

ÜBER BRUNSTERZEUGENDE STOFFE IM PFLANZENREICH

VORLÄUFIGE MITTEILUNG

VON

EDM. SPOHR

DORPAT 1927

Morphologische und zytologische Studien über die Geschlechtsdifferenzierung bei verschiedenen Blütenpflanzen und Beobachtungen der Parthenokarpie bei *Stratiotes aloides* lösten u. a. den Wunsch aus, der Frage nachzugehen, ob biochemisch fassbare qualitative Unterschiede der Geschlechter im Pflanzenreich nachweisbar wären.

Die leitenden Gedanken bei dieser Fragestellung gingen von der prinzipiellen Annahme aus, dass in den pflanzlichen Geweben neben rein mengenmässigen biochemischen geschlechtseigenen Differenzen¹⁾ vielleicht auch durch besondere geschlechtseigene Stoffe bedingte qualitative Unterschiede auffindbar sein könnten. Ist es doch bekannt, dass im Pflanzenkörper spezifische Erreger oder Reizstoffe als wichtige Regulatoren des Stoffwechsels, als sogen. Wund- und Wuchshormone, Aktivierungshormone, Antihormone u. a. m. verschiedentlich beobachtet, gedeutet und benannt worden sind; diesbezüglich sei hier nur auf die übersichtlichen Zusammenstellungen von *Weber*²⁾, *Tschirch*³⁾ und *Raab*⁴⁾ hingewiesen.

Bei der Fehndung nach derartigen Geschlechtsmerkmalen wurde daher von der Benutzung der üblichen physiologischen und chemischen Methoden, wie sie für quantitative Untersuchungen

1) Beispielsweise sollen hier in bezug auf quantitative Geschlechtsunterschiede nur die Versuche von *Minenkow*, A. R. (Versuch der Geschlechtsbestimmung. Journal f. Landw. Wissensch. Moskau. 1. 1924. 29—47. Nach dem Ref. im Botan. Centralbl. 5. 1925. S. 349—350) und die Untersuchungen von *Satina*, S. u. *Blakeslee*, A. F. (1. Studies on biochemical differences between (+) and (—) sexes in mucors. 2. A preliminary report on the Manoilov Reaction and other tests. Biochemical differences between sexes in green plants. Proc. Nat. Acad. of Sc. 12. 1926. Nach dem Refer. in d. Zeitschr. für Botanik. 19. 1926. S. 196—199) angeführt sein.

2) *Weber*, F. Hormone im Pflanzenreich. Naturwissensch. Wochenschr. NF. 19. 1920. S. 241—253.

3) *Tschirch*, A. Besitzen die Pflanzen Hormone? Pharmazeutische Monatshefte. 1924. S-A.

4) *Raab*, W. Hormone und Stoffwechsel. Naturw. u. Landwirtsch. H. 10 Freising-München. 1926.

des stofflichen Aufbaus und Stoffwechsels in Frage kämen, abgesehen und das Augenmerk auf die Wahl von möglichst speziellen, spezifische qualitative Geschlechtsunterschiede erschliessenden Methoden gerichtet.

Von solchen Methoden, die event. durch ihre direkten oder indirekten Anwendungsmöglichkeiten den gestellten Anforderungen mehr oder weniger entsprechen konnten, kamen 1925, als die vorliegende Frage in Angriff genommen wurde, folgende 2 in Betracht⁵⁾: 1. die Manoilovsche Reaktion und 2. die sogen. „Brunstreaktion“⁶⁾.

Der Umstand, dass der Wert und der Charakter der Manoilovschen Reaktion im Sommer 1925 noch nicht genügend geklärt war, aber Vermutungen über den quantitativen und nicht spezifischen Charakter dieser Reaktion, die sich inzwischen bestätigt haben⁷⁾, bereits vorlagen, sowie naheliegende örtliche und technische Gründe bedingten die Wahl der sogen. „Brunstreaktion.“

5) Die von *Bernatsky, M. A.* (Die spezifische Reaktion pflanzlicher u. tierischer Gewebe hinsichtlich des Geschlechts. Ber. d. Kalijanetzschen staatl. landw. Institut. Moskau. 1. 1924. Nach dem Refer. im Botan. Centralbl. 7. 1926. S. 358) erfundene Farbreaktion ist erst im verflossenen Jahr dem Verfasser bekannt geworden.

6) Vgl. *Doisy, E. A., Ralls, J. O., Allen, E. und Johnston, C. G.* Journ. of Biolog. Chemistry. 61. 1924.

7) Die Manoilovsche Farbreaktion hat seit ihrer Veröffentlichung im Jahre 1923 einen lebhaften Widerhall gefunden und eine Anzahl von Nachprüfungen und Erweiterungen hervorgerufen. Einerseits ist die Manoilovsche Reaktion verschiedentlich mit positivem Erfolge angewandt worden; in bezug auf pflanzliche Objekte sei hier nur auf die Versuche von *Manoilov, E. O.* selbst (Über eine chemische Reaktion bei der Geschlechtsbestimmung der zweihäusigen Pflanzen. Bull. Appl. Bot. and Plantbreed. 13. 1923), *Satina, S. u. Blakelee, A. F.* a. a. O. (in 92 % der untersuchten Fälle) hingewiesen. *Dahlgren, K. V. O.* (Några försök med Manoilovs könsreaktion. Bot. Notiser. Lund. 1926. S. 341—348) gelang es vorschriftsmässige eindeutige Reaktionen nur bei einem Teil der von ihm untersuchten Pflanzen und Tiere zu beobachten. Andererseits jedoch haben in letzter Zeit eine ganze Reihe von Untersuchungen den Chemismus und Mechanismus der Reaktion sowohl für tierische, als auch für pflanzliche Objekte geklärt und den Nachweis erbracht, dass es sich dabei nicht um spezifische qualitative Geschlechtsunterschiede, sondern nur um quantitative, vornehmlich durch den verschiedenen Gehalt an Eiweissstoffen bedingte Erscheinungen handelt und der regelmässige Reaktionsverlauf nicht allgemeingültig gewährleistet ist; vergl. hierzu folgende Abhandlungen: *Galwialo, M. J., Wladimirow, G. E., Winogradow, A. P. und Oppel, W. W.*

Die letztgenannte Reaktion wird im Pharmakologischen Institut der Univ. Tartu (Dorpat) von Prof. Dr. *S. Loewe* auf tierische Gewebe mit Erfolg angewandt und ist von ihm durch wertvolle Vervollständigungen, insbesondere inbezug auf die zahlenmässig erfassende Gehaltsbestimmung, ausgebaut worden.

Im wesentlichen handelt es sich bei der Brunstreaktion um die künstliche Erzeugung von Scheidenbrunst bei kastrierten Nagerweibchen durch subkutane Injektion eines weiblichen Sexualhormons — Thelykinin (*Loewe*)⁸⁾ — das bei den Weibchen verschiedener Säugerarten in den letzten Jahren nachgewiesen worden ist. Der Vorgang der Scheidenbrunst wird mit Hilfe der zytologischen Untersuchung von Scheidenabstrichen des injizierten Testtiers verfolgt, wobei auch zugleich eine Wertbestimmung der eingespritzten Hormonzubereitung nach dem *Loewe'schen*⁹⁾ Zählverfahren ausgeführt und in Mäuseeinheiten zum Ausdruck gebracht werden kann.

Vor allem galt es nun, die bisher nur am tierischen Gewebe erprobte Brunstreaktion auch auf ihre Anwendbarkeit auf Pflanzengewebe zu prüfen, indem folgende zwei Hauptfragen zu beantworten waren: 1) gibt es im Pflanzenreich thelykininähnliche oder deren Wirkung gleichkommende brunsterzeugende Stoffe und 2) wenn solche vorhanden sind, wie weit erweisen sie sich dann als geschlechtsspezifisch?

Es traf sich günstig, dass Herr Prof. Dr. *S. Loewe* die Klärung dieser von mir aufgeworfenen Fragen seit dem Sommer 1925 in den Komplex seiner eingehenden Forschungen über Thelykinine aufnehmen konnte.

Die vorliegenden Untersuchungen sind im hiesigen Pharmakologischen Institut gemeinschaftlich mit Herrn Prof.

(Zur Frage nach dem Chemismus der Manoilovschen Reaktion und ihrer Spezifität. *Biochem. Zeitschr.* 176. 1926. S. 189—197), *Schmidt, A. A.* und *Perewosskaja, N. O.* (Physiologisch-chemische Begründung der Manoilovschen Reaktion. *Ebenda* S. 198—209), *Alsterberg, G.* und *Håkansson, A.* (Über Manoilov's Reaktionen und die Möglichkeit mit Hilfe dieser das Geschlecht zu bestimmen. *Ebenda* S. 251—265).

8) *Deutsche med. Wochenschr.* 1926. Nr. 40.

9) *Verh. d. Deutschen Pharmakol. Ges. Rostock.* 1925; *Deutsche med. Wochenschr.* 1926. Nr. 8, Nr. 14 und Nr. 31; *Zeitschr. f. d. ges. experim. Medizin.* 51. 1926. S. 284.

Dr. S. Loewe und teilweise unter Mitwirkung seiner Mitarbeiter Dr. F. Lange und Dr. W. Faure ausgeführt.

Es soll nun im folgenden kurz das Ergebnis der bisherigen Untersuchungen¹⁰⁾, die sich auf die sub 1) gestellte Hauptfrage beziehen, mitgeteilt werden; wegen Einzelheiten sei auf die eingehende anderorts¹¹⁾ veröffentlichte Darlegung hingewiesen.

Die Wahl geeigneter pflanzlicher Ausgangsobjekte wurde von folgenden Gedankengängen geleitet:

1) Wenn im Pflanzenkörper brunsterzeugende thylykininartige Stoffe vorhanden sein sollten, so dürfte ihre grösste Menge wohl am ehesten im weiblichen Geschlechtsorgan, im Stempel, bzw. in den Samenknospen zu vermuten sein; enthält doch nach den vorliegenden Erfahrungen der reife Follikularapparat des tierischen Ovars die grösste Thylykininmenge¹²⁾. Es mussten also leicht isolierbare empfängnisreife, wünschenswerterweise unbestäubte (vergl. Follikelreife des tierischen Weibchens) Stempel, bzw. Fruchtknoten in grösserer Menge ausfindig gemacht werden.

2) Um die Verarbeitung schnell und unter möglichst einheitlichen Bedingungen durchführen zu können, war es geboten, das Ausgangsmaterial gleichzeitig und im gleichen Entwicklungsstadium zu beschaffen.

Nachdem im Sommer 1925 durch Vorversuche mit einigen isolierten Fruchtknoten von *Nuphar luteum* qualitativ eindeutige positive Ergebnisse erzielt worden waren, wurde beschlossen, in der Vegetationsperiode 1926 an einer grösseren Menge einheitlichen Ausgangsmaterials Messungen des Gehalts an brunsterzeugenden Stoffen durchzuführen.

Da den oben aufgestellten Anforderungen am meisten die weiblichen Weidenkätzchen entsprechen, dienten als Hauptuntersuchungsobjekt die weiblichen Kätzchen einer in voller Blüte frei stehenden, nicht bestäubten (mikroskopisch kontrollierten) Saalweide (*Salix caprea*), die am 15. V 26 gefällt und deren

10) Eine Erstmitteilung vom 5. Juni 1926 wurde bei der Akademie der Wissenschaften in Wien niedergelegt (vergl. die Veröffentlichung im Akademischen Anzeiger Nr. 19. Wien. 1926).

11) In der Biochem. Zeitschr., im Erscheinen.

12) Z. B. nach Doisy, F. A., Ralls, L. O., Allen, E. u. Johnston, C. G. a. a. O. S. 725.

Blütenstände in grösserer Menge (7 kg) abgeerntet und verarbeitet wurden.

Fernerhin wurden vergleichsweise auch die vegetativen Teile von *Impatiens parviflora* (Sommer 26) und *Althaea rosea* (Spätsommer 26) untersucht.

Die Ausgangsstoffe gelangten sowohl „feucht“, als auch „trocken“ in Verarbeitung. Im ersteren Fall wurden aus den frischen Pflanzenteilen Äthyl- oder Methylalkoholextrakte hergestellt, im letzteren Fall die Pflanzenmassen im Wärmeschrank bei 50° C getrocknet und dann mit Äther im Soxhletapparat ausgezogen.

Die so gewonnenen Rohextrakte wurden nun mit Hilfe verschiedener Fraktionierungsmethoden weiter gereinigt, gut entwässert, zum Schluss das Lösungsmittel verjagt, der Rückstand in entsprechendem Volumen Oliven- oder Sesamöl gelöst und kastrierten Weibchen der weissen Maus als Testtieren subkutan injiziert.

Auf diese Weise gelang es, in den oben erwähnten Pflanzenteilen die Anwesenheit von brunsterzeugenden, ihrer Wirkung nach thelykinin-ähnlichen Stoffen nachzuweisen.

In ihrer Wirkungsweise unterschieden sich in den vorliegenden Versuchen die pflanzlichen brunsterzeugenden Stoffe von den früher beobachteten tierischen Thelykininen in zeitlicher Hinsicht insofern, als die pflanzlichen Stoffe eine sich später entfaltende, manchmal schubweise verlaufende Brunsterscheinung hervorriefen.

Die nach dem Zählverfahren ausgeführten Gehaltsbestimmungen führten zu folgenden Ergebnissen:

Die grösste Menge von brunsterzeugenden Stoffen fand sich in den Stempeln der Saalweide, dagegen war in ihren isolierten Narben der Gehalt bedeutend geringer; die vegetativen Teile blühender *Impatiens parviflora* und *Althaea rosea*-Stöcke wiesen brunsterzeugende Stoffe nur in verschwindender Menge auf. Die Voruntersuchungen mit *Nuphar luteum* konnten quantitativ mit Sicherheit nicht verwertet werden.

Künftig in Aussicht genommene Untersuchungen hätten zu entscheiden, wie weit diese brunsterzeugenden Stoffe im Pflanzenreich verbreitet sind, inwieweit sie mit dem tierischen Thelykinin in Beziehung stehen und ob und in welcher Masse

sie sich als Träger geschlechtsspezifischer Eigenschaften des Pflanzenkörpers erweisen.

Von theoretischen Erörterungen soll hier bis zur weiteren Klärung dieser Frage abgesehen werden.

Erwähnt sei nur, dass beim Forschen nach biochemisch fassbaren Trägern geschlechtsspezifischer Prägungsmerkmale bei den Pflanzen neben der Geschlechtsverteilung (Monözie, Diözie, Monoklinie) auch die Vererbungserscheinung der Geschlechtsbestimmung (ob sie phäno- oder genotypisch bedingt ist) sowie der Phasenwechsel (ob Haplo- oder Diplophase bzw. ob Haplo- oder Diplobionten vorliegen) im Auge zu behalten sind.

27. Januar 1927.
