

Organkultur und Gewebekultur

Objekttyp: **Chapter**

Zeitschrift: **Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft in Bern**

Band (Jahr): **8 (1951)**

PDF erstellt am: **15.05.2024**

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.

Erst durch die Organkultur wird jeglicher Einfluß durch Wirkstoffe ausgeschaltet. Die Wirkung der Sulfonamide auf Wachstum isolierter Tomatenwurzeln wurde von B o n n e r [51] untersucht und zeigte deutlich, daß die Wurzel ein hochempfindliches Testobjekt ist und die Organkultur die Methode der Wahl sei.

Aus diesem Grund wählten wir für die Untersuchung über die Wirkung von Sulfonamiden und Antisulfonamiden auf die höhere Pflanze die Methode der sterilen Organkultur. Mit der vorliegenden Arbeit, über deren Anfangsergebnisse eine kurze Mitteilung [52] berichtete, sollte untersucht werden, ob die bisherigen Ergebnisse auf dem Sulfonamidgebiet auch bei der höheren Pflanze und speziell bei der Wurzel bestätigt werden können, und ob neue Erkenntnisse dazu beitragen, weiter in dieses Gebiet des Zellstoffwechsels vorzudringen.

ORGANKULTUR UND GEWEBEKULTUR

Je höher organisiert ein Organismus ist, desto komplizierter ist sein Gesamtstoffwechsel und desto größer die Schwierigkeit, ihn zu überblicken. Denn die Organe und Gewebe eines Organismus haben meistens sehr verschiedene Funktionen, die einander ergänzen und die zusammen koordiniert sind. So ist es praktisch nicht möglich, die physiologischen Vorgänge eines einzelnen Organes zu erfassen, solange dieses Organ noch mit dem Gesamtorganismus in Zusammenhang steht. Nur die Kultur des betreffenden Organes oder des Gewebes für sich allein schließt jegliche Beeinflussung durch anderswo produzierte Stoffe vitaminischer und hormonaler Natur aus und gestattet die Erforschung des selbständigen Stoffwechsels. Erst durch die Organ- und Gewebekultur konnten manche Probleme der Wirkstoffphysiologie gelöst werden.

Die ersten Versuche über pflanzliche Gewebekulturen stammen von H a b e r l a n d t [53]. Später war es K o t t e [54] und R o b b i n s [55] gelungen, Gewebekulturen und Wurzelkulturen zu züchten, die aber nach kurzer Zeit zugrunde gingen. Der Grund an diesem Mißerfolg wird weniger in der Wahl von ungeeigneten Versuchspflanzen liegen, als daß die Nährlösung noch unvollkommen ist. Erst W h i t e [56] war es möglich, Tomatenwurzeln unbeschränkte Zeit lang wachsen zu lassen. Die Wurzeln der meisten Dikotyledonen konnten später unbeschränkte Zeit kultiviert werden, während bis heute das gleiche Ergeb-

nis (dauernde Ueberimpfung) bei den Monokotyledonen gescheitert ist. Bei der pflanzlichen Gewebekultur waren größere Schwierigkeiten zu überwinden und erst durch die Technik von G a u t h e r e t [57, 58] wurde es möglich, pflanzliches Gewebe aus einem Meristem — wie Cambium — stammend während unbeschränkter Zeit zu kultivieren.

Als wichtige Grundlage für die Organ- und Gewebekultur muß die richtige Zusammensetzung der Nährlösung vorausgesetzt werden. Natürlich muß die Nährlösung dem Bedürfnis des kultivierten Objektes angepaßt sein, und jenes wird von Fall zu Fall verschieden sein. Die ersten Nährmilieus waren auf der Grundlage der K n o p s c h e n und P f e f f e r s c h e n Nährlösung aufgebaut. Zuerst wurden die Wachstumsfaktoren in Form eines Hefeextraktes zu der Nährlösung zugesetzt und die von W h i t e mit Saccharose und Hefeextrakt verbesserte Nährlösung von U s p e n s k i ermöglichte die Kultur der Tomatenwurzeln. Natürlich ist diese Nährlösung nur halbsynthetisch und gerade bei der Erforschung der Wirkung einzelner Vitamine auf den Stoffwechsel von Organkulturen ist es nötig, die Zusammensetzung des Milieus genau zu kennen. Aber erst durch die Konstitutionsermittlung (1935) und Synthese (1936) des Aneurins und die sich stark entwickelnde Forschung auf dem Gebiet der Vitamine wurde es möglich, den Hefeextrakt durch chemisch reine Vitamine zu ersetzen.

So ersetzte W h i t e in seinem Milieu II den Hefeextrakt durch Spurenelemente (Fe, Mn, Zn, B, J), Glycocoll und Aneurin. Beim Milieu von R o b b i n s und S c h m i d t wurde das Grundmilieu (P f e f f e r s c h e Nährlösung) durch Zusatz von Spurenelementen (Fe, Cu, B, Mo, Zn, Mn), Aneurin und Pyridoxin verbessert.

B o n n e r und D e v i r i a n setzen zu ihrer Nährlösung keine kompliziert zusammengesetzte Spurenelementmischung hinzu, sondern Fetartrat und Aneurin (Milieu I), während das Milieu II Aneurin und Nicotinsäure enthält, und das Milieu III Aneurin und Pyridoxin.

Alle diese Grundmilieus enthalten folgende Salze in verschiedenen Mengenverhältnissen: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, MgSO_4 , KNO_3 , KCl , KH_2PO_4 . Jedes dieser Milieus ist für die Wurzelkultur von bestimmten Pflanzenarten geeignet und muß daher von Fall zu Fall geprüft werden.

Um ein optimales Wachstum der isolierten Wurzel zu ermöglichen, müssen alle synthetischen Nährlösungen Aneurin enthalten, da Aneurin ein Grundelement für das Wachstum der isolierten Wurzel ist, und die Wurzel nicht imstande ist, die Synthese dieses Vitamins durchzuführen. Daneben benötigen viele Wurzeln auch andere Wachstums-

faktoren, wie dies B o n n e r und D e v i r i a n [59] sowie R o b b i n s und S c h m i d t [60] zeigten. Die Wurzel weist in bezug auf den Vitaminstoffwechsel ganz ähnliche Verhältnisse auf wie die Mikroorganismen. Wir unterscheiden auch hier Vitamine als Hauptfaktor wie Aneurin, oder als Zusatzfaktor. Die Ergebnisse von B o n n e r [61, 62] über die Wirkungsspezifität der Vitamine bei der Kultur isolierter Wurzeln zeigen auch hier keine Unterschiede gegenüber Tier und Mikroorganismen. Die Wurzel ist also auxoheterotroph für ein oder mehrere Vitamine, und sie bezieht diese fehlenden Wirkstoffe einerseits aus den oberirdischen Pflanzenteilen, andererseits aus dem Boden.

TECHNIK

All unsere Versuche wurden mit der frisch isolierten Wurzelspitze, also ohne Ueberimpfung, gemacht. Es hat den einzigen Nachteil, daß der Einfluß der Kotyledonen nicht vollständig ausgeschaltet ist, da ja noch in der isolierten Wurzelspitze Stoffe aufgespeichert sein können, die das Wurzelmeristem nicht selber synthetisiert hat, sondern eben noch aus den Kotyledonen stammen. Ich glaube aber nicht, daß unsere Versuchsergebnisse anders lauten würden, wenn wir die Wurzelspitzen durch fortlaufende Passagen zuerst von jeglichen nicht eigenen Wirkstoffen befreit hätten. Höchstens in quantitativer Hinsicht, denn die durch mehrere Passagen vollständig auxoheterotrophe Wurzelspitze ist gegenüber einer Substanz, wie sie die Sulfonamide darstellen, sicher empfindlicher geworden.

Zu unseren Versuchen verwendeten wir die Wurzeln von *Solanum lycopersicum*, *Foeniculum dulce* und *Pisum sativum* (Sorte Maikönigin). Das Samenmaterial wurde durch eine 3,5 % Chlorkalklösung vor der Keimung sterilisiert. Bei *Solanum lycopersicum* wurden die Samen vor der Chlorkalksterilisation 2—3 Stunden in Wasser gelegt, um sie schon vorher ein wenig aufquellen zu lassen. Die Einwirkungsdauer in der Chlorkalklösung war für *Solanum lycopersicum* 1½—2 Stunden, während für *Foeniculum dulce* und *Pisum sativum* etwa 1 Stunde genügte. Nun wurden mit einer sterilen, abgeflamnten Gabel diese Samen direkt aus der Chlorkalklösung in sterile Petrischalen gebracht, deren Boden mit gut genäßter Watte und Filtrierpapier versehen war. Die Petrischalen enthielten pro Stück ungefähr 10—15 Samen und wurden für 4—5 Tage in einem Warmraum von 23 ° im Dunkeln gelassen. Jede Schale wird mit der Lupe genau kontrolliert, um eventuelle Infektionen auszuschalten. Nun werden gekeimte Wurzeln ausgewählt, die ungefähr gleich lang sind, damit der großen Variationsbreite im Längenwachstum der Wurzeln schon am Anfang