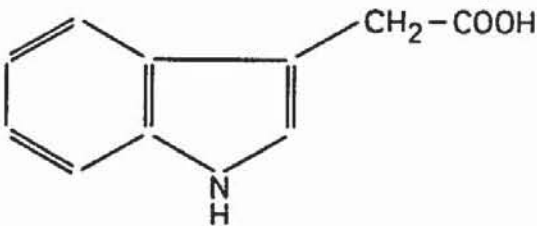


Wirkungen eines pflanzlichen Hormons — mit dem Mikroskop beobachtet

Pflanzliche Hormone oder Phytohormone sind Stoffe, die von Pflanzen gebildet werden und die schon in sehr geringen Mengen auf physiologische Vorgänge regulierend einwirken. Sie werden in der Regel in den Geweben der Pflanze von Bildungsorten zu Wirkungsorten transportiert. Da zu Beginn ihrer Erforschung zunächst die besonders auffälligen Wirkungen einiger Phytohormone auf die Förderung des Wachstums erkannt worden waren, ist auch der Begriff „Wachsstoffe“ gebräuchlich. Er ist jedoch weiterreichend und umfaßt auch künstlich hergestellte Verbindungen mit ähnlichen Wirkungen. Zur Zeit sind aus höheren Pflanzen fünf Gruppen von Phytohormonen bekannt:

1. Auxine
2. Gibberelline
3. Cytokinine
4. Dormine
5. Äthylen.

Der wichtigste Vertreter der Gruppe der Auxine ist die Indolylessigsäure (abgekürzt IES):

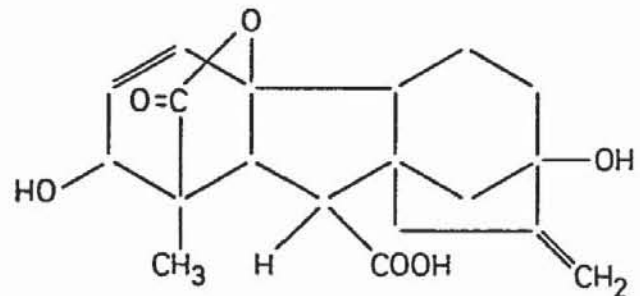


Indolylessigsäure

Auxine sind am leichtesten erkennbar an der durch sie ausgelösten Förderung des Streckungswachstums junger Zellen. Sie wirken aber auch auf zahlreiche andere Entwicklungs- und Stoffwechselfvorgänge. Ihre Menge in den Pflanzen ist außerordentlich gering, so enthalten zum Beispiel Ananaspflanzen durchschnittlich ca. 6 mg IES pro kg Pflanzenmaterial. Die Wirkung von Auxinen ist stark konzentrationsab-

hängig; bei höheren Konzentrationen (je nach Gewebe verschieden) kommt es zu wachstumshemmenden Effekten.

Die Gibberelline haben ihren Namen nach dem Pilz *Gibberella* erhalten, aus dessen Kulturmedium die ersten Vertreter dieser Hormongruppe isoliert worden waren. Seit 1958 wurde dann gezeigt, daß diese Wachstoffsstoffe auch in höheren Pflanzen allgemein verbreitet sind. Mittlerweile konnte man eine Reihe weiterer Gibberelline rein gewinnen, so daß heute 27 verschiedene Verbindungen der Hormongruppe bekannt sind. Sie führen alle die Kurzbezeichnung GA und eine Indexpzahl (1—27). Als Beispiel sei die in unserem Versuch benutzte Gibberellinsäure (= GA₃) angeführt:



Gibberellinsäure

Gibberelline wirken u. a. fördernd auf die Verlängerung der Internodien¹ wachsender Pflanzen. Dies ist bei Rosettenpflanzen besonders auffällig, da hier durch das Internodienwachstum häufig die Rosette aufgelöst wird. Gibberellinaben zeigen auch bei Anwendung relativ hoher Konzentrationen nur wenig schädigende Wirkungen auf die Pflanze.

Auf die weiteren Hormone soll nur kurz eingegangen werden, da wir bei unserem Versuch nichts mit ihnen zu tun haben werden. Die Cytokinine sind am besten erkennbar an ihrer Wirkung auf die Zellteilung; danach haben sie auch den Namen erhalten. Als Beispiel sei das zuerst aus

Maiskörnern isolierte und deshalb so genannte Zeatin erwähnt. Von den Dorminen, die zahlreiche Wachstums- und Stoffwechselfvorgänge hemmen, wurde bisher nur die Abscisinsäure rein gewonnen und in ihrer Struktur aufgeklärt. Äthylen (C_2H_4) fördert Fruchtreifung und Alterungsvorgänge, hemmt dagegen verschiedene andere Stoffwechselfvorgänge. Nachdem die Bildung dieses Kohlenwasserstoffs durch Früchte und vegetative Teile zahlreicher höherer Pflanzen nachgewiesen ist, muß man ihn ebenfalls zu den pflanzlichen Hormonen rechnen. Seine Wirkung kann übrigens in lange bekannten einfachen Versuchen demonstriert werden. Als Äthylenquelle benutzt man hierbei reifende Äpfel, welche bereits die Reifefarbe zeigen. Andere, noch grüne Äpfel erreichen die Reifeverfärbung in Gegenwart dieser Äthylenquelle in einem abgeschlossenen Raum (Glasglocke) rascher, als ohne solche. Dagegen wird die Keimung von Kressesamen durch die Äthylenausscheidung der Äpfel gehemmt.

Ich möchte einen einfachen Versuch beschreiben, der die Wirkungen der Gibberellinsäure bei der Keimung von Getreidekörnern erkennen läßt und gleichzeitig einen interessanten Einblick in die Wirkungsweise des Hormons ermöglicht. Er geht zurück auf Arbeiten von PALEG (1960 und 1961), die ein entscheidender Anstoß zur Erforschung des Wirkungsmechanismus von Gibberellin waren.

Versuchsdurchführung

Keimfähige Körner von Gerste und Hafer (auch andere Getreidekörner können verwendet werden) werden zunächst durch Abreiben der Samen mit 0,1%iger Sublimatlösung desinfiziert, mit zuvor aufgekochtem destilliertem Wasser gut abgespült und mit einer Rasierklinge entlang der Längsfurche halbiert. Die Rasierklinge zieht man zuvor zur Sterilisierung kurz durch eine Flamme. Danach wird der am einen Ende des Getreidekorns befindliche Embryo, den man in den Hälften bereits mit bloßem Auge erkennen kann, mit der Rasierklinge abgeschnitten. An den verbleibenden größeren Teilen der halbierten Körner dürfen sich keine Reste des Embryogewebes mehr befinden. Diese Stücke werden nun in (sofern möglich) sterile Petrischalen mit Filterpapier oder sterilem Seesand gebracht. Sterilen Sand können wir aus käuflichem, mit Säure gereinigtem Seesand leicht erhalten, wenn wir den Sand mit destilliertem Wasser übergießen und erhitzen, bis er völlig trocken geworden ist. Wird Filterpapier verwendet, so ist es günstig, dieses alle zwei Tage zu wechseln, um eine Infektion durch Mikroorganismen zu verhindern. Auf jede Schale kommen ca. 15 embryolose Hälften der Getreidekörner. Die Petrischa-

len werden nun mit folgenden Lösungen soweit getränkt, daß der Sand bzw. das Papier gut durchfeuchtet sind:

1. mit destilliertem Wasser (frisch abgekocht, um Infektionen zu verhindern);
2. mit Gibberellinsäure-Lösung. Diese erhält man durch Lösen von 10 mg der käuflichen Gibberellinsäure in 20–100 ml (abgekochtem) destilliertem Wasser. Diese Konzentrationsverhältnisse (100 bis 500 ppm)² sind am günstigsten, um einigermaßen rasch ein deutliches Ergebnis zu erhalten;
3. mit Indolylessigsäure-Lösung, welche man analog der Gibberellinsäurelösung herstellt, das heißt käufliche IES wird in destilliertem Wasser gelöst. Hierbei können wir dieselbe Konzentration anwenden, wie bei der Gibberellinsäure. Außerdem besteht die Möglichkeit, eine geringere Konzentration zu wählen (etwa 1 mg IES auf 100 ml Wasser, = 10 ppm), um ganz sicher unterhalb bereits hemmender Konzentrationsverhältnisse zu bleiben. IES-Lösungen sind im Kühlschrank maximal 8 Tage haltbar und müssen dann neu angesetzt werden, da sich stoffwechselfhemmende Zersetzungsprodukte bilden.

Weiterhin befinden sich zur Kontrolle in einer Petrischale unverletzte, desinfizierte Körner, die mit destilliertem Wasser zum Keimen gebracht werden.

Beobachtungen

Zur Beobachtung entnimmt man mit der Pinzette jeweils zwei bis drei der embryolosen Hälften bzw. der keimenden Körner. Letztere werden zur Untersuchung mit der Rasierklinge längs halbiert.

In der Regel lassen sich spätestens 48 Stunden nach Versuchsbeginn die Wirkungen deutlich erkennen. Während bei 1 und 3 kein Effekt zu beobachten ist, beginnt bei 2 (also in Gegenwart von Gibberellinsäure) eine lebhafte Korrosion des Mehlkörpers (Stärkezellen des Endosperms³) vom Rand, das heißt von der Karyopsenwand (Fruchtwand und Samenschale) her. Dasselbe kann, meist noch ausgeprägter, bei den unverletzten, keimenden Kontroll-Körnern nach Halbieren festgestellt werden. Stellen wir Schnitte her und untersuchen diese unter dem Mikroskop, so erkennen wir einmal eine Veränderung in den Aleuronzellen, wo die vorwiegend aus Eiweiß bestehenden Aleuronkörner verschwinden, und zum anderen eine Auflösung der Stärkekörner in den randlich gelegenen stärkeführenden Endospermzellen. Der Ablauf dieser Auflösung wurde vor kurzem im MIKROKOSMOS mit Bildern geschildert; es braucht daher nicht näher darauf eingegangen werden (vgl. GREBEL 1969). Durch vorsichtiges Färben mit Jodjodkali lassen sich die verschie-

denen Korrosionsstufen noch besser sichtbar machen (vgl. LERCH 1969). Läßt man die halbierten Getreidekörner eintrocknen, so bilden sich bei den angegriffenen Körnern oftmals Hohlräume zwischen der Karyopsenwand einerseits und dem Endosperm andererseits. Diese sind unter dem Binokular in der Regel ca. 72 Stunden nach Versuchsbeginn gut zu sehen. Nach 72 Stunden ist häufig auch die „Verflüssigung“ des Endosperms beim Gibberellinsäureversuch schon ohne Mikroskop zu erkennen. Die mit Indolylessigsäure behandelten Körner verhalten sich wie diejenigen mit destilliertem Wasser; am getrockneten Korn sind keinerlei Auflösungserscheinungen zu erkennen. Unter dem Mikroskop ist kein Stärkeabbau festzustellen.

Erklärung der Beobachtungen

Durch Gibberellinsäure wird in embryologischen Getreidekörnern Stärkeabbau ausgelöst, wie er normalerweise bei der Keimung beobachtet wird. Dagegen kann das Hormon Indolylessigsäure einen solchen Stärkeabbau nicht anregen, weshalb bei Zugabe von IES ebenso wie mit destilliertem Wasser allein außer der Quellung keine Veränderung im Endosperm zu erkennen ist. Genauere Untersuchungen haben ergeben, daß durch Gibberelline die Bildung des stärkeabbauenden Enzyms α -Amylase ausgelöst wird. Die Synthese dieses Enzyms erfolgt in den Aleuronzellen nach Abbau von Reserveproteinen der Aleuronkörner. Dieser Abbau wird ebenfalls durch Gibberellin induziert. Man hat nachgewiesen, daß zur Bildung von Amylase eine Konzentration von nur $2 \cdot 10^{-11}$ Mol/l Gibberellinsäure genügt. Normalerweise werden Gibberelline zu Beginn der Keimung im Embryo freigesetzt bzw. neu gebildet und dann über das Scutellum (Schildchen) an die Aleuronzellen abgegeben, wo die geschilderten Vorgänge ablaufen. Bei embryologem Getreidekorngewebe kann derselbe Effekt durch den Zusatz von Gibberellin hervorgerufen werden, nicht dagegen durch Gabe anderer Phytohormone. Daraus ist zu erkennen, daß die einzelnen Hormone spezifische Funktionen besitzen. Die Indolylessigsäure ist beim Wachstum des Keimlings entscheidend beteiligt; dagegen spielt sie bei der Induktion des Stärkeabbaus keine Rolle. — Durch den Abbau der Stärke entsteht Glukose (Traubenzucker), die für den Stoffwechsel des Keimlings zunächst die wichtigste Energiequelle darstellt und gleichzeitig auch als Baustein für neue Zellsubstanz dient. Heute darf als gesichert gelten, daß pflanzliche Hormone vielfach — wie in unserem Versuch — durch Stimulierung der Enzymsynthese wirken. Dabei werden jeweils aber nur ganz bestimmte Enzym- bzw. Apoenzymmoleküle gebildet. Diejenigen Stoff-

wechselforgänge werden gefördert, die durch diese Enzyme gesteuert sind. Wie die Förderung der Enzymsynthese im einzelnen erfolgt, mag hier offenbleiben. Darüber sind zahlreiche Forschungen im Gange, die im letzten Jahrzehnt eine Fülle von Ergebnissen erbracht haben, ohne daß bis jetzt völlige Klarheit erzielt worden wäre. Hinzu kommt, daß pflanzliche Hormone wahrscheinlich zum Teil noch eine andere, von der beschriebenen vermutlich unabhängige Wirkung entfalten, indem sie durch Veränderung der Durchlässigkeit von Membranen der Zelle gewisse Transportvorgänge beeinflussen. Vielleicht besteht dar-

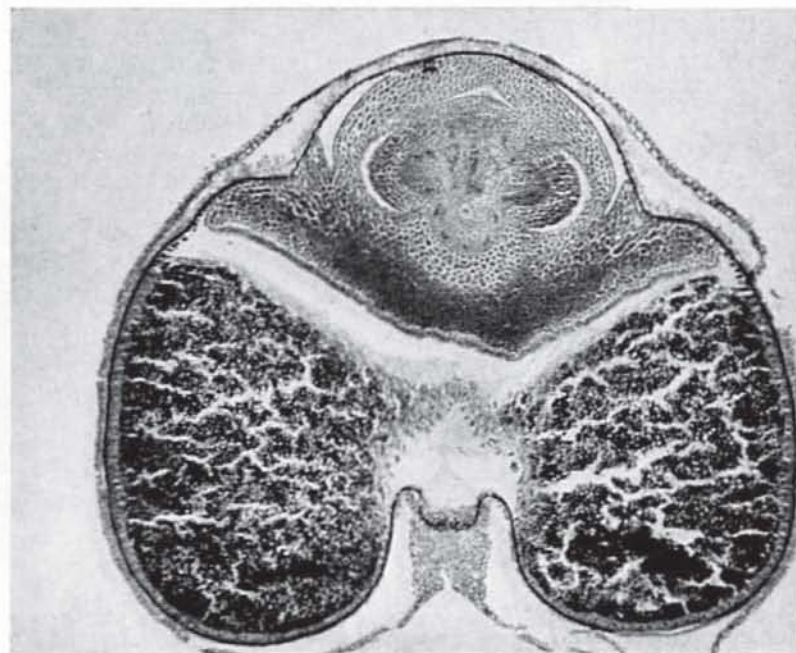


Bild: Querschnitt durch ein Weizenkorn. Zu erkennen: Karyopsenwand, nach innen abschließend mit der Samenschale (dunkle Linie), Aleuronzellen (1 Zellreihe), Mehlkörper, Embryo (gegen den Mehlkörper abschließend mit dem Schildchen).

über hinaus sogar noch die Möglichkeit einer direkten Einflußnahme auf bestimmte weitere Stoffwechselereignisse. Es sei hier nur die durch Indolylessigsäure verursachte Veränderung der Geschwindigkeit der Plasmaströmung erwähnt, die schon ein bis zwei Minuten nach Zufuhr des Hormons beobachtet werden kann.

Literaturhinweise:

1. GREBEL, D.: *MIKROKOSMOS* 58, 157—158 (1969).
2. LERCH, K.: *MIKROKOSMOS* 58, 27—28 (1969).
3. NOODEN, L. D.: *Plant Physiol.* 43, 140—150 (1968).
4. VAN OVERBEEK, J.: *Science* 152, 721—731 (1966).
5. PALEG, L. G.: *Plant Physiol.* 35, 293—299 (1960); *ibid.* 35, 902—906 (1960); *ibid.* 36, 829—837 (1961).

Erläuterungen:

- ¹ Internodium: der zwischen zwei Blattansatzstellen oder Blattknoten (Nodien) liegende Sproßabschnitt einer Pflanze
- ² ppm: parts per million, Teile auf 1 Million.
- ³ Endosperm: Nährgewebe im Pflanzensamen

Verfasser: Dr. Ulrich Kull, Botanisches Institut der Universität Stuttgart, 7 Stuttgart-Ost, Cannstatter Str. 212.