

Zeitschrift: Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft in Bern
Herausgeber: Naturforschende Gesellschaft in Bern
Band: 10 (1953)

Artikel: Untersuchungen über die Biosynthese einiger wasserlöslicher Vitamine der B-Gruppe, insbesondere der Pantothensäure
Autor: Louis, Rolf
Kapitel: II: Organkultur und Gewebekultur
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-319459>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 30.01.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Substanzen betrifft, von der Umwelt weitgehend unabhängig, wobei allerdings nicht zu vergessen ist, daß die im Boden vorhandenen Wirkstoffe nicht ohne jeglichen Einfluß auf die Pflanzen sein werden.

Anders verhalten sich dagegen die einzelnen Teile einer solchen Pflanze. Ihr Synthesevermögen für verschiedene Wirkstoffe ist recht unterschiedlich. Dank der Technik der isolierten Organkultur unter aseptischen Bedingungen hat man in den letzten Jahren einen Einblick in die Wirkstoffbedürfnisse einzelner Pflanzenteile gewinnen können. Ist ein solcher Teil nicht imstande, einen bestimmten Wirkstoff zu bilden, so muß ihm dieser, will man ihn mit Erfolg *in vitro* kultivieren, von außen zugefügt werden. Den Wurzeln fehlt beispielsweise ganz allgemein die Synthesefähigkeit für das Aneurin. *In vivo* wird es ihnen von den oberirdischen grünen Teilen geliefert, *in vitro* muß es dem Kulturmilieu beigelegt werden. Von den für optimales Wachstum nicht benötigten Wirkstoffen nimmt man an, daß sie durch das betreffende Organ selbst gebildet werden.

Die nachstehende Arbeit hatte zum Ziel, nicht die Bedürfnisse eines Organs an Wirkstoffen zu untersuchen, sondern vielmehr seine synthetischen Fähigkeiten für einige Glieder des großen Vitamin-B-Komplexes, und gleichzeitig zu versuchen, deren Stoffwechsel über eine gewisse Zeit hin zu verfolgen. Als Untersuchungsmaterial wählten wir Samen von *Phaseolus vulgaris* und isolierte Wurzeln von *Pisum sativum* in steriler Organkultur.

II. Organkultur und Gewebekultur

Mit zunehmender Organisation eines Organismus spezialisiert sich auch sein Gesamtstoffwechsel, und die Schwierigkeiten, ihn zu überblicken, vergrößern sich rasch. Ein Organismus pflanzlicher oder tierischer Natur ist aus Organen aufgebaut, die oft ganz verschiedene Funktionen ausüben, und aus Geweben, denen je nach Grad und Art ihrer Differenzierung verschiedene Aufgaben zukommen. Weiter ist die Tätigkeit aller dieser Teile genau aufeinander abgestimmt.

Aus diesen Gründen ist es praktisch außerordentlich umständlich, wenn nicht unmöglich, die physiologischen Vorgänge, die sich in einem Organ oder in einer bestimmten Gewebeart abspielen, zu erfassen, solange noch der in Frage kommende Teil mit dem Gesamtorganismus in Verbindung steht. Setzen wir uns beispielsweise zum Ziel, zu untersuchen, ob irgendein Vitamin in allen Organen der Pflanze synthetisiert wird oder nur in ganz bestimmten, so stoßen wir schon auf Schwierigkeiten; denn es ist

nicht möglich, die Vitaminsynthese zum Beispiel der Wurzel zu erfassen, solange sie mit den oberirdischen Teilen der Pflanze in Verbindung steht und von den Blättern Vitamine in die Wurzel geleitet werden können. Erst durch die Entwicklung der Technik der Organ- und Gewebekultur wurden manche Probleme der Wirkstoffphysiologie im Zusammenhang mit der Entwicklungsphysiologie der Lösung nähergebracht.

Die ersten Versuche, pflanzliche Gewebekulturen zu erhalten, stammen von HABERLANDT (35). Zwei Jahrzehnte später gelang es KOTTE (36) und ROBBINS (37), Gewebe- und Wurzelkulturen zu züchten, doch stellten diese nach kurzer Zeit ihr Wachstum ein und gingen zugrunde. Diese anfänglichen Mißerfolge lassen sich wohl weniger auf die Wahl ungeeigneter Versuchspflanzen zurückführen als vielmehr auf die noch unvollkommene Nährlösung. WHITE (38) erzielte das erste wichtige Ergebnis, indem es ihm gelang, Tomatenwurzeln während unbeschränkter Zeit in einem relativ einfachen Milieu zu kultivieren. Bereits anfang der zwanziger Jahre ermöglichten die Arbeiten von HARRISON und CARREL Untersuchungen an tierischen Gewebekulturen, während erst Jahre später die tierische Organkultur gelang. Demgegenüber bereitete die pflanzliche Gewebekultur mehr Schwierigkeiten als die Organkultur. Erst die Technik von GAUTHERET (39, 40) ermöglichte es, pflanzliche Gewebekulturen erfolgreich durchzuführen. Den Ausgangspunkt bilden meristematische Gewebe — wie Kambium —, die sich unbeschränkt überimpfen lassen.

Grundlegend für das Gelingen von Organ- und Gewebekulturen ist die richtige Zusammensetzung der Nährlösung. Der Organismus als Ganzes weist nicht denselben Stoffwechsel auf wie eine bestimmte Gewebeart oder ein isoliertes Organ. In jedem Fall muß bei der Wahl der Nährlösung den Bedürfnissen des zu kultivierenden Objekts Rechnung getragen werden. Ferner ist zu berücksichtigen, daß es für viele Untersuchungen unerlässlich ist, die genaue Zusammensetzung des verwendeten Milieus zu kennen, es also keine chemisch undefinierten Bestandteile enthalten darf. Die ersten für die Kultur der isolierten Wurzel benutzten Nährmedien waren auf der Grundlage der KNOPSchen und der PFEFFERschen Nährlösung aufgebaut. Das von WHITE verwendete Milieu für die Kultur der Tomatenwurzeln war die durch Saccharose und Hefeextrakt (Wachstumsfaktoren) verbesserte Nährlösung von USPENSKI. Der nicht unbedeutende Nachteil dieses Milieus war der, daß es sich infolge seines Gehaltes an Hefeextrakt nicht vollständig aus chemisch genau definierten Bestandteilen herstellen ließ. Daher bemühte sich die Forschung intensiv, herauszufinden, was für eine Substanz das wirksame Prinzip des

Hefeextraktes darstellt. 1934 ersetzte SCHOPFER (41) mit Erfolg den Hefeextrakt bei *Phycomyces* durch kristallisiertes Aneurin. Kurz darauf fanden zur gleichen Zeit ROBBINS und BARTLEY (42), BONNER (43) und WHITE (44), daß auch für Wurzelkulturen das Aneurin wirksam ist und den Hefeextrakt zu ersetzen vermag. Weitere Untersuchungen führten dann zur Erkenntnis, daß der Ertrag durch Zusatz von Spurenelementen (Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, B, J) verbessert werden kann (WHITE, ROBBINS und SCHMIDT).

Im Gegensatz dazu verzichteten BONNER und DEVIRIAN auf eine komplizierte Spurenelementmischung und setzten Ferritartrat und Aneurin zu (Milieu I), während Milieu II zusätzlich noch Nikotinsäure enthält. Neben Ferritartrat und Aneurin ist im Milieu III außerdem Pyridoxin vorhanden.

In diesen von den verschiedenen Forschern vorgeschlagenen Grundmilieus sind folgende Mineralsalze in wechselnden Mengenverhältnissen vorhanden: Ca-nitrat, K-nitrat, Mg-sulfat, K-chlorid und K-monophosphat.

Die Wahl eines der erwähnten Milieus richtet sich nach der für die Wurzelkultur vorgesehenen Pflanzenart. Die Wurzeln vieler Dikotyledonen lassen sich in einer oder mehreren der angeführten Nährlösungen unbegrenzt überimpfen, dagegen ist es bei Wurzelkulturen von Monokotyledonen bis jetzt nicht gelungen, Passagen über längere Zeit zu erhalten. Erst kürzlich erschien eine Arbeit von MOREL und WETMORE (45), in welcher über Gewebekulturen von Monokotyledonen berichtet wird. Den Verfassern gelang es, Gewebe zweier tropischer *Araceen* während unbeschränkter Zeit *in vitro* zu kultivieren. Ihre Untersuchungen scheinen zu zeigen, daß diese Gewebe gewisse bis jetzt noch unbekannte Wachstumsfaktoren verlangen, die in der Milch unreifer Kokosnüsse vorhanden sind.

Die meisten Wurzeln sind nicht in der Lage, die Synthese des Aneurins zu bewerkstelligen. Alle vollsynthetischen Nährlösungen enthalten deshalb dieses Vitamin, um ein optimales Wachstum der isolierten Wurzel zu gewährleisten. Daneben gibt es viele Wurzeln, die außer dem Aneurin noch andere Wachstumsfaktoren (zum Beispiel Adermin, Nikotinsäure) für ihr Wachstum benötigen (BONNER [46], BONNER und DEVIRIAN [47], ROBBINS und SCHMIDT [48], WHITE [49]). Prinzipiell fand man in bezug auf den Vitaminstoffwechsel gleiche Verhältnisse bei der Wurzel wie bei den Mikroorganismen. Ein Vitamin kann als Hauptfaktor benötigt werden, wenn die Wurzel dessen Synthese nicht durchzuführen imstande ist,

oder aber es wirkt bloß zusätzlich (Zusatzfaktor). Was die Wirkungsspezifität der Vitamine betrifft, so bewegt sie sich im Rahmen der für Tiere und Mikroorganismen beobachteten Verhältnisse (BONNER [50, 51]). Die Auxoheterotrophie einer Wurzel bezieht sich auf ein bis mehrere Vitamine. Diese werden ihr einerseits aus den oberirdischen Pflanzenteilen zugeführt, möglicherweise werden sie außerdem auch zum Teil aus dem Boden aufgenommen, wo sie in nachweisbaren Mengen vorhanden sind (ROULET [52]).

III. Technik und Testmethoden

Für die Untersuchungen an *Phaseolus vulgaris* verwendeten wir die Handelssorte «Rapid». Die Bohnen wurden, nach dem Auslesen der beschädigten Samen, in einer 3,5prozentigen Chlorkalklösung während einer Stunde sterilisiert und anschließend in einem vorher mit einer gleich konzentrierten Chlorkalklösung behandelten Keimkasten auf Filtrierpapier und in Berührung mit destilliertem Wasser bzw. KNOPScher Nährlösung bei Zimmertemperatur zur Keimung gebracht. Die in bestimmten Zeitabständen geernteten Pflänzchen untersuchten wir, getrennt nach Kotyledonen und Keimling, auf ihren Gehalt an Aneurin und Biotin.

Alle übrigen Versuche wurden mit *Pisum sativum* («Maikönigin») ausgeführt. Das Samenmaterial wurde, nach gründlicher Auslese, vor der Keimung in einer frischbereiteten 3,5prozentigen Chlorkalklösung sterilisiert. Die Einwirkungsdauer betrug 1 bis 1¹/₄ Stunden. Darauf wurden die Samen mittels einer abgeflamten Drahtgabel in vorbereitete sterile Petrischalen verbracht, deren Boden mit gut durchnäßter Watte und Filtrierpapier ausgekleidet ist. Jede der Schalen enthielt 10 bis 15 Samen und wurde für 4 bis 5 Tage in einem Raum von 23 ° C im Dunkeln belassen. Um eventuelle Infektionen zu erkennen, wird jede Schale mit einer Lupe genau besehen, und die infizierten werden sofort ausgeschaltet. (Ein während der Kulturdauer immer wieder auftretender kleiner Prozentsatz von Infektionen läßt sich in den wenigsten Fällen auf einen Manipulationsfehler zurückführen, sondern hat seinen Grund wohl in der mangelhaften Sterilisation einzelner Samen.) Darauf werden Wurzeln ausgewählt, die in ihrer Länge möglichst übereinstimmen, um die ohnehin große Variationsbreite im Längenwachstum etwas zu vermindern. Mit Hilfe eines sterilen Skalpells werden etwa 10 mm lange Wurzelspitzen abgeschnitten und mit einem Spatel steril in die Kulturgefäße gebracht. Die