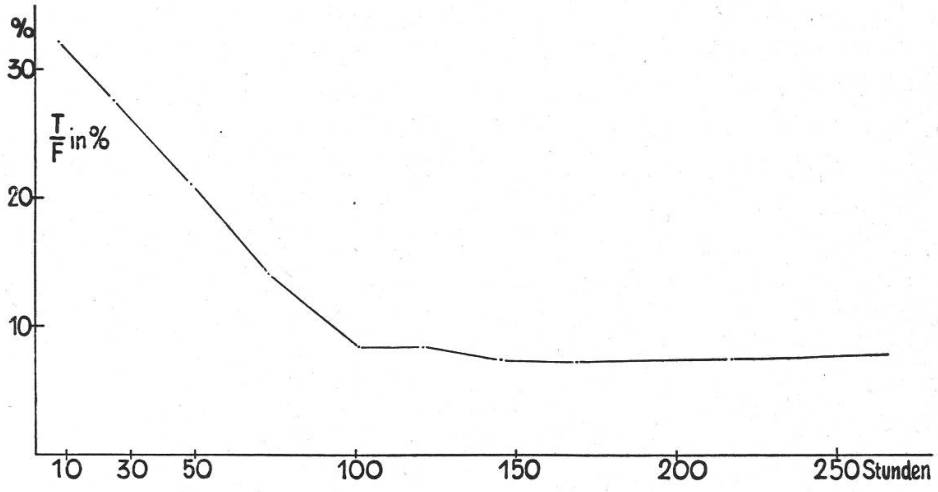


Abbildung 4.
Kurve von Trockengewicht: Frischgewicht bei Pisumkeimlingen.

Die Kurve, mit der Zeit seit Beginn der Quellung auf der Abszisse und dem Verhältnis $\frac{T}{F}$ in % auf der Ordinate, zeigt ein starkes Absinken bis zu etwa 100 Stunden, von welchem Zeitpunkt an ein Gleichbleiben des Verhältnisses festzustellen ist. Mehrere Versuche bestätigten dies.

Die Extrakte, hergestellt aus den Keimlingen der verschiedenen Altersstufen und ihren Cotyledonen (je 4 mg Trockenpulver auf 1 ccm H_2O), wurden alsdann in steigenden Mengen in Erlenmeyer mit Pilznährlösung gegeben, bzw. zuerst einer Laugebehandlung unterworfen. Den Gehalt an aktiven Stoffen zeigen nach 11 Tagen die Trockengewichte der Phycomycesmycelien an (in der graphischen Darstellung in mg auf der Ordinate angegeben; auf der Abszisse wird die der Kultur zugesetzte Extraktmenge angegeben).

Aus technischen Gründen mussten mehrere Versuchsreihen angelegt werden, deren Ergebnisse zahlenmässig etwas differieren wegen kleinen Verschiedenheiten in den äusseren Einflüssen, die ganz konstant zu halten man nicht in der Hand hat; alle zeigen jedoch eindeutig die starke Zunahme der Phycomycesgewichte mit zunehmendem Alter der Keimlinge. Die Zahlen sind in den Tabellen 1 u. 2 (Anhang) zusammengestellt; eine Reihe ist graphisch dargestellt: Abb. 5 (Kurve).

Der Keimling wird also reicher, die Cotyledonen werden ärmer an wirksamen Stoffen während der Keimung. Genaueres ergibt sich aus den absoluten Zahlen (Tabelle I). Sie wurden berechnet nach der eingangs beschriebenen Methode durch Vergleich mit den Kurven, wie sie

das synthetische Aneurin ergab. Die mit *Phycomyces* nachgewiesenen wirksamen Substanzen werden als Aneurin angesprochen, sofern sie durch Lauge in der Hitze zerstörbar sind. Danach nimmt der Aneuringehalt der Keimpflanze in der ersten Zeit ihrer Entwicklung stark zu bis zu einem verhältnismässig sehr hohen Betrag nach rund 200 Stunden (bei der Erbsensorte « Express »).

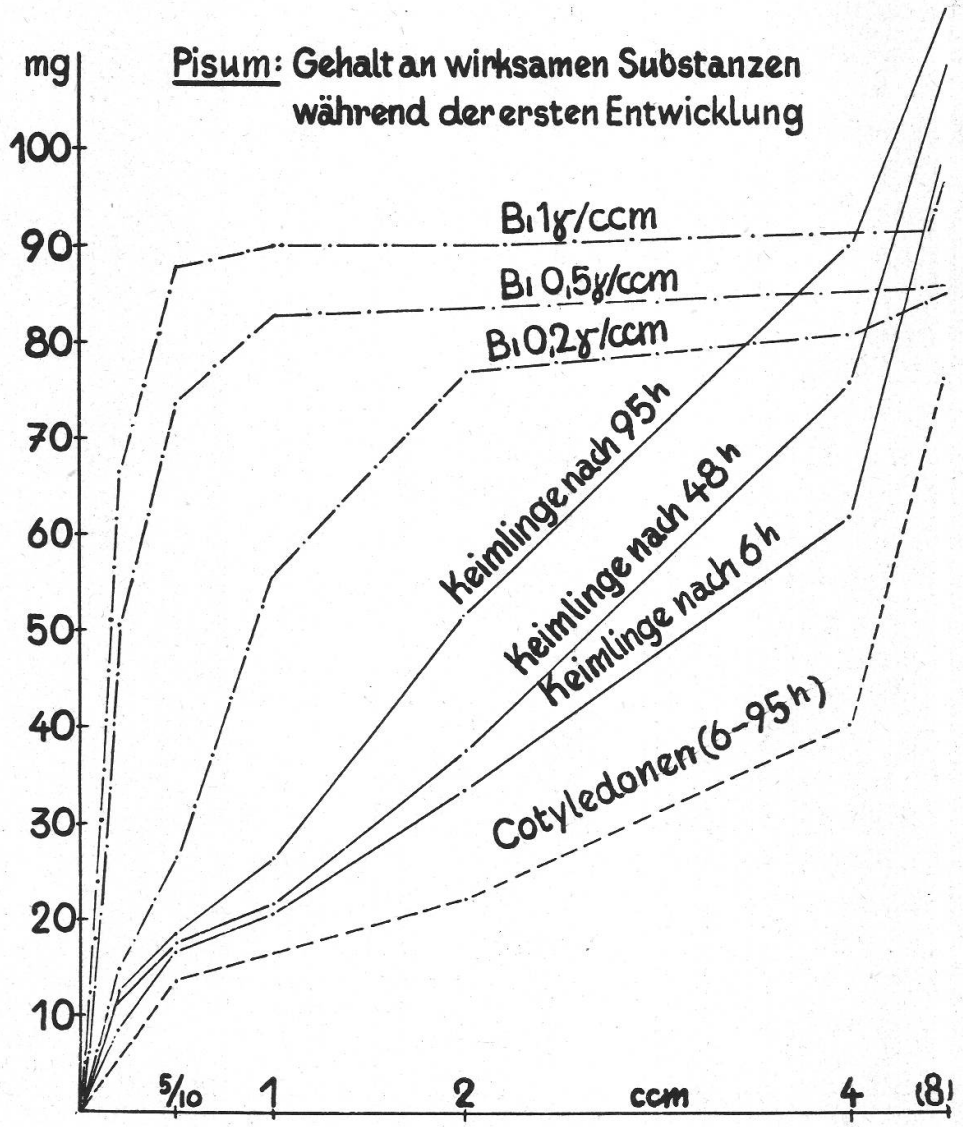


Abbildung 5 (zu Seite 350).

Der laugebeständige Anteil der gesamten Wirkstoffmenge ist zuerst ganz unbedeutend. In späteren Stadien ist er etwas grösser, aber, worauf es ankommt, im Vergleich zum laugeunbeständigen Teil immer noch gering.

Die Cotyledonen sind anfangs etwa halb so reich an wirksamen Substanzen wie die Keimlinge. Während der starken Aneurinzunahme im Keimling, d. h. während des ersten Wachstums, findet oft

auch eine geringe Zunahme in den Cotyledonen statt. Sie hält aber nicht lange an. Nach ungefähr 10 Tagen beginnen die Cotyledonen ärmer zu werden an aktiven Substanzen und enthalten nach 20 Tagen nur noch unbedeutende Mengen. Aus diesen Tatsachen geht hervor, dass im Keimling während des ersten Wachstums Aneurin neugebildet wird; besonders grosse Mengen in den ersten 10 Tagen. Die Ausgangssubstanzen dazu befinden sich wohl anfangs im Keimling selbst, später werden die Reserven in den Cotyledonen herangezogen (Rytz 1938 a u. b).

Man könnte noch einwenden, dass die zunehmende Wirkung auf das Wachstum des *Phycomyces* nicht nur vom zunehmenden Aneuringehalt des Keimlings, sondern von dessen zunehmendem Stickstoffgehalt herrühren könnte. Der Pilz erreicht in synthetischer Nährlösung unter den Bedingungen, wie sie die Standardmethode (nach Schopfer) vorsieht, mit zirka 0,5 γ Aneurin einen Entwicklungsgrad mit einem Mycelgewicht um 80 mg herum, das mit grösseren Mengen Aneurin nur noch ganz unwesentlich erhöht werden kann. Wird aber bei solch optimaler Aneurindosierung der Asparagingehalt der Nährlösung erhöht, dann nimmt das Gewicht noch wesentlich zu. Die Gewichtskurve steigt dann über das abgeflachte Stück der normalen Vitaminkurve hinaus steil an, bildet also einen Winkel mit diesem, der der Stickstoffwirkung zuzuschreiben ist und daher «Stickstoffwinkel» genannt wird (Schopfer u. Jung, 1937 a). Abb. 6. Die Standardmethode schreibt deshalb für die synthetische Nährlösung 1 ‰ Asparagin vor, was sehr genau eingehalten werden muss, wenn die verschiedenen Kulturen vergleichbar sein sollen.

Nun wäre denkbar, dass im Keimling aus den Cotyledonen organische, N-haltige Substanzen angereichert würden während des Keimens. Um auch darüber im klaren zu sein, wurden Cotyledonen und Keimlinge verschiedenen Alters auf ihren N-Gehalt hin untersucht (Mikrokjeldahl).[1] Dabei wurden folgende Zahlen gefunden :

Objekt	N-Gehalt	8 ccm Extrakt = 32 mg Subst. enthält N	Das sind von 25 ccm Nährlösung
	%	mg	‰
Cotyledonen, trocken	3,79	1,28	0,05
Embryonen, trocken	6,28	1,92	0,08
Cotyledonen, 24 h gequollen . .	3,83	1,28	0,05
Embryonen, 24 h	7,54	2,4	0,1
Cotyledonen von 10 Tage alter Pflanze	3,79	1,28	0,05
Keimlinge, 10 Tage	5,51	1,76	0,07

[1] Herrn V. Kocher danke ich hier für seine wertvolle Mithilfe.

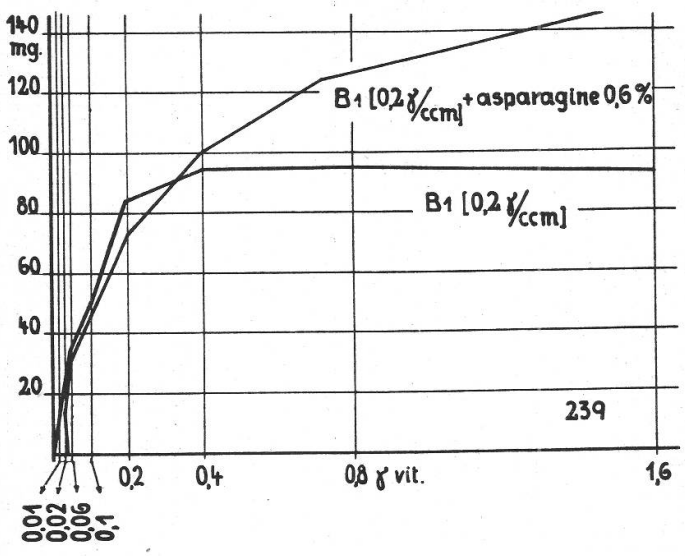


Abbildung 6.
Stickstoffwinkel in Phycomyceskurven
(nach Schopfer und Jung, 1937 a).

10 Tage alte Keimlinge (auf feuchtem Sand gekeimt), die nach unsern Bestimmungen ein Maximum an Aneurin enthalten, sind also eher noch ärmer an Stickstoff als Keimlinge (Embryonen) vor Beginn der Keimung. Im höchsten Fall befand sich neben der vorgeschriebenen Menge Asparagin 0,1 ‰ Stickstoff in der Nährlösung, von dem wir zudem nicht wissen, ob er in toto gleich wirkt wie der Asparaginstickstoff. Der N-Gehalt im Keimling nimmt während der Keimung also nicht stark zu, folglich kann die immer stärkere Wirkung der Extrakte auf *Phycomyces* nicht vom N-Gehalt herrühren, sondern ist auf eine Zunahme im Aneuringehalt zurückzuführen.

2. Der Aneuringehalt während der Hauptvegetationsperiode.

Pisumpflanzen (« Express ») wurden auch während der ganzen Entwicklung nach erfolgter Keimung auf ihren Aneuringehalt hin untersucht in der eingangs beschriebenen Weise. Die Pflanzen wuchsen in Töpfen, je 12 Exemplare in einem Topf im Gewächshaus unter günstigen Bedingungen. Ungefähr alle 10 Tage wurde eine Anzahl Pflanzen getrocknet, pulverisiert und zu Extrakt verarbeitet, und zwar die einzelnen Organe oder Organteile getrennt von einander. Nach 48 Tagen blühten die meisten Pflanzen; die Untersuchung konnte sich somit auch auf die Blütenteile erstrecken. Später wurden auch junge, ausgewachsene und daneben völlig ausgereifte Früchte und Samen untersucht. (Tabellen 4 und 5.)

Resultate: (Mycelgewichte in Tabelle 3 im Anhang)	Organ	Menge aktiver Stoffe (γ pro g Trockensubstanz)
1. 15 Tage alte Pflanzen	Stengel	17
	Blätter	25
	Cotyledonen	7
	Wurzel	9
2. 21 Tage alte Pflanzen	Stengel	12
	Blätter	14
	Cotyledonen	5
	Wurzel	11
3. 30 Tage alte Pflanzen	Stengel	9
	Blätter	13
	Wurzel	7
4. 40 Tage alte Pflanzen	Stengel	7
	Blätter	11
	Wurzel	6
5. 48 Tage alte Pflanzen	Stengel (unten)	6
	» (Mitte)	9
	» (oben)	20
	alte Blätter	11
	mittlere Blätter	14
	junge Blätter	19
	Wurzel	8
	Blütenknospen	23
	Kelch	21
	Krone	14
	Androeceum	13
	Gynaeceum	20

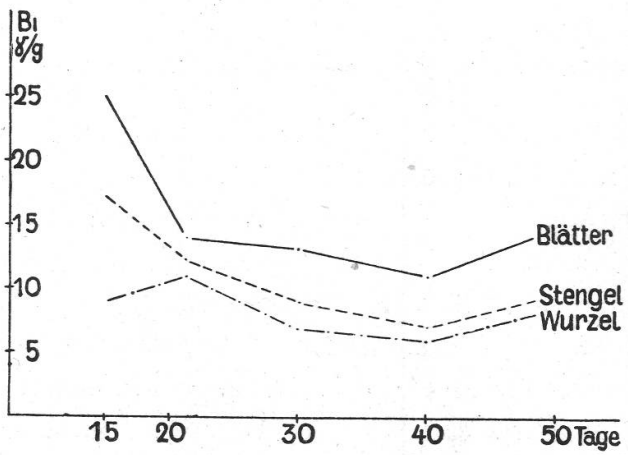


Abbildung 7.
Aneurinkurven verschieden alter Pisumpflanzen.

Diese Zahlen in einer Kurve dargestellt (Abb. 7) zeigen noch deutlicher, dass in den oberirdischen Organen eine Abnahme an aktiven Stoffen stattfindet mit zunehmendem Alter der Pflanze, bis zu einem für die einzelnen Organe verschiedenen, ziemlich konstanten Wert, der anscheinend längere Zeit so erhalten bleibt. Die schon anfangs nicht aneurinreichen Wurzeln erhalten ihren Gehalt ziemlich gleichmässig. Junge Organe sind immer viel reicher als alte. Der laugebeständige Anteil ist überall recht unbedeutend.

Von den Blütenteilen fallen die jungen Blütenknospen und das Gynaeceum auf durch ihren Reichtum an aktiven Stoffen. Die Blüten sollen später noch einer genaueren Untersuchung unterzogen werden, und zwar werden es Tulpenblüten sein, weil sie sich für diese Untersuchung besser eignen.

Es bestand nun noch die Vermutung, dass in den Blättern nicht nur Aneurin als solches gebildet würde, sondern möglicherweise dessen Komponenten, Pyrimidin und Thiazol, und zwar in nicht äquimolekularem Verhältnis. Dann würde ja der Phycomyces nur soviel anzeigen, als der schwächer vertretenen Komponente entspricht. Würde also z. B. wenig Pyrimidin gebildet und viel Thiazol, dann könnte durch das Mycelgewicht des Pilzes nur die der kleinen Pyrimidinmenge äquivalente Thiazolmenge nachgewiesen werden. Es wurde daher eine Prüfung zur Feststellung eines allfälligen Überschusses einer Vitaminkomponente vorgenommen. Dazu wurden eine Anzahl Erlenmeyer mit je 2 ccm eines Blattextraktes beschickt, eine gleiche Anzahl mit je 4 ccm und eine weitere mit je 8 ccm. Dazu kam natürlich überall 25 ccm der gewohnten Pilznährlösung. Jede dieser 3 Serien erhielt nun synthetisches Pyrimidin oder synthetisches Thiazol in steigender Menge zugesetzt und wurde dann mit Phycomyces-Sporen beimpft.

Wäre nun die eine dieser Komponenten in den Blättern reichlicher vertreten gewesen als die andere, dann wäre durch den Zusatz der andern Komponente das Wachstum des Pilzes so lange gesteigert worden, bis der Zusatz die der vorhandenen Komponenten äquivalente Menge erreicht hätte.

Das war aber keineswegs der Fall. Sämtliche Werte einer Serie stimmten mit geringen Unterschieden überein, d. h. die Kurven verliefen schon von Anfang an wagrecht, der Zusatz dieser Stoffe hatte keine Erhöhung des Mycelgewichts zur Folge. Ein paar Serien wurden auch mit laugebehandelten Extrakten beschickt. Auch diese ergaben keine Veränderung mit dem Zusatz der Aneurinkomponenten. Immerhin waren die Pilzmycelien der Gläser, wo Thiazol zugesetzt wurde, um ein weniges besser entwickelt als die übrigen. Der Pilz spricht allerdings oft auf Thiazol allein ein wenig an.

Um in dieser Sache ganz sicher zu gehen, wurde noch eine Chloroformextraktion vorgenommen. Thiazol ist ja in Chloroform leicht löslich, Aneurin dagegen sehr schwer. Zu Pulver zerriebene Blätter von *Pisum* wurden 4 Stunden im Soxhlet-Apparat mit Chloroform ausgezogen, das Chloroform dann entweder eingeengt und mit Wasser ausgeschüttelt oder zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und diese Phase mit Chloroform ausgeschüttelt, um die Pigmente zurückzuhalten; dann das Chloroform abgedampft und der Rückstand mit Wasser aufgenommen. Auf diese Weise musste allfällig vorhandenes Thiazol aus den Blättern gewonnen sein.

Diese Phasen der Pilznährlösung zugesetzt und mit steigenden Mengen von synthetischem Pyrimidin versehen, zeitigten durchwegs sehr geringes Pilzwachstum. Etwas mehr ergaben die ersten Wasserphasen, d. h. eine geringe Menge Aneurin wurde auch in Chloroform gelöst und konnte aber leicht mit Wasser ausgezogen werden. Am reichsten, und daher am meisten wachstumsfördernd auf den Pilz, waren die wässerigen Extrakte des mit Chloroform ausgelaugten Blattpulvers, also des Rückstandes im Soxhlet-Apparat. Das zeigt neuerdings, dass in den Blättern wohl reichlich Aneurin vorhanden ist, aber höchstens unbedeutend kleine Mengen Pyrimidin und Thiazol. Auch die Vermutung, eine der beiden Komponenten könnte in grösserer Menge gebildet werden als die andere, muss dahinfallen.

3. Der Aneurinstoffwechsel während der Samenreife.

Das Gynaeceum der Pisumblüte erwies sich als aneurinreich. Darauf stellt sich die Frage nach dem Aneuringehalt der reifenden Frucht, der jungen Samen, und endlich der reifen Samen. Die Früchte zur Untersuchung der verschiedenen Stadien wurden immer an den gleichen 6 Pflanzen eines bestimmten Topfes geerntet. Die in gewohnter Weise ermittelten Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Objekt und Stadium	Gesamtmenge der B_1-Wirkstoffe (ausgedrückt in γ pro g Trockensubstanz)
Halbreife Hülsen (3 cm)	11
Reife Hülsen	5
Kleine, unreife Samen	19
Ausgewachsene Samen (mit Samenschale)	15
Cotyledonen von ausgewachsenen Samen	24
Cotyledonen von reifen, trockenen Samen	11
Cotyledonen von reifen, 24 h gequollenen Samen	11
Embryonen aus reifen, trockenen Samen	16
Embryonen aus 6 h gequollenen Samen	16
Embryonen aus 24 h gequollenen Samen	16

Die unreifen, grünen, sehr saftigen Hülsen haben einen ansehnlichen Gehalt an aktiven Stoffen. Es verwundert aber nicht, dass beim Ausreifen, wo die Hülsen mehr und mehr austrocknen und pergamentartig werden, der Aneuringehalt stark abnimmt. Auch die Samen als Ganzes sind unreif reicher als ausgereift. Untersuchen wir aber den Samen genauer, indem wir Cotyledonen und Embryonen getrennt extrahieren und die nicht interessante Samenschale weglassen, dann sehen wir, dass die frischen Cotyledonen deutlich reicher sind an aktiven Stoffen als die trockenen.

Der Gehalt an laugebeständigen, aktiven Stoffen ist während der ganzen Entwicklung der Früchte und Samen in allen Teilen konstant, ziemlich gleich wie in den vegetativen Pflanzenteilen. Beim Übergang vom unreifen zum reifen, trockenen Samen, und wiederum beim Quellen des reifen Samens wurden aber eigenartige Veränderungen entdeckt. Eine nähere Untersuchung dieser Vorgänge ergab, dass der laugebeständige Teil der wirksamen Stoffe während des Reifens der Samen verhältnismässig stark ansteigt, um beim Quellen der Samen wiederum auf einen unbedeutenden Wert zurückzugehen. Die Verhältnisse ergeben sich am deutlichsten aus der Tabelle :

Objekt	Gehalt an wirksamen Substanzen in γ pro g	Davon ist laugebeständig
Ausgewachsene, frische Samen . . .	12	$^1/_{32}$
Reife, trockene Samen	12	$^1/_4$
Reife Samen, 6 h gequollen	11	$^1/_{16}$

Alte Pisumsamen (1 Jahr) hatten auch vor dem Quellen nicht mehr einen so hohen laugebeständigen, aktiven Teil, er war aber immerhin noch $^1/_8$ der gesamten Menge aktiver Substanzen.

Sicher spielt sich bei der Samenreifung ein Stoffwechselvorgang ab innerhalb der aktiven Substanzen, der beachtenswert ist. Die Vermutung liegt nahe, dass ein Zusammenhang besteht mit der Keimfähigkeit des Samens. Möglicherweise kann ein Same nur dann keimen, wenn dieser Wirkstoff-Stoffwechselvorgang schon stattgefunden hat. Um das klarzustellen, wurden 3 Arten von Pisumsamen unter genau denselben Bedingungen (auf feuchtem Sand) zur Keimung ausgelegt :

1. Ausgewachsene, aber nicht ausgereifte Samen, aus grünen, noch nicht « pergamentartigen » Hülsen.
2. Sogenannte « notreife » Samen, d. h. noch nicht vollständig ausgewachsene Samen, die aber an der Luft ausgetrocknet (gereift) wurden.
3. Vollständig reife, trockene Samen.

Alle diese Samen stammten von ein- und derselben Versuchspflanze und wurden gleichzeitig auf das Keimbett gebracht (desinfiziert). Der Befund nach 12 Tagen :

Von den unter 1. genannten Samen keimten nur 37 %. Von den unter 2. und 3. genannten keimten dagegen 100 %. Die unter 3. genannten entwickelten sich am schönsten.

Daraus ist zu schliessen, dass keimfähige Samen von *Pisum* einen Reifungsprozess hinter sich haben müssen, wie er vor sich geht beim natürlichen Austrocknen. Dabei gehen aber offenbar bestimmte Stoffwechsel-, insbesondere Aneurinstoffwechselvorgänge vor sich, von denen einer damit nachgewiesen sein dürfte.

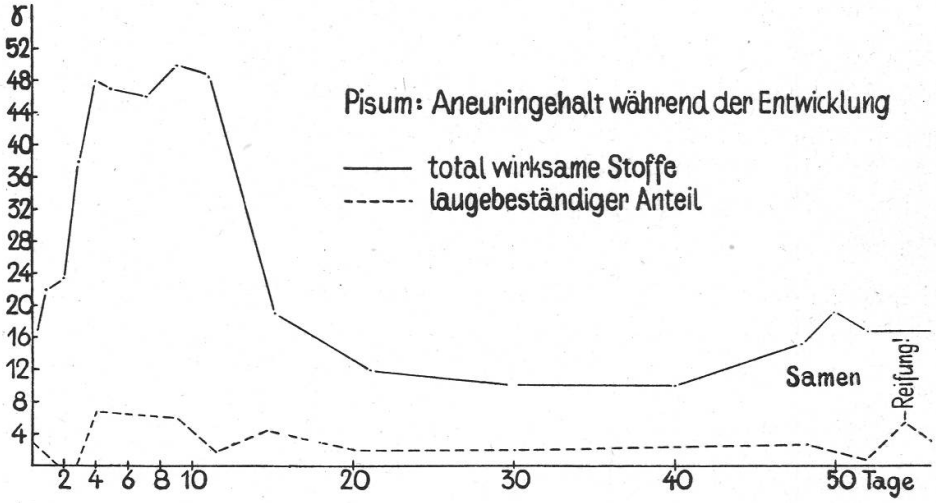


Abbildung 8.

Der Aneuringehalt der ganzen Pisumpflanze im Laufe ihrer Entwicklung. Die angegebenen Aneurinmengen sind Mittelwerte und wurden aus dem Gehalt der einzelnen Pflanzenteile errechnet. (Tabellen 1, 4 und 5.) An Stelle der alternden Pflanze wurden deren Samen genommen.

Zusammenfassend lässt sich über den Gehalt an Aneurin in der Pisumpflanze während ihrer ganzen Entwicklung folgendes sagen : Der Same enthält ansehnliche Mengen Aneurin; Samen der Sorte « Express » etwa 10 γ pro g. Während der Keimung erfolgt in der jungen Pflanze eine ganz beträchtliche Zunahme. Nach 8—10 Keimtagen, wenn die ersten Laubblätter entfaltet sind, ist ein Maximum erreicht mit ungefähr dem fünffachen Gehalt des Samens. Hierauf geht der Gesamtgehalt der Pflanze wieder zurück. Die jungen Blätter und die obersten Stengelpartien sind zwar noch immer sehr reich, die übrigen Teile der Pflanze aber bedeutend weniger. Im ganzen bleibt dann der Aneuringehalt ziemlich konstant, ungefähr 10—15 γ pro g. Die Blütenorgane sind reicher. Bei der Samenentwicklung haben wir durchwegs höhere Werte zu beobachten. Erst die ausgewachsenen Samen haben wiederum den niedrigeren Gehalt von ungefähr 10 γ/g.

Während der Reifung der Samen und wiederum während des Quellens der trockenen Samen geht eine bedeutende Änderung vor sich innerhalb der aktiven Stoffe, indem der laugebeständige Anteil beim Reifen erhöht wird und beim Quellen wieder zurückgeht, währenddem die Gesamtwirkung auf *Phycomyces* immer dieselbe bleibt. Möglicherweise ist das auch nur ein Vorgang, der mit dem Wasserentzug beim Austrocknen zusammenhängt, vielleicht ist es aber auch ein Überführen des Aneurins in eine beständigere Form zur Erhaltung dieser Stoffe während einer längeren Ruheperiode.

Die Befunde seien in Form einer Kurve dargestellt (Abb. 8). Die einzelnen Werte sind aber als Mittelwerte mit breiter Abweichungszone zu betrachten.

Kucera (1929) beobachtete mit dem Tiertest während der Keimung eine bedeutende Abnahme im Aneuringehalt der Samen. Möglicherweise ist der Tiertest hierzu zu wenig empfindlich, so dass der starke Anstieg ganz im Anfang nicht erfasst werden kann. Vielleicht wirken aber auch auf Pisum aneurinartige Stoffe ein, auf die der Phycomyces nicht anspricht. Auf solche ist in einer eben erst erschienenen Arbeit von Bonner[1] hingewiesen.

Kontrolle mit andern Erbsensorten.

Die genannten Erscheinungen wurden noch mit andern Erbsensorten geprüft, mit solchen, die möglichst verschieden waren von den « Express »-Erbsen. Zu dem Zwecke fiel die Wahl auf die kleinen, gelben Samen der Sorte « Prinz Albert » und die grossen Karerbsen « Aldermann ». Wir geben die Resultate nachstehend wie sie sich aus der Berechnung nach der gewohnten Art ergaben.

Gehalt an wirksamen Stoffen von 2 Erbsensorten.

Zeit seit Beginn der Quellung	„Prinz Albert“		„Aldermann“	
Nicht gequollen	13 γ	1/4	16 γ	1/4
8 h	9 γ	1/4	12 γ	1/3
24 h	8 γ		15 γ	
72 h	9 γ		13 γ	
96 h	15 γ		15 γ	
120 h	17 γ	Spuren	14 γ	Spuren
144 h	21 γ			
168 h	20 γ		16 γ	
240 h	22 γ	1/8		
288 h	34 γ		40 γ	
336 h	26 γ	1/12	21 γ	
360 h	26 γ			

[1] Bonner, J. and Buchman, E.: Syntheses carried out in vivo by isolated pea roots I. — Proc. Nat. Acad. Sci. Washington **24**, 431 (1938).

Die angeführten Zahlen[1] geben die gefundene Menge aktiver Stoffe in γ pro g Trockensubstanz an. Die gebrochenen Zahlen dahinter beziehen sich auf den laugebeständigen Anteil. Die Tabelle betrifft nur die Keimlinge. Gleichzeitig mit ihnen wurden auch ihre Cotyledonen untersucht. Wir lassen hier diese Zahlen weg, um die Tabelle zu entlasten. Es zeigte sich bei den Cotyledonen das zu erwartende Bild, eine Abnahme im Aneuringehalt.

Die beiden untersuchten Sorten zeigen nach einer anfänglichen kleinen Verminderung einen deutlichen Anstieg im Gehalt an wirksamen Stoffen, vornehmlich an Aneurin, bis zu einem Maximum und einem darauffolgenden Rückgang bis zu einem ziemlich konstant bleibenden Wert. Also analog wie bei « Express »; nur die absoluten Werte sind natürlich anders. Bei den « Aldermann »-Erbsen ging es verhältnismässig lange bis der Anstieg kam, er war dann aber auffallend scharf. Der Gehalt der Cotyledonen steht damit im Einklang: Solange die Keimlinge einen niedrigen Aneuringehalt aufweisen, ist derjenige der Cotyledonen verhältnismässig hoch. (Tabelle 2 im Anhang.)

Der laugebeständige Teil geht nicht sofort nach dem Quellen zurück, wie wir das von den « Express »-Erbsen her gewohnt waren. Nach 120 Stunden ist er jedoch fast nicht mehr nachweisbar. Der *Phycomyces* zeigte in den betreffenden Flaschen nur noch Spuren eines Mycels.

4. Aktive Stoffe in andern Pflanzen.

Mit den beiden genannten Erbsensorten zusammen wurde auch keimendes Mais untersucht. Die Resultate waren etwas unregelmässig. Die Keimlinge hatten zwar durchwegs einen sehr hohen Aneuringehalt — höher als die Erbsen — aber weder ein gleichmässiger Anstieg noch ein regelmässiger Abfall war zu beobachten. Es fiel aber auf, dass trockene Maiskörner sehr arm sind an Aneurin; in diesem Versuch nur 3 γ pro g. Nach 8 Stunden der Quellung enthielten die Keimlinge aber schon 30 γ, das Endosperm nur 2 γ. Es bleibt stets bei diesem niedrigen Wert, während der Keimling zwischen 20 und 40 γ schwankt.

Diesem Phänomen wurde aber nicht weiter nachgegangen. Vielmehr war es die Frage nach dem Aneuringehalt der Blütenteile, die noch näher zu untersuchen war. Die einzelnen Organe der Pisumblüte zeigten einen ziemlich hohen Aneuringehalt, namentlich der Kelch und das Gynaeceum. Das Androeceum erwies sich als weniger reich, doch ist dieser Wert etwas unsicher, da es ausserordentlich viele Blüten brauchte, um nur einigermassen Material zur Untersuchung zu erhalten; dieser Forderung wurden unsere Zuchten nicht ganz gerecht, das Material war nicht voll ausreichend. Es liegen aber Resultate vor,

[1] Vollständige Angaben auf Tabelle 2 (Anhang).

die besagen, dass Pollen sehr reich sein kann an Aneurin (Schopfer, 1934).

Daher musste zu einer Pflanze gegriffen werden, die genügend grosse Antheren besitzt, so dass leicht reichlich Material beschafft werden kann. Dieser Forderung genügte *Tulipa gesneriana,* eine gelbe Sorte (« Lord Cornavon »). Bei dieser Gelegenheit wurden gleich alle Hauptorgane der Tulpe untersucht (Tabelle 6). Es zeigte sich, dass sie hinsichtlich ihres Gehalts an Aneurin nicht an die Erbse heranreicht. Die gefundenen Zahlen sind :

		γ pro g Trockensubstanz
	Wurzel	5
	Zwiebel	2
	Stengel	3
	Blattbasis	4
	Blattspitze	4
Blüte:	Perianth	4
	Antheren	10
	Fruchtknoten	5
	Narbe	5

Im Gegensatz zu den Erbsen ist das Gynaeceum nicht besonders reich. Am auffallendsten ist der Wert der Antheren. Natürlich stellte sich sogleich die Frage nach besonderen biologischen Zusammenhängen. Folgenden 2 Fragen wurde experimentell nachgegangen :

1. Spielt das Aneurin des Pollens eine besondere Rolle beim Reifen der Frucht ?
2. Fördert das Aneurin die Pollenkeimung ?

Zu 1. Wenn durch das Eindringen von Wirkstoffen der Pollenkörner in die Narbe und in den Fruchtknoten ein Einfluss ausgeübt wird auf den Reifungsprozess der Frucht, dann muss es gelingen, eine Reifung hervorzurufen durch Anwendung von synthetischen Stoffen, ohne dass eine Bestäubung stattgefunden hat.

Folgende Versuchsanordnung wurde getroffen : In einem Beet gleicher Tulpen wurden eine Anzahl Blütenknospen geöffnet und die Antheren entfernt, um eine allfällige Autogamie auszuschliessen. Dann wurden diese Pflanzen einzeln mit hohen Glasglocken überstülpt, so dass eine Fremdbestäubnug ausgeschlossen war. Das gleiche geschah mit einigen unbehandelten Kontrollpflanzen.

⅓ der kastrierten Pflanzen wurde nicht weiter behandelt.

⅓ wurde mit Pollen derselben Rasse bestäubt.

⅓ erhielt während der Blühperiode mehrmals einen Wattebausch auf die Narbe gesetzt, der getränkt war mit einer Lösung von reinem, synthetischem Aneurin.

Nach 3 Wochen war durch Vergleich der übrigen Exemplare des Versuchsbeetes zu erkennen, dass keine der behandelten Pflanzen eine reife Frucht besass. Es ist also hier nicht möglich, mit Aneurin eine Reifung der Frucht auszulösen, ohne dass Bestäubung stattfand (Parthenocarpie). Ferner bestätigte sich auch bei dieser Tulpenrasse das Resultat von Simoni (1937), dass Pollen derselben Rasse keinen Erfolg hat (Xenogamie), nur Pollen einer andern Rasse (Allogamie).

Zu 2. Kuhn (1937) stellte fest, dass Pollenkörner von *Matthiola* auf künstlichem Substrat mit Saccharose leicht platzen und nur selten einen Pollenschlauch bilden, wenn sie einzeln ausgesät werden. Werden sie dagegen haufenweise ausgesät, dann platzen sie seltener, und Schläuche von ansehnlicher Länge werden gebildet. Weiter konnte Kuhn feststellen, dass Antherenextrakt Substanzen enthält, die das Platzen einzeln ausgesäter Pollenkörner verhindern, und die das Pollenschlauchwachstum stark fördern. Es muss sich um irgendwelche Wirkstoffe handeln, die in den Pollenkörnern vorhanden sind.

Wenn wir nun beträchtliche Mengen von aneurinartigen Substanzen in den Pollenkörnern von Tulpen nachweisen konnten, so lag es nahe zu vermuten, dass diese Substanzen möglicherweise das Pollenschlauchwachstum fördern könnten.

Versuche mit Tulpenpollen auf Agar und Saccharose (1,5 % Agar, 20 % Saccharose) in feuchter Kammer ergaben einmal genau das Resultat von Kuhn: Pollen keimen nur in grossen Haufen, einzelne Pollenkörner auf einem Tropfen Saccharose-Agar keimen nur sehr selten und bilden dann nur ganz kurze Schläuche. Nun wurde synthetisches Aneurin dem Substrat beigegeben in verschiedenen Konzentrationen (0,2 und 0,1 γ/ccm). Die Resultate waren aber nicht entsprechend besser. Mit einer einzigen Ausnahme zeigten die Objektträger mit aneurinhaltigem Substrat nicht besseres Pollenschlauchwachstum als diejenigen ohne das Vitamin.

Es soll damit nicht gesagt sein, dass dem Aneurin nicht auch eine wichtige Rolle zukommt bei der Entwicklung des Pollenschlauches. Die ganze Erscheinung der Pollenkeimung ist aber jedenfalls abhängig von sehr vielen Faktoren, denen bei diesen Versuchen nicht genügend Rechnung getragen werden konnte. Das wäre Stoff für eine selbständige Untersuchung.

Versuche mit Ascorbinsäure mit und ohne Aneurin ergaben ebenfalls keine guten Resultate.

Untersuchung verschiedener Pflanzen auf ihren Gehalt an Aneurin.

Nach der eingehenden Untersuchung von *Pisum* und auch von *Tulipa* war es aus Vergleichsgründen interessant zu wissen, wie sich Extrakte von andern Pflanzen auf das Wachstum von *Phycomyces* aus-

wirken. Das Verfahren (Extraktgewinnung, Behandlung, Berechnung) war genau dasselbe, wie es bei den Erbsen angewandt und beschrieben wurde. Schopfer (1936) hat bei der Untersuchung von 134 verschiedenen Arten (Phanerogamen und Pteridophyten) gezeigt, wie verschieden *Phycomyces* reagiert mit all den Extrakten. In Weiterführung dieser Untersuchung wurde eine allerdings recht bescheidene Anzahl höherer Pflanzen der Phycomycesanalyse unterworfen zur Ermittlung ihres Aneuringehaltes.

Der Gehalt an aktiven Stoffen bei verschiedenen Pflanzen.

Spezies	Wirksame Stoffe in 1 g Trockensubstanz	Laugebeständiger Anteil
	γ	%
Dryopteris filix mas (Sporophylle) . .	4	75
Picea excelsa, junge Triebe	4	50
Salix babylonica	6	50
Fagus silvatica	6	20
Corylus avellana, Blätter	5	20
Phleum pratense	7	25
Bromus erectus	4	50
Pirus malus, Blätter	3	23
Rhinanthus hirsutus	6	22
Pisum sativum, « Express » :		
Blätter	13	11
Wurzeln	5	25
Medicago sativa, Blätter	10 [1]	40
Medicago sativa, Blüten	10 [1]	40
Onobrychis viciifolia, Blätter u. Blüten	8	33
Vicia faba, Blätter	5	12
Aster amellus	5	17
Cuscuta spec. parasitierend auf Aster amellus :		
Stengel	4	20
Blüten	9	36
Hemerocallis spec. Blätter	4	12
Orobanche tussilaginis	7	56

[1] Schopfer (1936) findet mit *Medicago* ein sehr gutes Pilzwachstum; zudem kann er das darin enthaltene Aneurin bei pH 4,62 mit Fullererde adsorbieren, ein klarer Beweis für den Aneuringehalt der Pflanze. Usuelli und Bebi (1938) bestimmen mit dem Tiertest den Gehalt an Vitamin B_1 in frischen Blättern von *Medicago* u. a. Sie erhalten 5 I. E. pro g Trockensubstanz, das wären also 10—15 γ, was mit unseren Resultaten sehr schön übereinstimmt.

Aus der Tabelle geht hervor, dass die Papilionaceen den höchsten Gehalt an aktiven Stoffen (wohl zur Hauptsache Aneurin) aufweisen. Unter diesen wiederum sind unsere Erbsen « Express » die reichsten.

Die übrigen Pflanzen ergaben mit 3—7 γ einen verhältnismässig niederen Wert. Im laugebeständigen Teil sind sehr grosse Schwankungen zu beobachten. Vor allem fällt die Farnpflanze auf mit 75 %. Möglicherweise herrschen bei Kryptogamen andere Verhältnisse als bei Phanerogamen, d. h. es gibt dort vielleicht Wirkstoffe mit etwas anderem Charakter. Es dürfte aber doch zu gewagt sein, nach diesem einen Resultat Vermutungen zu äussern, dazu bedürfte es einer eingehenderen Untersuchung. Die Laugezahlen können auch für die andern Pflanzen interessant sein, müssten jedoch vorerst bedeutend vermehrt werden.

5. Besprechung der Resultate.

Bei der Untersuchung des Pisumsamens ist festzustellen, dass der Embryo im Verhältnis mehr Aneurin enthält als die Cotyledonen. Während der Keimung und ersten Entwicklung nimmt sein Gehalt noch stark zu bis zu einem Maximum, um dann wieder auf einen ziemlich konstanten Wert zurückzugehen. Offenbar ist beim Embryo bzw. der jungen Keimpflanze während dieser Entwicklungsperiode der Bedarf an Aneurin sehr hoch. In späteren Momenten, wo der Gesamtgehalt niedrig ist, sind die jungen Organe, hauptsächlich die jungen Blätter[1] und die Sproßspitze, also Pflanzenteile mit starkem Wachstum, die reichsten. Die Bildung des Aneurins muss zuerst im Keimling stattfinden, denn sein Aneuringehalt nimmt stärker zu als derjenige der Cotyledonen abnimmt. Nichts weist aber bis jetzt auf die Art dieser Synthese hin. Als Ausgangsstoffe dürften Substanzen in Frage kommen, die einmal im Keimling selbst, dann aber hauptsächlich in den Cotyledonen gespeichert sind. Nach der Wanderung in den Keimling wird daraus Aneurin gebildet, möglicherweise schon während der Wanderung.

Auffallend ist wiederum die Anreicherung des Vitamins im jungen Samen. Bei der Samenbildung wird es offenbar reichlich benötigt. Der reife Same ist nicht mehr so reich wie der unreife. Dann kommt der eigenartige Stoffwechselvorgang des Aneurins bei der Samenreifung, wo nachweisbar ein Teil in eine resistentere Form übergeht. Nähere Vermutungen über die Art dieses Vorgangs sind zum mindesten verfrüht. Es sei nur nochmals darauf hingewiesen, dass er parallel geht mit der Samenreifung (Austrocknung). Nur trockene Samen der untersuchten Pisumsorte keimen normal, auch dann, wenn sie nicht vollständig ausgewachsen sind. Dagegen sind ausgewachsene, aber nicht trockene Samen kaum zum Keimen zu bringen.

Beim Quellen des trockenen Samens konnte der umgekehrte Vorgang nachgewiesen werden, dass nämlich der laugebeständige Teil des

[1] Während der Redaktion dieser Arbeit erscheint eine Veröffentlichung von Bonner und Greene (Bot. Gaz. 100, 226, 1938), die zeigt, dass Aneurin in den jungen Blättern im Licht synthetisiert wird. Unsere Resultate würden also damit übereinstimmen.

Aneuringehaltes wieder verschwindet. In neuem Zusammenhang erscheint damit die alte Erfahrungstatsache wieder, dass der Same von *Pisum* erst nach einem vollständigen Trocknen keimfähig (reif) ist und dass ein richtiges Quellen die Keimung einleiten muss. Während diesem wird nicht nur einfach Wasser aufgenommen, es finden auch wichtige Stoffwechselvorgänge statt (wie das schon von andern Autoren betont wurde[1]).

Im Hinblick auf den Aneurinstoffwechsel sind also die auffallende Zunahme während der Keimung, die darauffolgende Abnahme auf einen im weitern ziemlich konstant bleibenden Totalgehalt, die Zunahme im jungen Samen und die Verwandlung bei der Samenreife bzw. Quellung bemerkenswert.

6. Zusammenfassung der bisherigen Ergebnisse.

1. Die einzelnen Teile des Samens von *Pisum* haben verschiedenen Gehalt an Substanzen, die auf *Phycomyces* wirken wie Aneurin (aktive Substanzen). Sofern sie nach einer Laugebehandlung in der Hitze ihre « Aktivität » verlieren, werden sie mit Aneurin (im biologischen Sinn) bezeichnet.
2. Im Verlauf der Keimung wird der Keimling reicher, die Cotyledonen ärmer an Aneurin. Der Aneuringehalt des Keimlings erreicht eine auffallende Höhe.
3. Nach 8—10 Tagen erreicht die Aneurinproduktion ein Maximum, worauf ein Rückgang nachzuweisen ist bis zu einem für die weitere Entwicklung ziemlich konstant bleibenden Gehalt.
4. Die reichsten Organe sind immer die jungen Blätter, ferner auch gewisse Blütenteile.
5. Der junge Same ist reich an aktiven Substanzen; der reife Same enthält wieder weniger davon.
6. Bei der Samenreife und bei der Quellung finden Vitaminstoffwechselvorgänge statt, indem bei der Reifung ein Teil der aktiven Substanzen in eine laugebeständige Form übergeht (sich also verhält wie Pyrimidin + Thiazol); bei der Quellung scheint der entgegengesetzte Vorgang stattzufinden. Die Gesamtmenge aktiver Substanz bleibt dabei die gleiche.
7. Eine Reihe anderer Pflanzen ergab bei der Untersuchung auf aktive Stoffe verschiedene, aber durchwegs niedrigere Werte als *Pisum*. Die Pollenkörner der Tulpe sind ziemlich aneurinreich. Eine direkte Wirkung des Vitamins auf die Pollenkeimung oder Fruchtreifung konnte aber nicht nachgewiesen werden.

---

[1] Cholodny (1935).

II. Teil.

Untersuchungen über die Wirkung von Vitaminen bei der ersten Entwicklung der Pflanzen.

1. Geschichtliches zur Zucht isolierter Embryonen.

Da sich ein pflanzlicher Embryo mit Hilfe der in seinem Reservematerial (Endosperm, Cotyledonen) enthaltenen Substanzen zum Keimling und schliesslich zur fertigen Pflanze entwickelt, so liegt es auf der Hand, den Versuch zu unternehmen, einem solchen Embryo die Reservesubstanzen wegzunehmen und sie durch ein künstlich zusammengestelltes Substrat zu ersetzen. Auf diese Weise ist es möglich, die zur Entwicklung notwendigen Stoffe und Ernährungsbedingungen kennen zu lernen.

Das Problem der cotyledonen- oder endospermlosen Zucht pflanzlicher Embryonen hat die Forscher seit Jahren immer wieder beschäftigt, es hat seine lange Geschichte und darf wohl heute nicht einmal als völlig geklärt betrachtet werden.

Weil in keiner der neueren Arbeiten ein vollständiger Überblick über dieses Gebiet gegeben wurde, so sei es hier gestattet, einen kurzen geschichtlichen Abriss darüber zu geben.

Der älteste Bericht über solche Untersuchungen, auf den ich jemals stiess, ist derjenige von Bonnet (1754). Möglicherweise ist er überhaupt der erste Forscher, der zu dieser Methode griff. In seinem V. Mémoire (S. 236 ff.) mit dem Titel: « L'usage des lobes et des feuilles séminales», beschreibt er Versuche mit in Gartenerde ausgesäten Samen von *Phaseolus multiflorus* und *Fagopyrum*. Nach dem Ankeimen wurden die Cotyledonen abgeschnitten. Die operierten Phaseoluspflanzen zeigten zwerghaften Wuchs, kamen aber z. T. zum Blühen. Cotyledonenlose Keimlinge von *Vicia faba* entwickelten sich ebenso zu Zwergpflanzen, solche von *Fagopyrum* dagegen gediehen meist überhaupt nicht : « J'ai tenté de priver le Germe de l'aliment délicat que renferment les Lobes,[1] & de substituër à cet aliment les Sucs grossiers de la Terre. J'ai donc enlevé le Germe d'entre les Lobes : j'ai coupé avec la pointe d'un Scalpel, les deux Faisceaux de Fibres qui le lient aux Lobes. Cette opération, quoique délicate, ne l'est pas à beaucoup près autant qu'on s'imagine. Elle réussit assez facilement, sur-tout si l'on a soin de mettre la Fève quelques jours auparavant dans une Eponge imbibée d'Eau . . . »

« Le 10. d'Août, j'ai planté un certain nombre de ces Germes dans un Vase plein de Terre de Jardin . . . »

---

[1] Lobes = Cotyledonen.

« Cette Expérience a réussi au delà de mon attente. Tous ces Germes ont pris Racine . . . »

« Il auroit été difficile alors de reconnoitre ces Plantes pour ce qu'elles étoient & un Botaniste qui auroit démélé qu'elles étoient des Haricots, les auroit pris pour une nouvelle espèce de Haricot Nain, remarquable sur-tout par son extrême petitesse . . . »

« Le 19. d'Octobre elles ont commencé à fleurir. Je les ai comparées alors avec des Haricots de même Espèce, & de même âge, mais qui n'avoient subi aucune opération. La hauteur de ces derniers étoit de 1 piê[1] ½, leurs plus grandes Folioles avoient 7 pouces[1] de longueur & 5 de largeur. La hauteur des premiers n'étoit que de 2 pouces; leurs plus grandes Folioles n'avoient que 15 lignes[1] de longueur sur 7 de largeur. Les Fleurs étoient d'une grandeur proportionnée, & en fort petit nombre . . . J'ai essayé en vain de tenir les Plantes dans une Chambre chaude, elles y ont péri. »

« C'eut été assurément une Expérience curieuse que de semer les Graines que ces très petits Haricots auroient vraisemblablement produit s'ils eussent été planté plutôt. Les Plantes qui seroient provenues de ces Graines auroient, sans doute, participé à la petitesse de leurs Mères; mais dans quelle proportion ? »

Dieses sehr bedeutsame Resultat von Bonnet wurde lange Zeit nicht überboten. Erst Sachs (1859) soll nach Andronescu mit *Phaseolus multiflorus* etwas bessere Resultate erzielt haben, ebenso Gris (1864) mit Embryonen von *Mirabilis* und *Zea*. Der Embryo von *Mirabilis* wächst ohne Endosperm gut nach van Tieghem (1873). Stingl erwähnt Untersuchungen von Blocyzewsky (1876), der mit 7 verschiedenen Pflanzenarten experimentierte und vollen Erfolg hatte, indem sich seine isolierten Embryonen zu Pflanzen entwickelten, die sich von den Kontrollen nur wenig unterschieden. Die Reservestoffe seien nur kräftigend. Demgegenüber sagt Haberlandt (1877), dass die Reservestoffe des Embryo einmal Schutzmittel seien, dann aber auch Einfluss hätten auf die Ausbildung der Blätter und Wurzeln.

Brown und Morris (1890) isolierten Gramineenembryonen und studierten deren Entwicklung auf artfremdem, künstlichem Substrat. Sie erhielten für die ersten Keimtage günstige Resultate. Hannig (1904, 1906, 1907) präparierte junge Cruciferenembryonen aus dem Endosperm heraus und konnte mit geeigneten Nährböden und Zuchtmethoden ausgewachsene, blühende Pflanzen erhalten. Waren aber die Embryonen unterhalb einer bestimmten Grösse (40—50 μ) im ersten Entwicklungsstadium, dann gelang die Zucht auf fremden Substanzen nicht mehr.

---

[1] 1 pied = 0,333 m; 1 pouce = 0,028 m; 1 ligne = 0,002 m.

Stingl (1907) arbeitete mit isolierten Gramineenembryonen, die er zwar zum Keimen brachte, aber dann nicht zur normalen Pflanze heranziehen konnte. Andronescu (1919) ersetzte bei Maisembryonen das Endosperm durch eine Nährstofflösung mit Zucker und zog darin gut gedeihende und blühende Pflanzen, die jedoch in allen Teilen kleiner waren als normale. Die Zucht gelang jedoch nur dann, wenn das Scutellum am Keimling belassen wurde. Ähnliche Resultate erzielten Esenbeck und Süssengut (1925). Dieterich (1924) konnte Embryonen verschiedener Angiospermen isoliert kultivieren, auch dann, wenn die Samen zwar ausgewachsen, aber noch nicht ausgereift waren. Jüngere Stadien boten Schwierigkeiten. Jedenfalls musste Zucker der Nährlösung beigefügt werden; ausserdem vermutet Dieterich, dass noch andere organische Stoffe nötig seien.

Brunner (1932) kultivierte isolierte Embryonen aus Kiefernsamen mit dem Ergebnis, dass das Endosperm nicht durch künstliche Nährmedien zu ersetzen war, ausser wenn der synthetischen Nährlösung wässeriges Endospermextrakt beigegeben wurde. Schander (1934) findet bei seinen keimungsphysiologischen Untersuchungen an Gramineen, dass exstirpierte Embryonen kaum wachsen können ohne Stoffe aus der Aleuronschicht.

Alle diese Forscher, wenn sie auch verschiedene Fragestellungen hatten, kamen, was die Zucht isolierter Embryonen anbelangt, zum Resultat, dass ein anorganisches Nährmedium nicht genügt, dass zum mindesten Zucker dazu gehört, um eine Entwicklung hervorzurufen; überdies fehlen den so kultivierten Embryonen zu einer normalen Entwicklung immer noch gewisse Faktoren, die ihnen von ihrem natürlichen Nährgewebe dargeboten werden. Schon Dieterich deutet es vage an, Schander denkt an aktive Stoffe, kann aber nachweisen, dass die wirksame Substanz in seinem Fall nicht Auxin ist.

Dass es sich hier um irgendwelche Wirkstoffe handeln könnte, liegt nach all dem tatsächlich nahe. Die Wirkstofforscher verwenden nun ihrerseits die Methode der Zucht von cotyledonen- oder endospermlosen Embryonen. Wir finden sie seit 1934 wieder oft angewendet unter diesem neuen Gesichtspunkt.

Ray (1934) wies nach, dass Vitamin C im Pisumsamen erscheint, sobald die Keimung beginnt. Um die Substanz zu finden, aus welcher der Keimling das Vitamin bildet, trennte er nach der Quellung der Samen die Cotyledonen ab und kultivierte die isolierten Embryonen auf einem sterilen Nährboden mit verschiedenen Zuckern, um zu sehen, ob auch so eine Vitaminbildung erfolgt, und unter welchen Bedingungen. Das Resultat ist insofern unerwartet, als die Entwicklung der Pflanze nicht parallel geht mit der Bildung von Vitamin C. Mit Mannose im

Nährboden wurden die grössten Mengen Vitamin gebildet, die Entwicklung war indessen viel schlechter als mit gewissen andern Zuckern, wo dann die Vitaminproduktion gering war. Die Embryonen waren sowohl hinsichtlich ihrer Vitaminproduktion als auch hinsichtlich ihrer Entwicklung inferior gegenüber solchen mit Cotyledonen.

Kögl und Haagen-Smit (1936) hatten in verschiedenen Pflanzen Biotin nachgewiesen. Besonders eindrücklich wurde gezeigt, wie die Cotyledonen von Erbsen täglich beträchtliche Mengen dieses Wuchsstoffes abgeben. Daneben war auch ihr Gehalt an Aneurin (B_1) bekannt. Allen diesen Wirkstoffen musste eine bestimmte Bedeutung für die Pflanze zukommen. Vermutlich beeinflussen sie die Entwicklung irgendwie günstig. So war zu erwarten, dass isolierte Embryonen in synthetischem Nährmilieu durch Zugaben von solchen Stoffen eine Förderung im Wachstum erfahren mussten. Sprosslänge und namentlich Trockengewicht der Embryonen nahmen mit Biotin tatsächlich wesentlich zu. Wurde an Stelle von Biotin dem Nährboden Aneurin zugesetzt, so war ebenfalls ein Mehrertrag nachweisbar. Beide Wuchsstoffe in geeigneten Mengen kombiniert übertrafen in ihrer wachstumsfördernden Wirkung jede einzelne Komponente.

Mit Vitamin C endlich fand Kögl keinen fördernden Einfluss. Am wirksamsten war aber ein Extrakt aus Cotyledonen. Schwach, aber doch deutlich, förderte auch Oestron das Sprosswachstum isolierter Embryonen. Eine sehr starke Zunahme gegenüber den Kontrollen ergab sich schliesslich mit den 3 Stoffen Oestron, Aneurin und Biotin zusammen.

Einen weiteren Beitrag zur Kenntnis der Rolle der Vitamine im Pflanzenwachstum lieferte van Hausen (1935, 1936). Nach einer genauen Festlegung der für Erbsen und andere Versuchspflanzen günstigsten Zusammensetzung einer Nährlösung wurden Versuche angestellt über die Wirkung eines Zusatzes von Vitamin C. Die Pflanzen gediehen dabei immer besser als die Kontrollpflanzen. Dann wurden auch Versuche angestellt mit cotyledonenlosen Keimlingen. Erbsen wurden zwar vorerst 6 Tage normal keimen gelassen, dann die Keimlinge getrennt von den Cotyledonen und in steriler Nährlösung täglich mit einer gewissen Menge Vitamin C bedacht. Die Entwicklung dieser Pflanzen war zwar nicht eine normale, aber eine ganz bedeutend bessere als diejenige der Kontrollpflanzen ohne Vitamin. Zum gleichen Resultat kam Havas (1935).

Schliesslich sind als neuste Arbeiten über dieses Kapitel diejenigen von Bonner und Axtman (1937) und von Bonner, J. und Bonner, D. (1938) zu erwähnen. Auch hier wurden wieder isolierte Embryonen von *Pisum sativum* in steriler Zucht auf synthetischem Nährboden studiert. Die Forscher bestätigen die fördernde Wirkung von

Aneurin, von Ascorbinsäure (Vitamin C) und von Folliculin. Werden Wuchsstoffe kombiniert, dann erhöht sich die Wirkung.

Eine besondere Untersuchung ist der Wirkung der Ascorbinsäure gewidmet, da darüber verschiedene Meinungen herrschen. Mehrere Forscher fanden eine fördernde Wirkung mit diesem Vitamin, so Havas, van Hausen u. a.; Kögl und Haagen-Smit dagegen sind nicht dieser Ansicht. (Ray hat nur die Produktion von Vitamin C der Embryonen untersucht, nicht ihre Entwicklung nach einer Zugabe des Vitamins. Es ist aus seinen Resultaten nicht ersichtlich, wie seine Pflanzen darauf reagiert hätten.)

Die Entwicklung der Keime wurde an der Sprosslänge gemessen. Dazu wurden sie auf ihren Gehalt an Ascorbinsäure geprüft. Die Untersuchungsergebnisse erklären die Divergenzen der andern Forscher: Die neun untersuchten Erbsensorten scheiden sich klar in zwei Gruppen. Einmal gibt es solche, bei denen das Wachstum und der Ascorbinsäuregehalt fast gleich bleibt, ob Vitamin C der Kultur beigegeben wird oder nicht. Dann gibt es Erbsensorten, deren isolierte Embryonen in der Sprosslänge und im Ascorbinsäuregehalt gewaltig zunehmen, wenn ihrer Nährlösung von dem Vitamin zugesetzt wird.

Je nachdem also eine Sorte gewählt wird, ist ein negatives oder ein positives Resultat zu erwarten mit Vitamin C. Man könnte also sprechen von Sorten mit Vitamin C-autotrophen Embryonen und von solchen mit C-heterotrophen Embryonen. Die Ascorbinsäure darf aber mit Bestimmtheit als Wachstumsfaktor dieser Pflanzen angesehen werden.

Die Reihe der genannten Arbeiten[1] zeigt, wie die Methode der Zucht isolierter Embryonen zu weitgehender Kenntnis des Keimungsvorganges und des ersten Wachstums geführt hat. Man ist jedoch nicht im Stande, Embryonen vom Beginn des Keimens an isoliert in künstlichem Nährsubstrat so zu kultivieren, dass sie an Grösse und Gewicht normalen Pflanzen gleichkommen. Wenn van Hausen solche erhielt, so ist dazu zu sagen, dass dabei die Embryonen erst nach sechs Tagen normaler Entwicklung isoliert wurden. Gerade in den ersten Stunden nach der Quellung, eigentlich schon während der Quellung gehen aber ausserordentlich wichtige Stoffwechselvorgänge vor sich. Rippel (1938) weist darauf hin, dass Auxinstoffe und auch auf Hefe wirkende Stoffe in den Cotyledonen in den frühesten Entwicklungsstadien eine bedeutende Rolle spielen.

---

[1] Auch hier ist auf die eben erst in unsere Hände gelangte Arbeit von *Bonner* und *Greene* zu verweisen, in der mit cotyledonenlosen Pisumkeimlingen nachgewiesen wird, dass Aneurin in den jungen Blättern im Licht erzeugt und nach der Wurzel geleitet wird, wo darauf hin eine Wachtumsförderung eintritt. (Bot. Gaz. 100, 1938, 226.)

Auch die Ergebnisse von Dostàl (1936) und Plch (1936) weisen auf solche Vorgänge hin. Im ersten Teil dieser Arbeit wurde auf die Aneurin-Stoffwechselvorgänge, die sich während des Quellens und während der Keimung abspielen, besonders eingegangen. In der Folge werden sich weitere Momente ergeben, die die Bedeutung der Cotyledonen für die ersten Stunden und Tage der Entwicklung zeigen.

Bonner gibt in seiner letzten Arbeit (1938) keine genaueren Angaben über die Entwicklung der Embryonen, wie er sie mit optimaler Wuchsstoffdotierung erhielt, im Vergleich zu normal entwickelten Pflanzen. Die angegebenen Längen der vier Wochen alten Pflanzen lassen aber auch auf kleineren Wuchs schliessen, als ihn normale Pflanzen nach dieser Zeit aufweisen würden. Wir vermuten, dass alle diejenigen Forscher, die von guten Resultaten bei der Aufzucht cotyledonenloser Embryonen berichten, die Cotyledonen erst nach einer gewissen Zeit nach dem Quellen entfernten, da sie wohl die Stoffwechselvorgänge der ersten Keimstunden nicht berücksichtigten. Ihre Resultate sind hier also nicht direkt vergleichbar. Es ist also unseres Wissens nie restlos geglückt, die Cotyledonen durch ein künstliches Substrat zu ersetzen und eine vollständig normale Entwicklung des Embryo hervorzurufen.

2. Problemlage.

Es war einmal das Ziel der in der Folge beschriebenen Untersuchungen, in dieser Richtung weiter zu gehen und eine noch bessere Entwicklung isolierter Embryonen herauszubringen; und dann sollte auf diese Weise die Wirkung gewisser Wirkstoffe, in erster Linie des Aneurins und seiner Komponenten (Pyrimidin und Thiazol) auf das erste Wachstum untersucht werden, nachdem aus den eingangs beschriebenen Versuchen hervorging, dass Aneurin von normalen Keimlingen in beträchtlicher Menge gebildet wird. Mit Rücksicht auf die genannten Stoffwechselvorgänge mussten die Cotyledonen so früh wie möglich entfernt und die Nährmedien ganz steril gehalten werden.

3. Experimentelles.

Versuchspflanze war *Pisum sativum*, die anfangs genannten Sorten « Express », « Prinz Albert » und « Aldermann ». Sie wurden desinfiziert nach der schon erwähnten Art, dann in sterilem Wasser sechs Stunden gequollen und sodann unter Wasser von der Samenschale und den Cotyledonen befreit (Abb. 9).

Die so gewonnenen Embryonen wurden nun in Bromwasser nochmals desinfiziert, da es sich gezeigt hatte, dass trotz der Samendesinfektion noch Bakterien auftreten können. Die von Klein und Kisser (1924) und andern beschriebene Desinfektionsmethode mit Brom-

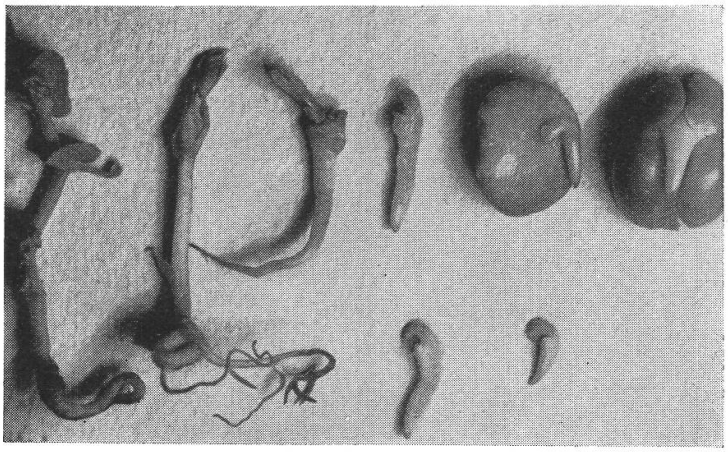


Abbildung 9.
Entwicklung von cotyledonenlosen Keimlingen.

wasser hat sich für diesen Fall sehr bewährt. Auf sterile Bakterien- und Pilznährböden ausgelegte Embryonen riefen nach dieser Behandlung keinerlei Infektionen mehr hervor.

Nach der Bromwasserbehandlung wurden die Embryonen in sterilem Wasser gewaschen und dann auf den bereitgehaltenen Nährböden in Gläser gebracht. In den ersten Versuchen wurde Knopsche Nährlösung verwendet, später war es immer die von van Hausen (1936) für Erbsen angepasste Hiltnersche Nährlösung. Dazu wurde ein Zucker gegeben, je nach Versuch in verschiedener Konzentration. Den nötigen Halt erhielten die Pflänzchen entweder durch Agar (1,75 %), wobei 30 ccm der Nährsubstanz in weite Gläser von 3 cm Durchmesser und 16 cm Länge gegeben wurden; oder die von Combes (1918) ausgearbeitete Methode kam zur Anwendung, wobei die Nährlösung ohne Festigungsmittel in Spezialzuchtgefässen mit Verengerung untergebracht war. Der Embryo befand sich in einem angepassten Trichterchen, mit der Radicula in die Lösung tauchend. Den Verschluss bildete ein Wattestopfen aus reinster Watte und eine Papierhaube zum Schutz gegen Feuchtigkeit. (Abb. 10 und 11.)

Nach dem Zubereiten und Abfüllen der Nährlösung wurden die Gläser sterilisiert, meistens an zwei aufeinanderfolgenden Tagen 20 bis 30 Minuten bei 115° im Autoklaven. Mussten hitzeempfindliche Stoffe zugesetzt werden, dann wurden sie entweder erst unmittelbar vor dem Einpflanzen der Embryonen zugesetzt, oder, wenn sie schon von Anfang an in der Nährlösung waren, dann trat an Stelle der Sterilisation im Autoklav eine Pasteurisierung : Erhitzen auf 80° während 15 Minuten an 3—4 aufeinanderfolgenden Tagen. Die Zuchtgefässe wurden nach dem Einsetzen der Embryonen auf besonderen Gestellen in Gewächshäusern untergebracht, wo sie genügend Licht und eine Temperatur von zirka 20° hatten.

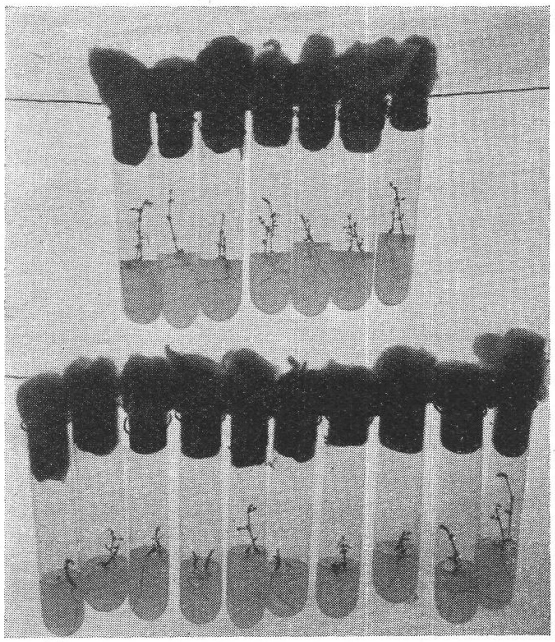


Abbildung 10.
Pisumzucht in Agar.

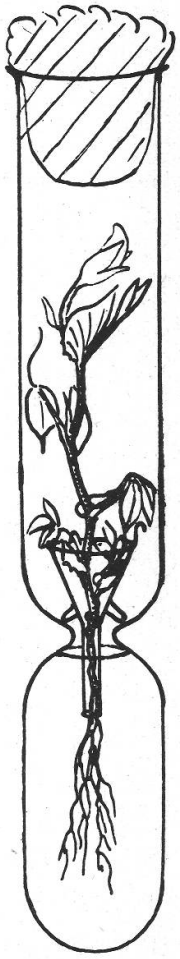


Abbildung 11.
Pisumzucht in flüssigem Nährmedium (nach der Methodik von Combes).

4. Die Ergebnisse.

a) Der organische Teil der Nährlösung.

Wie nach den übereinstimmenden Ergebnissen früherer Autoren zu erwarten war, konnte nie ein deutliches Wachstum festgestellt werden an cotyledonenlosen Embryonen, wenn die Nährlösung nicht noch Zucker enthielt. Eine Zugabe von Cotyledonenasche zur mineralischen Nährlösung machte nichts aus und eine solche von Cotyledonenextrakt nur sehr wenig. Ist ein Zucker zu mindestens 1 % in der Lösung vorhanden, dann kann sich der Embryo zu einer Pflanze von allerdings zwerghaftem Aussehen entwickeln. Die verschiedenen Zucker sind für dieses Objekt nicht alle gleich günstig : Als brauchbar für unsere Erbsen erwiesen sich Saccharose, Maltose, Mannose, Glucose, Laevulose. Arabinose war nicht brauchbar. Höhere Alkohole an Stelle eines Zukkers brachten nie einen ansehnlichen Erfolg : Sorbit ergibt nur eine schwache Entwicklung, Mannit gar keine, Glycerin nur eine schwache.

Die Reinheit der Zucker wurde geprüft mit Phycomyces. Die gewöhnliche Phycomycesnährlösung mit reiner Glucose ergibt ja nur ein unbedeutendes Wachstum (2—5 mg Mycelgewicht). Maltose (Kahlbaum) an Stelle der Glucose ergab 28—33 mg Mycelgewicht, Maltose (Merck) dagegen nur 6—7 mg. Gereinigte Laevulose (Merck) gab noch 7—14 mg, Saccharose nach zweimaligem Umkristallisieren nur noch 3 mg. Mit Glucose (Siegfried) wurde das günstigste Resultat erzielt, indem nur Spuren eines Mycels sichtbar wurden. Wir schliessen daraus, dass in dieser Glucose keine den Pilz im Wachstum fördernden Substanzen in wirksamen Mengen als Verunreinigung vorhanden sind. Für die Hauptversuche fiel die Wahl deshalb auf solche Glucose als dem zuverlässigsten Zucker.

Eine eigentümliche Beobachtung sei hier kurz erwähnt: Bei Versuchen mit Mannose sahen die Pflänzchen nach einem Monat in ihrem grünen Teil ungefähr gleich aus wie diejenigen mit Glucose. Diesen gegenüber aber hatten sie ausnahmslos eine ganz kurze und eher dickere Wurzel. Vielleicht wird man später eine Erklärung für diese Erscheinung finden. Sie soll hier lediglich erwähnt werden. Weitere Versuche mit Mannose wurden nicht unternommen. Abb. 12 zeigt die Wurzeln zweier Glucose-Pflanzen (1% Glucose) links, und diejenigen zweier Mannose-Pflanzen (1%) rechts.

Mit einem Versuch mit 2 %, 3 %, 5 % und 10 % Glucose im Nährmedium wurde die günstige Konzentration ermittelt. Abbildung 13 zeigt, dass das Optimum mit 5 % Glucose erreicht ist, wenn man die Gesamtlänge, besonders aber die Sprosslänge und den ganzen Habitus der Pflanzen betrachtet.

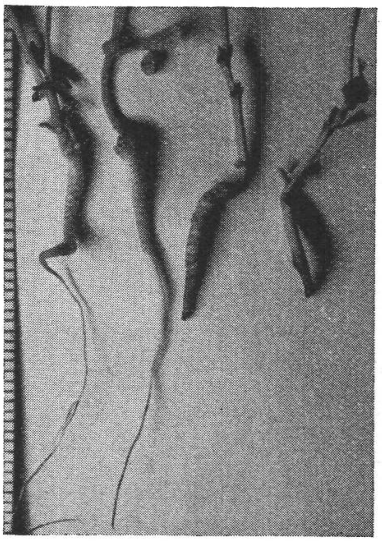


Abbildung 12.
Verschieden ausgebildete Wurzeln, links mit Glucose, rechts mit Mannose.

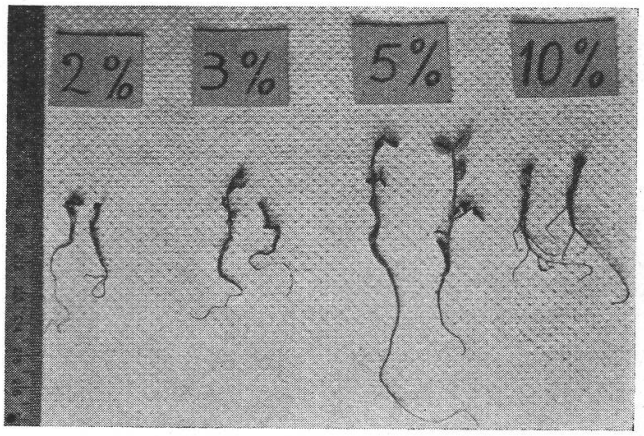


Abbildung 13.
Die Wirkung verschiedener Glucosekonzentrationen.

Anders steht es mit dem Trockengewicht : Es nimmt auch nach 5% noch zu, und die Pflanzen mit 10% Glucose, obwohl viel kleiner, sind doch deutlich schwerer als die grossen Pflanzen mit 5 % Glucose : Ca. 35 % mehr Trockengewicht. Trotzdem gilt uns 5 % Glucose als optimale Konzentration, da hier der Gesamthabitus der schönste ist. (NB. Alle diese Resultate stützen sich jeweils auf mindestens 20 Pflanzen mit der gleichen Behandlung.)

b) Wirkstoffprobleme.

Nach diesen Vorversuchen wurden der Nährlösung auch gewisse Wirkstoffe (Tabellen 7 und 8) zugeführt zum Studium ihres Einflusses auf das Wachstum der cotyledonenlosen Pflanze. Synthetisches Aneurin erhöht das Wachstum gegenüber den Kontrollen mit blosser Glucose nur dann, wenn diese in suboptimaler Konzentration vorhanden ist. Abb. 14 bringt das (für « Express »-Embryonen) schematisch zur Darstellung. Bei diesem Versuch war 5 % schon mehr als optimal. Das Optimum ist bei 3 % bis 4 % Glucose anzunehmen. (Solche Schwankungen bei Pflanzen derselben Sorte und desselben Alters sind auch in andern Versuchen etwa aufgetreten. Man muss dabei trotz grosser Vorsicht mit unkontrollierbaren Einflüssen rechnen.)

In einem Versuch mit allen drei genannten Erbsensorten wurden die folgenden Durchschnittsresultate erhalten :

Sorte	Kultur 40 Tage	Zahl	Sprosse (mm)	Frischgewicht	Trockengewicht
				mg	mg
Express	Kontrollen	11	92	114	23
	Vit. C	9	86	122	12,3
	Vit. B_1	9	108	139	13,2
	$B_1 + C$	12	86	104	10
	Thiazol	8	97	119	13,75
	Pyrimidin	5	102	140	12,8
	P + T	12	96	129	14
Pr. Albert	Kontrollen	12	65	113	18,75
	Vit. C	8	60	128	14
	Vit. B_1	12	48	123	13,75
	$B_1 + C$	10	48,5	96	11,3
	Thiazol	10	81	170	19,9
	Pyrimidin	10	54,5	132	13,6
	P + T	11	62	136	16,6
Aldermann	Kontrollen	11	95	155	30,3
	Vit. C	11	92	172	18,5
	Vit. B_1	12	98	208	19,4
	$B_1 + C$	16	94	145	14
	Thiazol	10	97	180	19,7
	Pyrimidin	10	93,5	210	21,2
	P + T	11	93	177	17

Legende: Kontrollen = Nährlösung nach Hiltner-van Hausen + 3 % Glucose + 1,75 % Agar
Vit. C = Ascorbinsäure, 1 mg pro Zuchtglas (zu 30 ccm Nährlösung)
Vit. B_1 = Aneurin, 10 γ pro Glas
$B_1 + C$ = Aneurin + Ascorbinsäure in obigen Mengen
P + T = Pyrimidin + Thiazol, je 5 γ pro Glas
Pyrimidin 10 γ pro Glas
Thiazol 10 γ pro Glas

Möglicherweise würden sich auch hier die Wirkstoffe deutlicher bemerkbar machen, wenn die Glucosekonzentration weniger hoch gewählt worden wäre. Auffallend sind die hohen Trockengewichte der Kontrollen. Da ja das Aneurin in den Kohlehydrat-Stoffwechsel eingreift, so frägt man sich hier, ob nach Zugabe dieses Stoffes ein intensiverer Kohlehydratabbau stattfand.

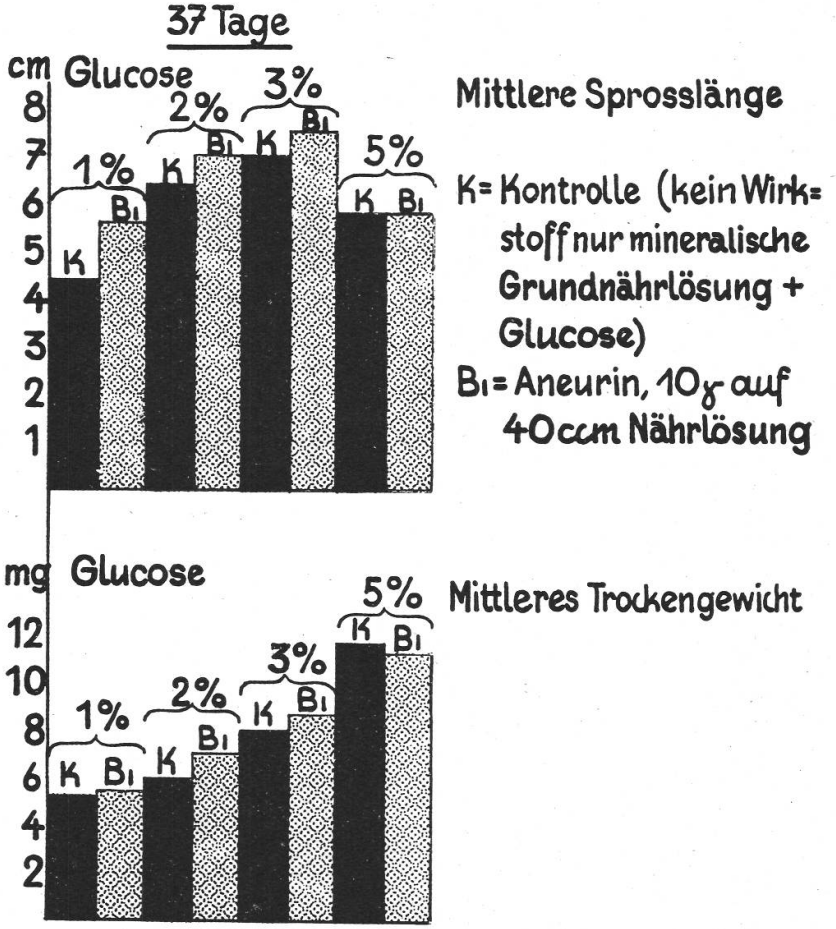


Abbildung 14.
Sprosslänge und Trockengewicht von Pisumkeimlingen mit und ohne Aneurinzusatz.

Aneurin gibt eine deutliche Förderung des Wachstums bei der Sorte « Express » und eine schwache bei « Aldermann ». Bei « Prinz Albert » dagegen sind die Sprosse der Vitaminpflanzen kürzer als die Kontrollen, nur das Frischgewicht ist etwas höher.

Es sei in diesem Zusammenhang an die Arbeit von James und David Bonner (1938) erinnert, wo durch die Verfasser gezeigt wird, dass Erbsensorten, welche reich sind an Vitamin C, auf eine Zugabe dieses Faktors zur Nährlösung nicht reagieren, dass dagegen Sorten, welche den Faktor im Verlaufe der ersten Entwicklung nicht oder nur in kleinen Mengen bilden können, mit einem auffallenden Zuwachs reagieren, wenn sie das Vitamin zugesetzt erhalten. Es lässt sich vermuten, dass es sich mit dem Aneurin ähnlich verhält. Im ersten Teil dieser Arbeit wurden die drei Erbsensorten auf ihren Aneuringehalt hin untersucht. Mit dem Phycomycestest konnten zwar nicht auffallende Unterschiede gefunden werden, immerhin erwies sich die Sorte « Prinz Albert » als reich an wirksamen Substanzen. Dazu kommt nun aber die Tatsache, dass die Erbsen dieser Sorte in Zuchten ohne Cotyledonen auch ohne einen Wirkstoff zum Blühen gebracht werden konnten. Das war bei den « Express »-Erbsen nur ein einziges Mal der Fall, bei den « Aldermann »-Erbsen kam es nie vor. Das scheint doch ein Hinweis zu sein, dass die « Prinz Albert »-Erbsen einen höheren Grad von Wirkstoff-Autotrophie besitzen als die übrigen Sorten. Im übrigen soll auf die Blütenbildung später noch näher eingegangen werden.

Über die Rolle der Abbauprodukte des Aneurins, Pyrimidin und Thiazol, wird man aus den oben angeführten Resultaten nicht klug. Eingehenderes soll aber auch darüber erst nach Berichten über weitere Versuche gesagt werden.

Ascorbinsäure scheint nicht fördernd, eher hemmend zu wirken. Das wird aber anders, wenn wir diesen Stoff in geringerer Dosis zusetzen und die Glucosekonzentration erniedrigen. Die Ergebnisse eines Versuchs mit solchen Verhältnissen sind in Abb. 15 dargestellt: Trockengewicht und Sprosslänge zeigen eine Vermehrung unter dem Einfluss der Ascorbinsäure. (Es handelt sich hier um «Express»-Erbsen.)

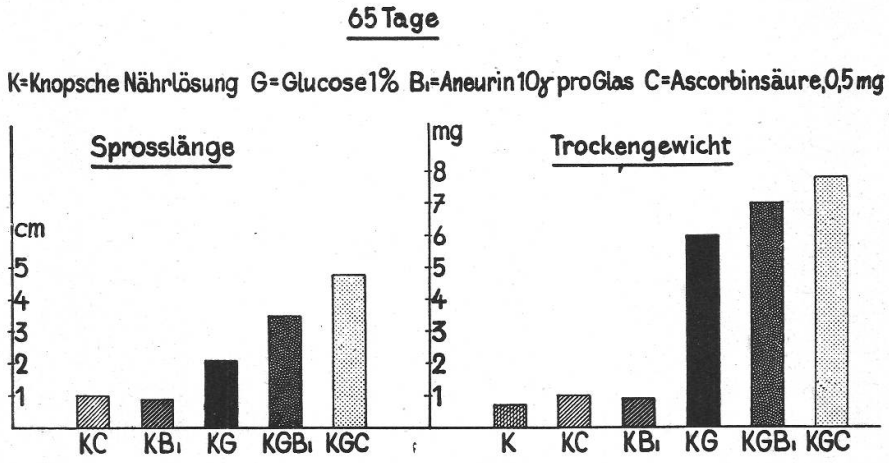


Abbildung 15.
Sprosslänge und Trockengewicht von Pisumkeimlingen in verschiedenen Nährmedien.

c) Der Einfluss von Wirkstoffen auf die Entwicklung cotyledonenloser Embryonen.

Die Rolle der zur Verfügung stehenden Wirkstoffe sollte sich aus einer grösseren Anzahl von Kulturen mit insgesamt über 1000 cotyledonenlosen Embryonen ergeben. Die Dauer einer Kultur betrug je nachdem 1—2½ Monate. Aus Gründen der Vereinfachung fand fast ausschliesslich die Sorte « Express » Verwendung. Ausser den 3 genannten Kulturen wurden 8 weitere durchgeführt, deren Resultate einzeln anzugeben zu weit führen würde. Es sei daher eine Zusammenstellung gegeben, wie sie sich bei der Durchsicht der Protokolle ergibt.

Die Wirkung von synthetischem Aneurin auf das Wachstum von cotyledonenlosen Erbsenkeimlingen, gemessen an der Sprosslänge, dem Frischgewicht, dem Trockengewicht und dem Gesamthabitus der Pflanzen : Aneurin fördert das Wachstum, sofern Glucose in suboptimaler Konzentration vorhanden ist (1—2%). Es fördert auch das Wurzel-Längenwachstum.

In den meisten Kulturen gab es sehr lange, aber äusserst spärlich verzweigte Wurzeln, wie erwähnt, besonders lange mit Aneurin. Wurde aber eine höhere Glucosekonzentration angewendet, dann wurden die Wurzeln viel stärker verzweigt. Mit steigender Glucosekonzentration nimmt die Zahl der Verzweigungen meistens zu.

Mit Pyrimidin allein gab es ein einziges Mal eine kleine Förderung gegenüber den Kontrollen, in allen andern Fällen nicht, so dass wohl angenommen werden darf, dass es hier nicht direkt wachstumsfördernd wirkt.

Thiazol allein: Hier liegen die Verhältnisse so, dass sehr schwer etwas Sicheres gesagt werden kann. In einem Fall war keine Förderung zu beobachten mit diesem Stoff, in zwei weiteren nur eine solche der Sprosslänge. Drei Kulturen zeigen eine deutliche, wenn auch nicht sehr starke Förderung. Es darf möglicherweise doch angenommen werden, dass Thiazol allein schon eine Wirkung auf das Wachstum ausübt; bei der verwendeten Sorte allerdings eine sehr schwache.

Pyrimidin und Thiazol in äquivalenten Mengen: Leider ist es unmöglich, hierüber etwas Bestimmtes auszusagen. In 3 Kulturen war das durchschnittliche Wachstum der mit diesen beiden Stoffen dotierten Pflanzen deutlich besser als diejenige der Kontrollen; in 4 weiteren Kulturen war keine Förderung zu sehen. Diese Frage abzuklären bleibe daher späteren Untersuchungen überlassen. Bonner (1938) findet für isolierte Wurzeln in synthetischer Nährlösung eine Förderung mit Pyrimidin + Thiazol. Es ist möglich, dass auch in dieser Hinsicht Unterschiede bestehen zwischen den einzelnen Pisumrassen.

Ascorbinsäure (Vitamin C) wirkt, wie schon gesagt, fördernd in kleinsten Dosen, namentlich im Anfang des Wachstums. Dieser

Befund ist ja schon bekannt aus den Arbeiten von van Hausen, Havas, Bonner u. a. Die Förderung bei den « Express »-Pflanzen war jedoch nie so stark, wie Bonner sie bei einigen Sorten fand, so dass anzunehmen ist, dass « Express » unter die Sorten mit viel eigener Ascorbinsäure zu rechnen ist. Ist die Ascorbinsäure-Konzentration zu hoch, dann wird vor allem das Trockengewicht der Pflanzen kleiner, deutlich kleiner als dasjenige der Kontrollen. Mit andern Wirkstoffen zusammen wirkt Ascorbinsäure auch fördernd.

Teilweise schwach wachstumsfördernd waren eine Anzahl anderer Stoffe oder gewisse Extrakte (z. B. Pilzextrakte), es soll aber in diesem Zusammenhang davon nicht die Rede sein.

Arteigene Stoffe der Erbse.

Zwischen dem Wachstum cotyledonenloser Embryonen auf einem Nährmedium mit synthetischen Wirkstoffen und dem normalen Wachstum mit den Cotyledonen gibt es noch eine Stufe zu untersuchen. Es handelt sich darum, den Embryonen zwar ihre Cotyledonen abzunehmen, als Ersatz dafür aber gewisse Teile davon in irgendeiner Form zurückzuerstatten.

1. Wie schon erwähnt, wurden einmal die Cotyledonen mit Wasser extrahiert, das Extrakt dann zur Nährlösung zugesetzt und mit dieser sterilisiert (im Autoklav). Der Erfolg war eine kleine Zunahme im Trockengewicht gegenüber den Kontrollen. Die Sprosslänge war gleich wie diejenige der Kontrollen.

2. Cotyledonen wurden verascht, die Asche mit HCl aufgenommen, die Lösung mit KOH neutralisiert und der Nährlösung in der den Cotyledonen entsprechenden Menge zugesetzt. Eine ansehnliche Förderung der Sprosslänge (28 %), nicht aber des Trockengewichts der cotyledonenlosen Keimlinge war zu beobachten. Es gibt offenbar Aschenbestandteile, die der gewöhnlichen Nährlösung fehlen. Möglicherweise handelt es sich dabei um bestimmte Metallionen. Entsprechende Versuche hatten aber wenig Erfolg, nur einmal wurde mit $Zn^{\cdot\cdot}$ eine kleine Förderung erzielt.

3. Kalt sterilisiertes Cotyledonenextrakt der Nährlösung zugesetzt ergibt im Sprosswachstum eine Förderung von 25 %, im Trockengewicht eine solche von 34 %. Das ist ein recht ansehnliches Resultat. Es gibt also in den Cotyledonen Substanzen, die nicht hitzebeständig sind, die ihre Wirksamkeit beim Autoklavieren verlieren. Weitere Schlüsse über die Natur dieser Stoffe dürfen aber aus diesen Beobachtungen nicht gezogen werden.

4. Schneidet man die Cotyledonen bei der Operation vor dem Einpflanzen nicht vollständig weg, sondern lässt von jedem Keimblatt $^1/_8$ mit dem Embryo verbunden, dann entwickelt sich eine junge Pflanze,

deren Sprosslänge 500 % und deren Trockengewicht 200 % höher ist als bei der Kontrollpflanze ohne Cotyledonen.

Um zu sehen, ob die Masse der Cotyledonen einen Einfluss hat auf das Wachstum, wurden bei einer Reihe von Erbsen verschieden grosse Cotyledonenstücke abgeschnitten. Nach einem Monat des Wachstums auf synthetischem Nährboden mit Glukose zeigten diese Pflanzen deutliche Grössenunterschiede. Ihre Grösse entsprach genau der Masse der stehengelassenen Cotyledonenstücke. Abb. 16 zeigt die ganze Reihe der gleichaltrigen, aber recht verschieden grossen Pflanzen.

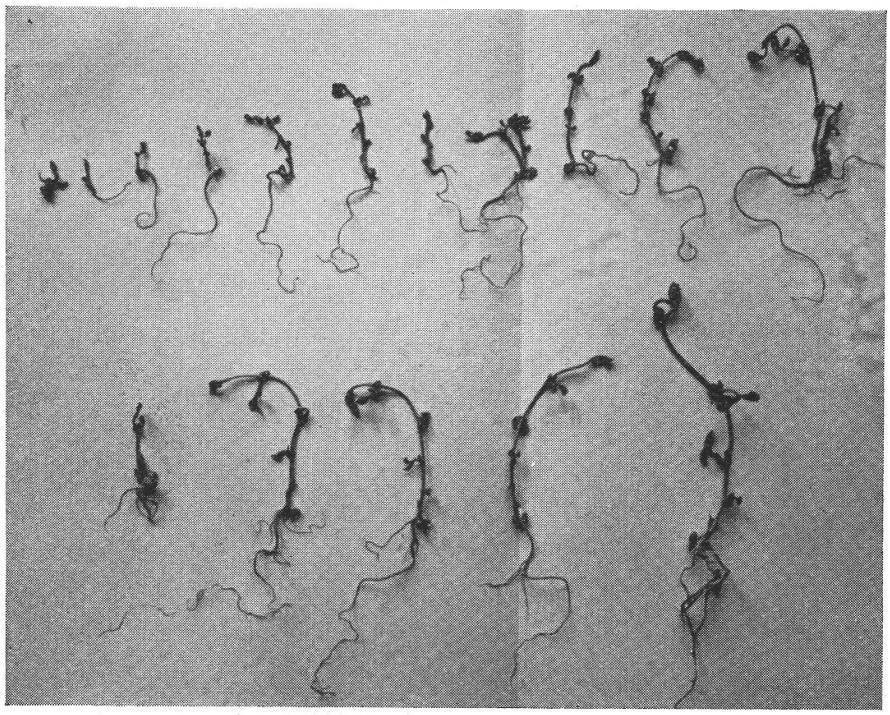


Abbildung 16.
Pisumembryonen mit verschieden grossen Cotyledonenstücken gezogen auf einem Nährmedium mit Knopscher-Lösung in Agar mit Glucose. Resultat nach 1 Monat: Sprosslänge und Blattgrösse entsprechen *der* Cotyledonenmasse, die am Embryo gelassen wurde.

Wie eingangs beschrieben, wurden jeweils die Erbsen sechs Stunden quellen gelassen, dann erst konnten die Embryonen herauspräpariert werden. Es gelingt zwar gelegentlich auch, aus harten, nicht gequollenen Erbsen die Embryonen herauszupräparieren. Eine Anzahl solcher trocken gewonnener Embryonen wurde auch noch einer Kultur beigefügt, um dem Vorwurf zu begegnen, dass Vorgänge sich in den ersten sechs Stunden der Quellung abspielen könnten, die mit dem gewöhnlichen Verfahren der Beobachtung entgingen. Die trockenen Embryonen müssen dann in der Nährlösung erst quellen. Dadurch ergibt sich eine Verzögerung im Wachstum. Nach einem Monat sind sie aber auch zu jungen Pflanzen herangewachsen. Ihre Sprosslänge ist nur etwa halb so gross wie diejenige der Kontrollen, d. h. der aufgeweicht herauspräparierten Keimpflanzen. Das Trockengewicht aber ist 10 % höher als bei den Kontrollen.

Diese Pflanzen sind also im Wachstum hinter den Kontrollen zurückgeblieben, sie sind kleiner, aber haben noch mehr Reservestoffe in ihrem Gewebe. Das wichtigste aber ist, dass sie auch normal keimen, trotzdem sie ohne die Cotyledonen quellen mussten.

In den Cotyledonen sind offenbar Stoffe vorhanden, die wir noch nicht durch synthetische ersetzen können. Darunter sind einige nicht hitzebeständig, andere wohl. Auch mineralische Bestandteile haben wahrscheinlich in geringen Mengen einen bestimmten Einfluss, vielleicht nur zusammen mit andern Stoffen.

Der direkte Übertritt der Stoffe aus den Cotyledonen in den Embryo durch das hierzu bestimmte Gewebe ist natürlich immer das günstigste. Zudem kommt es auf die Menge der dem Embryo zur Verfügung stehenden Stoffe an.

d) Zum Aneurin-Stoffwechsel bei cotyledonenlosen Embryonen.

Nach der Untersuchung der verschiedenen Wirkungen besonderer Stoffe auf die Entwicklung cotyledonenloser Embryonen frägt es sich, was in der Pflanze drin geschieht mit diesen Stoffen; ob sie aufgenommen werden als solche und gespeichert werden, oder ob sie eine Umwandlung erfahren bei der Aufnahme.

Da wir den Phycomycestest zur Verfügung haben, so ist es möglich, diesen Fragen nachzugehen, was die auf *Phycomyces* wirksamen Stoffe anbetrifft. (Tabelle 9.)

Die betreffenden cotyledonenlosen Pflanzen waren 65 Tage alt. In der Knopschen Nährlösung war 1% Glucose (Kontrollen), dazu Aneurin für eine erste Serie und für eine zweite Ascorbinsäure. Die Aneurinpflanzen waren grösser und schwerer als die Kontrollpflanzen, die Ascorbinsäure-Pflanzen übertrafen an Grösse und Gewicht die Aneurinpflanzen um ein weniges. Von den geernteten Pflanzen wurden Extrakte hergestellt wie gewohnt, auf 4 mg Trockensubstanz 1 ccm Wasser. Diese Extrakte in steigender Menge zu Pilznährlösung zugegeben und mit *Phycomyces* beimpft, hatten sehr verschiedene Wirkung.

Die auf diese Weise nachgewiesenen wirksamen Substanzen in γ B_1 pro g Trockensubstanz angegeben :

Extrakt aus :

Pflanzen ohne Wuchsstoffzusatz (Kontrollen)	37 γ
Pflanzen mit 0,5 mg Vitamin C im Nährboden	8 γ
Pflanzen mit 10 γ Aneurin im Nährboden	75 γ

Diese Ergebnisse sind eigenartig. Die Kontrollen erwiesen sich also als recht reich. Um so verwunderlicher ist es zu sehen, dass die Ascorbinsäure-Pflanzen so wenig auf *Phycomyces* wirksame Substanzen enthalten. Ob unter dem Einfluss dieses Stoffes ein Aneurinabbau stattfindet ? Die Aneurinpflanzen sind ausserordentlich reich an wirksamen Substanzen, wahrscheinlich speichern sie das aufgenommene Aneurin.

In gleicher Weise ausgeführte Versuche mit neuen Kulturen bestätigten dieses Resultat. Dazu kamen als neue Resultate niedere Werte für Thiazol- und für Pyrimidinpflanzen (ähnlich den Kontrollen) und

hohe Werte für Pflanzen, die bei der Zucht Pyrimidin + Thiazol erhalten hatten. Die auf *Phycomyces* wirksamen Stoffe (Aneurin, Pyrimidin + Thiazol) werden wahrscheinlich in der Pflanze angereichert. Nach den früheren Resultaten enthält eine normale Erbsenpflanze, auch in den Perioden ihres höchsten Gehalts an aktiven Stoffen, nie 75 γ pro g, allerhöchstens 50 γ.

Eine Laugebehandlung der Extrakte ergibt eine Kurve, die gleich aussieht wie diejenige ohne Laugebehandlung für die Extrakte der P + T-Pflanzen. Die Aktivität der Aneurin-Pflanzenextrakte wird durch die Laugebehandlung um mehr als die Hälfte herabgesetzt, ebenso die andern Extrakte.

Daraus ist zu schliessen, dass höchstwahrscheinlich diese Wirkstoffe als solche aufgenommen und angereichert werden, denn sie haben in der Pflanze drin die gleichen Eigenschaften wie als reine Substanzen.

Merkwürdig ist der geringe Wert bei Pflanzen mit Ascorbinsäurezusatz. Dazu ein weiterer Versuch: Pflanzen mit Ascorbinsäure und Aneurin im Nährboden enthielten weniger aktive Substanzen als solche mit purem Aneurin:

B_1-Pflanzen enthalten ca. 75 γ pro g Trockensubstanz
B_1+C-Pflanzen » » 60 γ » » »

Pflanzen, denen man einen Teil ihrer Cotyledonen stehen liess und die sich daher viel besser entwickelten, waren arm an aktiven Stoffen; ebenso Pflanzen, denen Heteroauxin gegeben wurde. War im Nährboden Heteroauxin und Aneurin vorhanden, dann konnten in den darauf gezüchteten Pflanzen nur ganz geringe Mengen aktiver Substanzen gefunden werden. Heteroauxin wirkt aber nicht etwa hemmend auf das Wachstum von *Phycomyces,* das wurde genau geprüft:

Wirkstoff in der Pilznährlösung	Phycomyces-Mycelgewichte mg				
Aneurin in opt. Dosis (0,5 γ)		83 mg	83	82	79
Heteroauxinconc.	0,0002 γ	0,02 γ	0,2 γ	2 γ	20 γ
Heteroauxin . . .	7 mg	9	8	3	8
H. + B_1 0,5 γ . .	87	79	84	84	84
H. + B_1 1 γ . . .			102	102	104

Resultat: Heteroauxin beeinflusst den Aneurinstoffwechsel bei *Phycomyces* nicht. Somit bleibt nur noch die Möglichkeit, dass Heteroauxin entweder bewirkt, dass weniger Aneurin aufgenommen wird, oder, dass es wohl aufgenommen, aber nicht gespeichert, sondern in irgendeine nicht aktive Form umgebaut wird.

e) Untersuchung der Nährböden.

Eine letzte Frage ist diejenige nach den Veränderungen in den Nährböden cotyledonenloser Pflanzen. Leider versagt die Thiochrommethode, sobald Glukose darin ist. So musste auch hier mit dem Phycomycestest gearbeitet werden.

Nach dem Herausnehmen der Pflanzen wurden die Gläser mit der Nährlösung sogleich wieder sterilisiert und mit Phycomyces und mit *Mucor Ramannianus* beimpft. Von letzterem wissen wir ja aus der Arbeit von Müller und Schopfer (1937), dass er ausser auf Aneurin auch auf reines Thiazol anspricht.

Wie zu erwarten war, zeigte sich, dass die Nährböden noch reich waren an wirksamen Stoffen, und zwar wirkten sie erwartungsgemäss je nach den zugesetzten synthetischen Stoffen. Nur eines war auffallend: Der *Phycomyces* gedieh auch auf den Nährböden der Kontrollen ziemlich gut. Das bedeutet, dass wirksame Stoffe, wie sie die Pflanze schon selbst enthält, auch ins Nährmilieu hinaus diffundieren.

f) Die Blütenbildung.

Eine vollständig ohne Cotyledonen gezogene Pisumpflanze (« Express »), (Abtrennung der Cotyledonen nach 6 h Quellung) bildete erstmals nach 3 Monaten eine Blüte: Abb. 17. Die Nährlösung (ca. 40 ccm) enthielt 2 % Glucose und 20 γ Aneurin. Um neue Blüten zu erhalten, wurde eine grössere Kultur angesetzt: 2-Liter-Erlenmeyer mit Hiltnerscher Nährlösung (steril) mit 5 % Glucose in Agar ohne einen Wirkstoffzusatz wurden mit cotyledonenlosen Embryonen bepflanzt. Nach etwas mehr als 2 Monaten hatten 3 von den 11 Pflanzen Blüten.

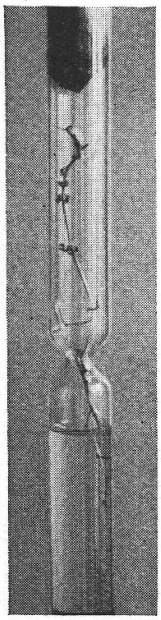


Abbildung 17.
Blütenbildung in vitro.

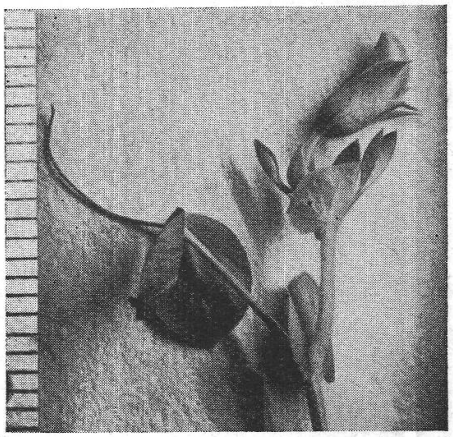


Abbildung 18.
Eine Pisumblüte, vergrössert.

In einer Kultur mit « Prinz Albert »-Erbsen gab es Blüten nach 1½ Monaten, und zwar unter den Kontrollen ohne Wirkstoff mit 3 % Glucose 1 Blüte, mit Aneurin 2 Blüten, mit Pyrimidin + Thiazol 2 Blüten und mit Aneurin + Ascorbinsäure 1 Blüte. Eine solche ist vergrössert in Abb. 18 abgebildet. Die Skala am Rand zeigt mm an.

Es darf wohl nicht ohne weiteres behauptet werden, dass an der Blütenbildung die zugesetzten Wirkstoffe schuld waren, dazu sind die Resultate zu spärlich. Bemerkenswert sind diese Blüten deshalb, weil sie zeigen, dass die Pflanze zur Blütenbildung der Cotyledonen nicht bedarf, dass sie während ihrer Entwicklung imstande ist, blütenbildende Hormone zu erzeugen und Blüten zu bilden zu einer Zeit, wo normalwachsende, grosse Pflanzen auch ihre Blütenknospen anlegen (2—3 Monate nach der Aussaat). Die Blüten unserer cotyledonenlosen Pflanzen waren zwerghaft wie diese selbst. Eine Frucht wurde nicht gebildet, trotzdem diese Sorten autogam sind.

5. Besprechung der Ergebnisse.

Nach diesen Untersuchungen muss festgestellt werden, dass erwartungsgemäss das Problem der Zucht cotyledonenloser Embryonen nicht gelöst worden ist, dass aber doch wiederum ein Fortschritt erzielt wurde gegenüber früheren Untersuchungen, indem es gelang, einen Einblick zu erhalten in Zusammenhänge des Kohlehydratstoffwechsels und des Aneurinstoffwechsels.

In der Zucht cotyledonenloser Embryonen gelang es, mit rein synthetischen Nährmedien Pflanzen zu erhalten mit 10 cm Spross- und 10 bis 14 cm Wurzellänge. Sie hatten Blätter, deren einzelne Fiederblättchen eine Fläche bis zu 1 cm^2 erreichten. Im Vergleich zu den (spärlich angegebenen) absoluten Masszahlen früherer Forscher dürfte das als Fortschritt angesehen werden.

Ein weiterer Punkt ist der Nachweis, dass es bei den Cotyledonen als der Nähr- und Wirkstoffreserve des Keimlings nur auf die Cotyledonenmasse, nicht auf gewisse Cotyledonenbezirke ankommt, wie Blagowetschenski (1936) behauptet.

Interessante Zusammenhänge bestehen zwischen dem Glucosegehalt der Nährlösung und der Aneurinwirkung. Eine solche war bei der untersuchten Erbsenrasse nur dann deutlich, wenn die Glucosekonzentration suboptimal gewählt wurde.

Was die Zuckerkonzentration anbelangt, so ist noch bemerkenswert, dass bei höheren Konzentrationen die Wurzeln stärker verzweigt waren als bei niedrigen Konzentrationen. Man könnte dabei an eine osmotische Wirkung denken. Mit Mannose an Stelle der Glucose bildete sich aber eine ganz eigentümliche, kurze, dicke Wurzel, was einen veranlasst, doch an eine stoffliche Beeinflussung zu denken und dann bei

Mutmassungen über die Ursache der Bildung von Wurzelverzweigungen auch diese Ansicht in Erwägung zu ziehen.

Endlich darf hervorgehoben werden, dass aus Erbsenembryonen, die von Anfang an ohne Cotyledonen in rein synthetischer Nährlösung gezogen wurden, blühende Pflanzen hervorgingen. (Van Hausen hat zwar noch schönere blühende Exemplare erhalten [1936], hat aber erst nach 6 Tagen, also wenn der Gehalt an B_1-Stoffen ein Maximum erreicht, die Cotyledonen entfernt. Daher ist ein direkter Vergleich mit unsern Pflanzen nicht möglich.)

III.

Zusammenfassung der Resultate.

Kommen wir am Schluss auf unsere Fragestellung zurück, so lässt sich auf Grund der erhaltenen Resultate folgendes sagen :

1. Aneurin wird von der Pflanze in den jungen, grünen Teilen, hauptsächlich in jungen Blättern und in der Sproßspitze gebildet. In verhältnismässig grossen Mengen entsteht es während des ersten Wachstums nach der Keimung.
2. Aneurin ist auch in der Blütenknospe reichlich vorhanden und später im Fruchtknoten. Der Same (die Cotyledonen und besonders der Embryo) enthält viel davon, augenscheinlich als Reservematerial für die erste Entwicklung.
3. Während der Samenreifung und wieder während des Quellens finden Umwandlungsvorgänge (Stoffwechselvorgänge) innerhalb der wirksamen Substanzen statt. Möglicherweise bestehen Zusammenhänge zwischen diesen Vorgängen und der Reife bzw. Keimfähigkeit des Samens.
4. Aneurin wirkt in synthetischer Nährlösung unter bestimmten Umständen begünstigend auf das Wachstum cotyledonenloser Embryonen, darf also, wie noch andere wirksame Substanzen, als ein Wirkstoff der höheren Pflanze bezeichnet werden. Möglicherweise steht es auch mit der Blütenbildung in irgendeinem Zusammenhang.

Die vorliegende Arbeit wurde in den Jahren 1936—1939 im botanischen Institut der Universität Bern ausgeführt. Herrn Prof. Dr. W. H. Schopfer, meinem hochverehrten Lehrer und Leiter dieser Arbeit, möchte ich auch an dieser Stelle für sein Interesse und seine wertvollen Anregungen meinen verbindlichsten Dank aussprechen.

Ferner möchte ich nicht verfehlen, Herrn Prof. Dr. Raoul Combes, Direktor des « Laboratoire de Physiologie Végétale » der Sorbonne in Paris für die liebenswürdige Aufnahme und die tatkräftige Unterstützung meiner Arbeit meines ergebensten Dankes zu versichern. Er gab mir während zehn Tagen Gelegenheit, mich in seine Technik der sterilen Zucht höherer Pflanzen in flüssigem Nährmedium einzuarbeiten.

Literaturverzeichnis.

1. Abba und Rondelli. 1903. Das Ätzsublimat und das Formaldehyd in der Desinfektionspraxis. — Centralbl. f. Bakt. Abt. 1, 33, 821 ff.
2. Andronescu, D. J. 1919. Germination and further development of the embryo of Zea mais separated from the endosperm. — Americ. Journ. Bot. 6, 443—452.
3. Blagowetschenski, W. A. 1936. Über die organbildenden Stoffe in den Cotyledonen der Pflanzen. — Bull. Biol. et Méd. U. R. S. S. 2, 367—369.
4. Blociszewski, Th. 1876. Physiologische Untersuchungen über die Keimung und weitere Entwicklung einzelner Samenteile bedecktsamiger Pflanzen. — Landw. Jahrb. 5, 145 ff. zit. nach Stingl 1907.
5. Bomskov, Ch. 1935. Methodik der Vitaminforschung. — Leipzig (Thieme).
6. Bonner, J. 1936. Plant tissue cultures from a hormone point of view. — Proc. Nat. Acad. Sci. 22, 426—430.
7. — 1937 a. Vitamin B_1 and the growth of roots: The relation of chemical structure to physiological activity. — Amer. Soc. of Plant Physiologists: Abstracts and titles of papers (14th Annual meeting).
8. — 1937 b. Vitamin B_1 a growth factor for higher plants. — Science 85, 183—184.
9. — and Addicott, F. 1937. Cultivation in vitro of excised pea roots. — Bot. Gaz. 99, 144—170.
10. — and Axtman, G. 1937. The growth of plant embryos in vitro. Preliminary experiments on the role of accessory substances. — Proc. Nat. Acad. Sci. 23, 453—457.
11. — and Bonner, D. 1938. Ascorbic acid and the growth of plant embryos. — Proc. Nat. Acad. Sci. 24, 70—75.
12. Bonnet, C. 1754. Recherches sur l'usage des feuilles dans les plantes et sur quelques autres sujets relatifs à l'histoire de la végétation. — (5 mém.) Göttingue et Leide (E. Luzac, Fils).
13. Bottomley, M. A. 1914. The significance of certain food substances for plant growth. — Ann. of Bot. 28, 531 ff.
14. — 1917. Some effects of organic growth-promoting substances (Auximones) on the growth of Lemna minor in mineral culture solutions. — Proc. Roy. Soc. Ser. B, 89.
15. Brown, H., and Morris, H. 1890. Researches on the germination of some of the Gramineae. — Journ. Chem. Soc. London, 57, 458 ff.
16. Brunner, G. 1932. Beiträge zur Entwicklungsphysiologie der Kiefernkeimlinge. — Jahrb. f. wiss. Bot. 76, 407—440.
17. Bucek, J. 1929. Teneur en vitamine des graines de céréales et de légumineuses. — C.-r. Soc. Biol. 100, 427.
18. Burmester. 1908. Vergleichende Untersuchungen über den Einfluss der verschiedenen Samenbeizmethoden auf die Keimfähigkeit gebeizten Saatgutes und über ihre pilztötende Wirkung. — Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 18, 154.
19. Cholodny, N. 1935. Über das Keimungshormon von Gramineen. — Planta, 23, 289—312.
20. Combes, R. 1917/18. Recherches biochimiques expérimentales sur le rôle physiologique des glucosides chez les végétaux. — Revue gén. de Bot. 29/30, 321 ff.
21. Dieterich, K. 1924. Über Kultur von Embryonen ausserhalb der Samen. — Flora, N. F. 17, 379 ff.
22. Dostál, R. 1936. Korrelationswirkung der Speicherorgane und Wuchsstoff. — Ber. Deutsch. Bot. Ges. 54, 418—428.

23. Duggar, B. M. 1919. Seed desinfection for pure culture work: The use of hypochlorites. — Ann. Mo. Bot. Gard. 6.
24. Esenbeck und Süssenguth. 1925. Aseptische Kultur pflanzlicher Embryonen, zugleich ein Beitrag zum Nachweis der Enzymausscheidung. — Archiv f. exp. Zellforschung, 1, 547 ff.
25. Friedrich, G. 1936. Untersuchungen über die Wirkung des natürlichen Wuchsstoffes und der β-Indolylessigsäure auf den Stoffwechsel der Pflanze. — Planta 25, 607—647.
26. Gautheret, R. 1937 a. Nouvelles recherches sur la culture du tissu cambial. — C.-r. Acad. Sc. 205, 572.
27. — 1937 b. Action de l'acide Indol-β-acétique sur le développement de plantules et de fragments de plantules de Phaseolus vulgaris. — C.-r. Soc. Biol. 126.
28. — 1937 c. La culture des tissus végétaux, son état actuel, comparaison avec la culture des tissus animaux. — Paris (Hermann).
29. Geiger, M. 1928. Beitrag zur Kenntnis der Physiologie keimender Samen I. Einfluss der Quellungsbedingungen auf den Gasaustausch. — Jahrb. f. wiss. Bot. 69, 331—356.
30. Geiger-Huber, M., und Burlet, E. 1936. Über den hormonalen Einfluss der β-Indolylessigsäure auf das Wachstum isolierter Wurzeln in keimfreier Organkultur. — Jahrb. wiss. Bot. 84, 233—253.
31. Grewe, R. 1937. Das Aneurin (Vitamin B_1). — Erg. d. Physiol. 39.
32. Gris, A. 1864. Recherches anatomiques et physiologiques sur la germination. — Ann. Sc. Nat. V. Bot. 2, 1 ff. zit. nach Andronescu 1919.
33. Hannig, E. 1904. Zur Physiologie pflanzlicher Embryonen I. Über die Kultur von Cruciferen-Embryonen ausserhalb des Embryosacks. — Bot. Ztg. 62, 45—80.
34. — 1906. Zur Physiologie pflanzlicher Embryonen II. Über das Zustandekommen der Lagerung der Keimlinge bei den Cruciferen-Embryonen. Ebenda 64, 1—14.
35. — 1907. Zur Physiologie pflanzlicher Embryonen III. Assimilieren Cruciferen-Embryonen in künstlicher Kultur die Nitrate der Nährlösung? — Ebenda, 65, 39—44.
36. Hausen, S. van. 1935. Effect of Vitamin C (Ascorbic acid) on the growth of plants. — Nature, 136, 516.
37. — 1936. The role of vitamin C in the growth of higher plants. — Ann. Acad. Sci. Fennicae. A. 46 Nr. 3. 134 pages.
38. Havas, L. 1935. Ascorbic acid (Vitamin C) and the germination and growth of seedlings. — Nature, 136, 435.
39. — 1935. Ascorbic acid (Vitamin C) and Phytocarcinomata. — Nature 136, 989.
40. Hlavaty, J. 1929. Sur la disparition de la vitamine B des graines germant dans un germoir ou dans le sol. — C.-r. Soc. Biol. 100, 587.
41. Jansen, B. C. P. 1936. A chemical determination of Aneurin (Vitamin B) by the thiochrom reaction. — Rec. Trav. chim. Pays-Bas 55, 1046.
42. Klein, G. und Kisser, J. 1924. Die sterile Kultur der höheren Pflanzen. — Jena (Fischer), Bot. Abh. H. 2.
43. Knight, B. C. J. G. 1937. The nutrition of Staphylococcus aureus. Nicotinic acid and vitamin B_1. — Biochem. J. 31, 731—737.
44. Kögl, F. 1935. Untersuchungen über pflanzliche Wuchsstoffe. — Die Naturwissenschaften, 23, 839—843.
45. — 1937. Wirkstoffprinzip und Pflanzenwachstum. — Ebenda 25, 465—470.
46. Kögl, F. und Haagen-Smit, A. J. 1936. Biotin und Aneurin als Phytohormone. — Zeitschr. f. physiol. Chem. 243, 209—226.

47. Kucera, C. 1928. Variations de la teneur en vitamine B_1 et C des graines de céréales au cours de la germination. — C.-r. Soc. Biol. 99, 988.
48. — 1929. Nouvelles recherches sur la diminution de la teneur en vitamine B des céréales et des légumineuses au cours de la germination. — C.-r. Soc. Biol. 100, 429.
49. Kuhn, E. 1937. Zur Physiologie der Pollenkeimung bei Matthiola. (Über die Bedeutung der Wasserwege und über «keimungsfördernde Substanzen».) — Planta, 27, 304—333.
50. Kuthy, A. von. 1937. Über die Änderung des Gehaltes an Vitamin B_1 und C während der Keimung von Getreidesamen. — C.-r. Vme Congrès international technique et chimique des industries agricoles, Schéveningue 1937, Vol. I.
51. Laibach, F. und Maschmann, E. 1933. Über den Wuchsstoff der Orchideenpollinien. — Jahrb. f. wiss. Bot. 78, 399—430.
52. Lasseur, Ph. et Girardet, F. 1924. L'eau pure en biologie. — Bull. Soc. Chim. Biol. 6, N° 4.
53. Lehmann, E. 1913. Über katalytische Lichtwirkung bei der Samenkeimung. — Biochem. Zeitschr. 50, 388—392.
54. — und Aichele, F. 1931. Keimungsphysiologie der Gräser. — Stuttgart (Enke).
55. Lipmann, F. 1937. Die Dehydrierung der Brenztraubensäure. — Enzymologia, 4, 65.
56. Lohmann, K. und Schuster, Ph. 1937. Über die Co-Carboxylase. — Die Naturwissenschaften, 25, 26.
57. Lustig, B. und Wachtel, H. 1938. Über biochemische Beeinflussung der Keimung und des Wachstums der Cardamine-Samen I. — Biochem. Zeitschr. 296.
58. Lwoff, A. et Dusi, H. 1938. Culture de divers Flagellés leucophytes en milieu synthétique. — C.-r. Soc. Biol. 127, 53.
58a. Molliard, M. 1921. Nutrition de la Plante. II. Formation des substances ternaires. — Encyclop. scient., Paris, Doin.
59. Müller, W. und Schopfer, W. H. 1937. L'action de l'aneurine et de ses constituants sur Mucor Ramannianus Möll. — C.-r. Acad. Sci. 205, 687.
60. Nobbe, F. 1876. Handbuch der Samenkunde. — Berlin (Hempel).
61. Peters, R. A. 1937. Die Physiologie des Vitamins B_1. — Deutsche med. Wochenschr. 63.
62. Pinoy et Magrou. 1912. Sur la stérilisation des graines. — Bull. Soc. Bot. France, 12, 609—612.
63. Plch, B. 1936. Über den Einfluss einiger Phytohormone auf die Korrelationswirkung der Keimblätter bei Pisum sativum. — Beih. z. bot. Zbl. A 55, 358—415.
64. Ray, S. N. 1934. On the nature of the precursor of vitamin C in the vegetable kingdom. I. Vitamin C in the growing pea seedling. — Biochemic. J. 28, 996 ff.
65. Rippel, K. 1938. Zur Methodik des quantitativen Nachweises von Zellteilungshormonen mittels Saccharomyces cerevisiae. — Planta 27, 381—391.
66. Robbins, W. J. and Bartley, M. A. 1937 a. Vitamin B_1 and the growth of excised Tomato roots. — Science 85, 246.
67. — and Bartley, M. A. 1937 b. Thiazole and the growth of excised Tomato roots. — Proc. Nat. Acad. Sc. 23, 385—388.
68. — and Bartley, M. A. 1937 c. Use of dextrose by excised Tomato roots. — Science 86, 290—291.

69. Robbins, W. J. and Bartley, M. A. 1938. Growth of excised roots of the Tomato. — Bot. Gaz. 99, Nr. 4.

70. — and Kavanagh, F. 1937. Intermediates of Vitamin B_1 and growth of Phycomyces. — Proc. Nat. Acad. Sc. 23, 499—502.

71. Rytz, jr. W. 1938 a. L'aneurine comme facteur de croissance chez Pisum. Contributions au métabolisme des facteurs de croissance. — C.-r. Soc. Biol. 127, 273.

72. — 1938 b. L'aneurine, facteur de croissance de Pisum. Recherches sur l'évolution du taux d'aneurine au cours de la germination et du développement. — C.-r. Soc. Biol. 129, 814—815.

73. Sachs, J. 1859. Physiologische Untersuchung über die Keimung der Schminkbohne (Phaseolus multiflorus). — Sitzungsber. Kaiser. Acad. Wiss. Wien, Math.-Natur. Kl. 37, 57. zit. Andronescu 1919.

74. Schander, H. 1934. Keimungsphysiologische Studien über die Bedeutung der Aleuronschicht bei Oryza und andern Gramineen. — Zeitschr. f. Bot. 27, 433—515.

75. Schopfer, W. H. 1934. Sur la préparation par dialyse du facteur de croissance de microorganisme. Son existence dans les anthères de diverses fleurs. — C.-r. Soc. Phys. et hist. nat. Genève 51, 169.

76. — 1935. Recherches sur l'utilisation des facteurs de croissance par un microorganisme. La synthèse biologique des facteurs de croissance. — Arch. f. Mikrobiol. 6, 196—207.

77. — 1936. Vitamines et facteurs de croissance chez les plantes. Recherches sur l'action de divers extraits végétaux sur le développement de Phycomyces. — Ebenda 7, 156.

78. — 1937 a. La spécificité d'action de l'aneurine sur Phycomyces. Le rôle des constituants de l'aneurine et de leurs produits de substitution. — Bull. Soc. Bot. Suisse 47, 460.

79. — 1937 b. L'action des constituants de l'aneurine sur des levures. — C.-r. Acad. Sci. 205, 445—447.

80. — 1938. Aneurine et hétérotrophie chez les microorganismes. — Arch. f. Mikrobiol. 9, 116—128.

81. — und Blumer, S. 1938. Untersuchungen über die Biologie von Ustilago violacea (Pers.) Fuck. II. — Arch. f. Mikrobiol. 9, 305—367.

82. — et Jung, A. 1937 a. Un test végétal pour l'aneurine. Méthode, critique et résultats. — C.-r. Vme Congrès internat. tech. et chim. Schéveningue 1937.

83. — et Jung, A. 1937 b. L'action des produits de désintégration de l'aneurine sur Phycomyces. Le second facteur de croissance des Mucorinées. — C.-r. Acad. Sci. 204, 1500.

84. Simoni, D. 1937. Osservazioni sulla fertilità e ricerche citologiche-embriologiche in Tulipa Gesneriana L. — Diss. Zürich; Bellinzona (Grafica Bellinzona S. A.).

85. Simonik, F. 1929. Teneur en Vitamine C des graines de légumineuses pendant la germination. — C.-r. Soc. Biol. 100, 431.

86. Stingl, G. 1907. Experimentelle Studie über die Ernährung pflanzlicher Embryonen. — Flora 97, 308—331.

87. Van Tieghem, P. 1873. Recherches physiologiques sur la germination. — Ann. Sc. Nat. V. Bot. 17, 205.

88. — 1918. Eléments de Botanique. — Vme éd. (J. Costantin). Paris (Masson).

89. Usuelli, F. and Bebi, F. 1938. Antineuritic vitamin in fresh leaves of Hedysarum coronarium and Medicago sativa. — Boll. Soc. ital. Biol. spec. 13, 46.

90. Virtanen, A. and Hausen, S. van. 1933. Effect of yeast extract on the growth of plants. — Nature 132, 408—409.

91. — and Hausen, S. van. 1934. Effect of yeast extract on the growth of plants. — Ebenda 133, 383.

92. — and Hausen, S. van. 1936. Vitamins and plants. — Ebenda 137, 779.

93. White, Ph. R. 1937 a. Seasonal fluctuations in growth rates of excised Tomato root tips. — Plant Physiology 12, 183.

94. — 1937 b. Separation from yeast of materials essential for growth of excised Tomato roots. — Ebenda 12, 777.

95. — 1937 c. Amino acids in the nutrition of excised Tomato roots. — Ebenda 12, 803.

96. — 1937 d. Vitamin B_1 in the nutrition of excised Tomato roots. — Ebenda 12, 811.

97. Willstaedt, H. 1935. Die Vitamine; jetziger Stand ihrer Chemie und Biochemie. — Klinische Wochenschr. 14, 841, 1089, 1665, 1705.

98. Zinzadzé, C. R. 1932. Recherches sur la nutrition artificielle des plantes cultivées. — Thèse, Paris (Jouve).

Anhang.

Tabellen.

Tabelle 1.

Phycomycesgewichte und Aneuringehalt von Pisumkeimlingen.

Alter	2/10	5/10	1	2	4	8	5/10	1	2	4	8	Total[2] aktive Stoffe γ/g
							(mit Lauge behandelt)					
	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	γ
1. Keimlinge von 6 bis 168 Stunden.												
6 h	7	13	24	35	48	85	2	5	5	5		27
24	7	10	17	29	43	87	2	2	4			20
48	8	11	19	28	56	96						24
72	8	18	22	44	79	102	—	1	3	4		38
100	12	19	32	44	91	114	5	7	11	15	24	48
120	10	18	30	55	85	106	5	9	12	16	24	47
168	6	18	29	54	90	100	3	6	9	13	20	46
2. Keimlinge von 144 bis 264 Stunden.												
144	9	13	22	38	56	63	4	7	11	15	23	32
168	13	18	29	50	74	80	5	5	12	15	21	45
216	10	18	35	56	94	116	3	7	12	19	35	50
264	8	17	31	53	92	106	—	—	1	4	9	49
B_1	9	18	35	56	74	75	(= 0,2 γ/ccm = Kontrollserie)					
3. Keimlinge von 6 bis 95 Stunden.												
6 h	9	17	21	34	62	98	—	—	4	12	15	19
24	13	17	22	41	86	106	—	—	—	8		22
48	12	18	22	38	76	108	—	—	—	—		22
72	11	17	21	45	83	105	—	—	7	10		22
95	13	19	27	52	90	115	Spuren von Mycelien					
Cotyled[1]	7	14	17	22	40	77	—	—	—	6	11	12
B_1	15	27	56	77	81	85	(= 0,2 γ/ccm = Kontrollserie)					
4. Cotyledonen von Keimlingen von 72 bis 168 Stunden.												
72 h	5	9	15	22	37	69	—	1	3	6	10	17
120	5	9	15	20	32	69	—	—	4	7	11	15
168	3	5	9	12	19	31	—	—	8	14	20	9
B_1	9	18	35	56	74	75	(= 0,2 γ/ccm = Kontrollserie)					

[1] Die für die Cotyledonen angegebenen Zahlen sind Mittelwerte der 5 untersuchten Stufen, die unter sich nur ganz minim differieren.

[2] In Aneurin ausgedrückt.

Tabelle 2.

Phycomycesgewichte und Aneuringehalt von keimenden Pisumsamen.

Alter	5/10	1	2	4	5/10	1	2	4	Total aktive Stoffe γ/g Trockensubst. (in Aneurin ausgedrückt)
					(mit Lauge behandelt)				
h	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	γ
1. Keimlinge der Sorte «Prinz Albert».									
0	10	14	22		—	—	6	15	12
8	6	10			—	—	3	10	9
24	5	9	15	28					7
72	5	11	19	37					9
96	11	16	27	56					15
120	13	17	30	63	—	—	—	—	17
144	11	20	39	81					21
168	11	20	37	73					20
240	9	22	45	82	3	3	8	12	22
288	17	32	59	93					34
336	12	28	53	86					26
360	12	30	57	78			8	10	26
2. Cotyledonen der Keimlinge von 1.									
0	6	10	16	30	—	—	—	5	8
8	5	9	13	21	—	2	9	14	7
120	7	10	16	29	—	—	—	—	8
240	4	8	12	35	—	—	—	—	6
360	5	7	13	25	—	—	—	—	6
3. Keimlinge der Sorte «Aldermann».									
0	10	17	34	66					16
8	10	14	27	29					12
24	9	16	27	65					15
72	10	15	26	55					13
96	10	16	28	58					15
168	12	16	30	59					16
288	20	37	67	107					40
336	12	23	38	76					21

Tabelle 3.

Phycomycesgewichte und Aneuringehalt von keimenden Maissamen.

Alter	5/10	1	2	4	5/10	1	2	4	Total aktive Stoffe γ/g Trockensubstanz (in Aneurin ausgedrückt)
					(mit Lauge behandelt)				
h	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	γ
1. Maiskeimlinge.									
8	16	32	56	86	1	6	9	13	30
24	15	34	55	71					28
120	24	40	79	98	2	5	9	15	47
240	19	23	87		3	8	13	20	41
288	16		64	92					36
336	10	20	37	72					18
2. Maisendosperm.									
0	3	4	6	10	—	—	1	4	3
8	—	2	3	5	—	—	—	4	1
120	5	6	10		—	—	—	6	6
240	2	3	5	8	—	—	—	4	3
336	2	3	4	7					3

3. Kontrollserien mit reinem, synth. Aneurin.

B_1 0,2/ccm	1/10	2/10	3/10	5/10	1	2	4	8
	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm
	8	12	17	29	53	83	99	94
			14	26	47	77	89	
				28	54	71		

Tabelle 4.

Phycomycesgewichte und Aneuringehalt der Pisumpflanze und ihrer Organe in verschiedenen Altersstufen.

Alter	Organ	2/10	5/10	1	2	4	8	1	2	4	8	Total aktive Stoffe γ/g in Aneurin
								(laugebehandelt)				
		ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	γ
15 Tage	Stengel . .	9	20	30	56	88		11	13	19	28	17
	Blätter . .	15	23	48	77	79	94	13	16	20	28	25
	Cotyledonen .	6	11	15	22			6	7	8	13	7
	Wurzel . .	10	14	19	29							9
21 Tage	Stengel . .	12	15	22	43	83	107	10	12	17	22	12
	Blätter . .	14	18	26	45	82	106	11	15	20	26	14
	Cotyledonen .	7	9	13	17							5
	Wurzel . .	9	15	20	32	61	89					11
30 Tage	Stengel . .	12	15	19	30	66	95	6	13	16	22	9
	Blätter . .	11	17	24	44	83	107	10	14	18	24	13
	Wurzel . .	8	11	16	23	42	82	9	12	16	20	7
40 Tage	Stengel . .	8	12	16	26	41	78	8	13	16	22	7
	Blätter . .	12	20	22	40	77	109	9	14	19	25	11
	Wurzel . .	8	11	14	20	32	75	9	12	17	20	6
Kontrollen: B_1 0,02 γ		18	41	55	94	94	96	—	—	—	—	
Pyr. + Thiazol 0,02 γ		20	24	45	69	89	92	48	74	95	95	
48 Tage	Stengel											
	(unten) . .	6	10	14	20	28	51					6
	(Mitte) . .	9	15	19	29	50	85					9
	(oben) . . .	13	18	28	45	76						20
Alte Blätter		12	16	22	36	64	94					11
Mittlere Blätter . .		12	17	26	38	71	97					14
Junge Blätter . . .		15	19	29	55	83	96					19
Wurzel		9	13	18	23	46	79					8
Blütenknospen . . .		15	18	36	59	85						23
Kelch		13	17	26	47	78	96					21
Krone		11	15	21	39	67	92					14
Androeceum		12	18	24	32							13
Gynaeceum		16	19	31	55	86	97					20
Kontrollen: B_1 0,2 γ		27	35		71	83	90					
0,5 γ .		29	62	77	80	88	88					

Tabelle 5.

Phycomycesgewichte und Aneuringehalt von Pisumfrüchten und -samen.

Untersuchtes Objekt	2/10	5/10	1	2	4	8	1	2	4	8	Total aktive Stoffe γ/g in Aneurin ausgedrückt
	Extrakt						(laugebehandelt)				
	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	γ
Halbreife Hülsen . .	9	16	19	27	52	81	14	19	23	37	11
Reife Hülsen . . .	6	13	17	22	37	64	6	14	18	26	5
Kleine, unreife Samen	13	20	29		89		19	24	34		19
Ausgewachsene Samen	11	17	28	42	72	98	18	24	29	48	15
Frische Cotyledonen .	14	24	32	55	85	100					24
Trockene Cotyledonen	9	16	25	29	49	85					11
Reife Cotyledonen, 24 Stunden gequollen	12	17	21	27	53	84					11
Embryonen aus reifen, trockenen Samen .	14	20	27	42	70	96	10	16	23	28	16
Embryonen aus 6 Stunden gequollenen Samen	16	19	26	46	73	100	7	12	17	19	16
Embryonen 24 Stunden gequollen	11	19	31	42	57 (= 3 ccm)						16
Kontrollserien synthetisches B_1 0,1 . .	20	37	32	61	83	87	= 0,1 γ/ccm				
	20	37	61	81	89	85	= 0,2 γ/ccm				
	39	76	84	89	84	88	= 0,5 γ/ccm				
Pyrimidin + Thiazol .	16	28	38	56	71	83	42	60	81	98	=0,2/ccm
Ausgewachsene frische Samen . .	10	16	21	34	58	102	5	6	8	10	12
Reife, trockene Samen	9	15	21	33	54	92	11	17	23	31	12
Reife Samen, 6 Stunden gequollen . .	7	13	24	35	48	85	—	3	8	13	11
Alte Samen (vorjährige Ernte)	10	13	16	24	37	68	7	10	15	18	6

Tabelle 6.

Untersuchungen verschiedener Pflanzen: Phycomycesgewichte und Aneuringehalt.

Organ	2/10	5/10	1	2	4	8	Total aktive Stoffe γ/g Substanz in Aneurin ausgedrückt
	Extrakt						
	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	γ
1. Tulipa gesneriana.							
Wurzeln	6	10	15	19	30	45	5
Zwiebel	2	3	9	13	16	24	2
Stengel	2	6	10	13	20	30	3
Blattbasis	8	12	13	18	29	51	4
Blattspitze	3	10	13	18	25	43	4
Perianthblätter	5	8	13	17	24	39	4
Antheren	8	15	21	32	52	79	10
Fruchtknoten	11	12	16	22	32	57	5
Narbe	5	10	14	20	32	45	5
Kontrollen: B_1 0,1 γ ccm	13	21	42	71	89	93	
B_1 0,2 γ ccm	24	43	70	84	90	89	

Spezies	5/10	1	2	4	8	5/10	1	2	4	8	Total aktive Stoffe in γ/g Aneurin
						(laugebehandelt)					
	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	γ
2. Verschiedene andere Pflanzen.											
Dryopteris filix mas . .	6	9	14	20	31	6	7	12	19	28	4
Picea excelsa, j. Triebe .	7	9	14	20	34	—	4	9	14	19	4
Salix babylonica . . .	9	16	22	33	63	7	9	15	22	31	6
Fagus silvatica, Blätter .	9	13	20	32	57	—	2	7	12	16	6
Corylus avellana, Blätter	9	12	18	27	53	—	—	4	8	15	5
Phleum pratense . . .	10	13	20	30	57	3	5	9	14	21	7
Bromus erectus	7	12	16	23	32	1	4	10	17	23	4
Pirus malus, Blätter . .	5	9	12	20	28	5	—	4	8	10	3
Rhinanthus hirsutus . .		13	23	33	59	2	4	6	10		6
Pisum sativum, Blätter („Express")	14	21	41	56	90	—	3	6	11	18	13
Pisum sativum, Wurzeln („Express")	8	11	18	31	59	2	3	7	13	19	5
Medicago sat., Blätter .	12	17	29	48	89	8	10	17	26	34	10
Medicago sat., Blüten .	12	19	30	55	86	11	14	19	26	42	10
Onobrychis viciifolia . .	10	15	21	45	73	7	6	11	19	23	8
Vicia faba, Blätter . .	8	16	19	30	55	—	—	4			5
Aster amellus	11	9	15	21	32	—	—	3	5	8	4
Cuscuta spec., Stengel .	7	8	13	21	30	—	1	5	6	12	4
Cuscuta spec., Blüten .	12	18	26	42	90	5	9	15	21	30	9
Hemerocallis spec., Bl. .	7	9	14	19	32	—	3	4	7	9	4
Orobanche tussilaginis .	12	14	23	41	72	7	11	18	27	43	7

Kontrolle mit reinem Aneurin	1/10	3/10	5/10	1	2	4	8
	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm
0,2 γ/ccm	12	25 26	39 35	66 63	92	97	99

Tabelle 7.

Cotyledonenlose Pisumkeime: Durchschnittswerte jeder Kultur.

Anzahl Pflanzen	Zuchtdauer	Glucose	Wirkstoffe	Sprosslänge	Trockengewicht
		%		mm	mg
11	38 Tage	1,5	—	25	8
18			B_1 20 γ/Glas	17	7,3
13			B_1 + Vit. C	34	8,1
7			Pyrimidin	20,7	8
6			Thiazol	20	7,6
20			P + T	28	10
10	55 Tage	1,5	—	7,2	5,8
9			B_1 20 γ/Glas	16	7,9
10			Heterauxin 0,3 γ	8,5	4,6
16			B_1 + Heterauxin	9	5,5
20			— $^1/_8$ Cotyled.	42	18,52
29	80 Tage	1,5	—	42	8,87
23			B_1 20 γ/Glas	40	8,7
22			Pyrimidin	42	8
22			Thiazol	44	9,2
25			P + T	33	7
14	59 Tage	2	—	6	4,7
20	(Dez.—Februar)		B_1 5 γ/Glas	10	5,6
23			Heterauxin 0,0005 γ/Glas	10	5,6
17			Cotyledonenextrakt	6	5,5
11			Phycomycesextrakt	10	6
12	30 Tage	2,5	—	25	6,2
11			B_1 10 γ/Glas	28	7,09
12			B_1 + Vit. C	17,5	5,25
12			Pyrimidin	24	6,25
11			Thiazol	31	6,25
11			P + T	16	5,27
8			Vitamin C	25	5,44
10			P + Vit. C	20	5,7
11			T + Vit. C	17	5,4
8			P + T + C	30	6,6
8	36 Tage	2	—	12	4,25
6		3	—	15	6,6
10		5	—	31	9,6
8		10	—	9	13,25
9		5	B_1 10 γ	28	7,33
8		5	B_1 10 γ + $ZnCl_2$	34,4	8,6
19	26 Tage	3	—	41	7
15			B_1 10 γ	37	7
5			Cotyled.-Extr. kalt steril.	53	9,4
11	37 Tage	2	—	69	8,1
18			B_1 10 γ	78	10,7
15			B_1 + Vit. C	70	7,5
14			Vit. C 1 mg/Glas	56,4	6,4
18			P + T 10 γ	70	8,6
18			P + T + C	68	7,4

Tabelle 8.

Cotyledonenlose Pisumkeime: Durchschnittswerte der Kulturen.

Anzahl Pflanzen	Zucht-dauer	Glucose	Wirkstoffe	Spross-länge	Trocken-gewicht
		%		mm	mg
11	38 Tage	2	—	69	8,1
14			Vit. C	56	6,4
18			P + T	70	8,6
18			P + T + C	68	7,4
18			B_1 10 γ	78	10,7
15			B_1 + C	70	7,5
11		1	—	44	5,3
11		1	B_1 10 γ	56	5,5
11		2	—	64	6
12		2	B_1	70	7
12		3	—	70	8
12		3	B_1	75	8,66
11		5	—	58	11,6
9		5	B_1	58,3	11,2
16	34 Tage	5	—	39	11
4			Cotyled. vor dem Quellen entfernt	24	12,25
3			Cotyledonen + Vit. C	38	9,7
4			Mit Tierkohle behandelt	45	10
13			Mit Tierkohle behandelt + B_1	41	12,2
11			Cotyledonenasche zugesetzt	50	11
44	65 Tage	1	—	21	6
19			B_1 10 γ	35	7
25			Vit. C 0,5 mg	38	7,8
11	45 Tage	3	—	92	23
9			Vit. C 1 mg	86	12
9			B_1 10 γ	108	13
12			B_1 + C	86	10
8			Thiazol	97	13,75
5			Pyrimidin	102	12,8
12			P + T	96	14

(Alle diese Versuche wurden mit Erbsen der Sorte « Express » durchgeführt.)

Tabelle 9.

Phycomycesgewichte (in mg) von Kulturen mit Extrakten von cotyledonenlosen Pisumkeimlingen.

Zugefügter Wirkstoff in der Nährlösung der Pisumembryonen	Extraktmenge							
	1/10	3/10	5/10	1	2	4	8	
	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm	
—	7	17	20	28		60	74	
Vit. C	—	5	9	14	21	27	30	(= 6 ccm)
B_1	13		29	38	58	69	78	
—	7	12	16	20	25	31	46	(= B_1—Kontr. 0,1 γ/ccm)
—	10	19	16	20	28	47	60	(= B_1—Kontr. 0,2 γ/ccm)
—	3	8	14	10	17	23	38	
B_1	16	27	40	63	72	73	80	
	17	27	44	67	73	75	81	
—	29	66	67	64	70	73	71	(= B_1—Kontr. 0,1 γ/ccm)
—	59	70	73	71	73	71	67	(= B_1—Kontr. 0,2 γ/ccm)
—	7	9	14	17	19	27	44	
B_1	28	50	67	79	84	92	94	
Vit. C + B_1	18	26	41	54	75	84	82	
Pyrimidin	15	16	15	21	30	48	74	
Thiazol	4	9	11	17	19	22	25	
P + T		20	26	41	68	92	95	
—	3	5	8	8		22		
Embr. m. Cot-Stückchen	5	10	13	14	22	32	51	
Heteroauxin	4	5	8	17	17		52	
B_1	18	32	53	80	101	104		
Heteroauxin + B_1	4	4	7	15	16	22		
—	3	9	13	17	20	26	50	
Pyrimidin	7	13	12	13	21	30	45	
Thiazol	8	14	15	19	27	42	82	
P + T	15	19	29	43	70	100	102	
B_1	21	29	41	76	94	104	103	
—	13	17	23	36	69	85	93	(= B_1—Kontr. 0,2 γ/ccm)
—	24	28	50	69	89	92	97	(= P + T-Kontr.)
	die letztgenannten Extrakte nach der Laugebehandlung:							
—	6		11	14	16	18	27	
Pyrimidin	6		6	7	9	12	15	
Thiazol	8		17	15	20	27	48	
P + T			21	34	59	80	87	
B_1			15	16	22	36	54	
Embr. m. Cot.-Stückchen			5	9	12	17	22	
—			27	38	68	76		(= B_1 0,2 γ)