

# Untersuchungen über die Physiologie der pflanzlichen Virose

Von der Technischen Hochschule Dresden  
zur Erlangung  
der Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften  
(doctor rerum technicarum)

genehmigte

## Dissertation

Vorgelegt von

**Hans Franke**  
aus Straßburg im Elsaß

Eingereicht: 19. Juli 1937

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Juli 1937

**Referent: Professor Dr. phil. Wolfgang Graßmann**

**Korreferent: Professor Dr. phil. Friedrich Tobler**

**ISBN 978-3-662-28028-7**

**ISBN 978-3-662-29536-6 (eBook)**

**DOI 10.1007/978-3-662-29536-6**

**Sonderabdruck aus „Biochemische Zeitschrift“, Band 293, Heft 1/2**

**Copyright Springer-Verlag Berlin Heidelberg 1937**

**Ursprünglich erschienen bei Verlag von Julius Springer in Berlin 1937**

### Einleitung und Problemstellung.

Mit der Abkehr der Phytopathologie von der reinen Erregerkunde und ihrer Zuwendung zur Physiologie, die sich aus der neuen Auffassung vom Wesen der Krankheit ergab, mußten die Erscheinungen der Virosen eine erhöhte Bedeutung für das Studium der pflanzlichen Erkrankungen gewinnen. Denn die primitive Organisation der die Virosen verursachenden kontagiösen Agenzien ließ erstmalig die Möglichkeit erscheinen, den Erkrankungsvorgang als symbiotische Gleichgewichtseinstellung in Reaktionsmechanik und Reaktionskinetik je spezifisch und eindeutig physikalisch-chemisch zu erfassen.

Nachdem sich nämlich gezeigt hatte, daß der Ansteckungsstoff der pflanzlichen Virosen nicht an morphologisch unterscheidbare und mikroskopisch faßbare Körper gebunden ist, vielmehr die Ultrafiltrations- und Ultrazentrifugationsversuche (1) (2) (3) für die infektiösen Partikeln eine Größe wahrscheinlich gemacht hatten, die weit unter der der kleinsten bakteriellen Erreger liegt, mußte angenommen werden, daß eben wegen dieser geringen molekularen Dimensionen der viröse Angriff nur an einer geringen Anzahl von Inhaltsstoffen der lebenden Pflanze erfolge und somit der Krankheitsprozeß sich verhältnismäßig leicht in seinen stofflichen und energetischen Verhältnissen definieren lasse. Eine solche Bestimmung mußte sich nun wiederum bei den vitrostabilen und trockenresistenten Vira, wie etwa dem gewöhnlichen („klassischen“) Tabak-Mosaik-Virus, am einfachsten gestalten, da diese gewisse chemische und physikalisch-chemische Behandlungen ohne Virulenzverlust zu überstehen vermögen.

Der eigentlichen Aufhellung des Reaktionsmechanismus in der kranken Pflanze hatte die Feststellung des biologischen Verhaltens der Vira voranzugehen, die für das klassische Virus in den letzten Jahren von verschiedenen Seiten durchgeführt wurde. Sie brachte die Feststellung der einzelnen Virusmutanten (4), des Wirtskreises (5), der Krankheitsercheinungen in Anatomie, Physiologie und Cytologie mit besonderer Berücksichtigung der intracellulären Einschlüsse (6 bis 9), sowie des immunitären Verhaltens der verschiedenen Wirtspflanzen (10) (11). Ferner klärte sie die Verhältnisse von Virusverteilung (12, II, III), Konzentration (13), Ausbreitungsbahn, Ausbreitungsgeschwindigkeit und Inkubationszeit (14), sowie das serologische Verhalten bei der Anstellung von Präzipitations-, Neutralisations-, Komplementbindungs- und Anaphylaxiereaktionen (15) (16) (17).

Gleichzeitig wurde die Methodik der Virusuntersuchung in Übertragung(18), Züchtung (19) (20) und Messung (21) (22) erweitert und vervollkommenet.

Nachdem mit der biologischen Charakterisierung die nötige Grundlage für die exakte Behandlung des Virusproblems geschaffen worden war, zielte die weitere Untersuchung auf die chemische Kennzeichnung und Isolierung des Virus selbst. Den einleitenden Arbeiten über die Beeinflussung der Virusaktivität durch Behandlung mit chemischen Reagenzien und über das Verhalten bei der Adsorption und Elektrophorese (12 I, IV) (23) folgte nach den wegweisenden Versuchen von *Vinson* und *Petre* (24) die Reindarstellung der kristallisierten Virusproteine durch *Stanley* und die Feststellung ihrer Eigenschaften, wie des Molekulargewichts, der Inaktivierungsgrenzen und des isoelektrischen Bereichs (25). Dies führte bereits zur Aufhellung der Beziehungen zwischen diesen Proteinen und den kristallinen Zelleinschlüssen der kranken Pflanze (26); ferner ergaben sich damit gewisse, allerdings noch wesentlich weniger deutliche Beziehungen zwischen Kristallisationsvermögen, Vermehrungsgeschwindigkeit und Virulenz der einzelnen Stämme des klassischen Virus, die das immunitäre Verhalten der Pflanzen (bei der Erscheinung der Toleranz gegen die latenten Stämme) der Deutung zugänglich machten.

Mit der biologischen und chemischen Kennzeichnung und den anschließenden Arbeiten schienen somit unmittelbar die Voraussetzungen gegeben, die die exakte Analyse von Reaktionsmechanik und Reaktionskinetik des Virus im belebten Substrat ermöglichen konnten, und die weitere Arbeit hatte nunmehr die stofflichen Reaktionsverhältnisse des Virusprogresses und seine energetischen Grundlagen zu ermitteln.

Diese Aufhellung des Reaktionsmechanismus der Vira hat anzusetzen an den verschiedenen Reaktionstypen, die sich in dem Symptom- und Immunverhalten der Pflanze ausdrücken. Für die klassischen Mosaikvira sind kennzeichnend die Formen der echten Immunität, der scheinbaren Immunität oder Toleranz, der Mosaikerkrankung, der akuten systematischen Nekrose und der lokalen Resistenz. Während die Erscheinung des toleranten Verhaltens der Pflanze von der Spezifität des Virusstammes abhängt, ist die Ausbildung der übrigen Reaktionstypen von der Spezifität der Wirtspflanze bedingt: Die Mosaikerkrankung ist etwa gebunden an *Nicotiana tabacum* und *Solanum lycopersicum*, die systematische Nekrose an *Nicotiana rustica* und *Nicotiana sanderae*, die lokale Resistenz an *Nicotiana glutinosa*, *Datura stramonium* und *Phaseolus vulgaris* und die echte Immunität an die große Gruppe der nicht anfälligen Pflanzen.

Soll nun entschieden werden, welche stofflichen Grundlagen die Ausbildung der Krankheit und damit die Vermehrung des Virus erfordert, so müssen zunächst die Unterschiede im Eiweißhaushalt der einzelnen Wirtstypen festgestellt werden. Dieser Feststellung wird entspringen, an welchem Eiweißkörper der Virusangriff stattfindet; gleichzeitig wird sich daraus ergeben, in welcher Weise die Verschiedenheiten in den

Eiweißverhältnissen die Symptomtypen für die einzelnen Wirkkreise bestimmen. Dieser Untersuchung hat ein Studium des Krankheitsverlaufs zu folgen, durch welches der Einfluß der Erkrankung auf den spezifischen Eiweißhaushalt geklärt werden kann.

Die enzymatische Natur der phytopathogenen Vira fordert weiter zur Klärung der kinetischen Verhältnisse die Ermittlung des Reaktionsverhaltens im Säurebasengleichgewicht, wobei die Beziehungen von Wasserstoffzahl und Pufferung zum virösen Prozeß bestimmt werden müssen. Zur Feststellung der energetischen Voraussetzungen für die Bildung der Virussubstanz schließlich müssen die Veränderungen im Energiehaushalt während der Erkrankung ermittelt werden, wobei sich das Wesen und das Ausmaß der Energieverschiebung ergeben wird.

**Material.**

Zur Untersuchung kamen gesunde und kranke Pflanzen von *Nicotiana tabacum* (Samsun Bashi Bagli gestielt<sup>1</sup>), *Solanum lycopersicum* und *Beta vulgaris* als Vertreter des anfälligen Typs, *Nicotiana glutinosa*, *Datura stramonium* und *Phaseolus vulgaris* als Lokalresistente, sowie *Nicotiana rustica* als Beispiel für die Formen mit systematischer Nekrose. Die Pflanzen wurden im Treibhaus herangezogen und für die Versuche in Töpfen von etwa 20 cm lichter Weite im Fensterkasten bzw. im Freiland gehalten<sup>2</sup>. Als Düngung erhielten sie eine 1%ige Lösung gleicher Gewichtsteile Nitrophoska und Harnstoff.

Das verwendete Virus wurde im Jahre 1936 von Freilandpflanzen des Botanischen Gartens isoliert und auf *Nicotiana tabacum* Samsun weitergezüchtet. Zur Bestimmung wurde es auf *Solanum lycopersicum*, *Petunia hybrida*, *Datura stramonium*, *Nicotiana glutinosa* und *Nicotiana rustica* verimpft. Diese Pflanzen zeigten die in Tabelle I wiedergegebenen Krankheitsbilder und Inkubationszeiten. Das Virus erwies sich nach 10 Minuten Erhitzung auf 75° noch als virulent. Auszüge aus 3 Monate getrockneten Blättern zeigten eine kaum verminderte Infektionskraft. Aus den ermittelten Daten ergibt sich, daß das Virus einen schwachen Stamm des gewöhnlichen grünen („klassischen“) Tabak-Mosaik-Virus darstellt.

Tabelle I. Analyse des Virus.

Testpflanze	Symptom	Inkubationszeit in Tagen
<i>Nicotiana tabacum</i> Samsun.....	Grünes Mosaik	20—28
<i>Solanum lycopersicum</i> .....	Helles unscharfes Mosaik	25—36
<i>Petunia hybrida</i> .....	Schwaches grünes Mosaik	30—36
<i>Datura stramonium</i> .....	Lokalnekrose	18—22
<i>Nicotiana glutinosa</i> .....	Lokalnekrose	12—15
<i>Nicotiana rustica</i> .....	Systematische Nekrose	16—22

<sup>1</sup> Das Saatgut wurde liebenswürdigerweise vom Tabakforschungsinstitut in Forchheim zur Verfügung gestellt. — <sup>2</sup> Die Aussaat und Anzucht besorgte Herr Rapp vom Botanischen Garten zu Dresden. Für seine Mühe danke ich ihm auch an dieser Stelle.

Zur Übertragung auf die Versuchspflanze wurden die Auszüge der 3 Monate getrockneten Blätter verwendet; die Übertragung selbst erfolgte durch Blatteinreibung mit sterilisierten Glasspateln. Auf die Benutzung von Karborundstaub wurde verzichtet, da sich zeigte, daß dieses Material zu grobe Verletzungen der Blattflächen hervorrief.

Daneben wurde ein Stamm des gewöhnlichen Bohnen-Mosaik-Virus untersucht, der auf *Nicotiana tabacum* keine Symptome erzeugt.

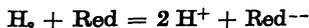
### Methodik.

#### 1. Wasserstoffzahl.

Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration erfolgte sowohl elektrometrisch in den Preßsäften wie auch mittels Indikatoren in Rasiermesserschnitten.

Dabei ergaben sich folgende Schwierigkeiten: Da die Indikatoren starke Salz- und Eiweißfehler zeigen, konnten sich die Ergebnisse mit ihnen jeweils nur auf die qualitativen Unterschiede zwischen den einzelnen Teilen der Schnitte beziehen, ohne über die absoluten Werte für die betreffenden Gewebeteile Aussagen zu erlauben.

Die elektrometrische Messung andererseits hatte mit der Schwierigkeit zu rechnen, daß die in den Preßsäften auftretenden Oxydations-Reduktionspotentiale die Potentiale der Wasserstoffionenkonzentration überlagerten, was zu unrichtigen Werten hätte führen müssen. Von der Verwendung der durch die Redoxpotentiale unbeeinflussbaren Glaselektrode mußte dabei abgesehen werden, weil die eiweißreichen Preßsäfte der Pflanzen die Glasmembranen unter Verschiebung ihres Eigenpotentials ungünstig beeinflussen. Denn die wegen dieser Beeinflussung nötige Reinigung der Glasoberfläche hätte jeweils eine Veränderung des Asymmetriepotentials hervorgerufen und damit die Ermittlung der Eichkurve vor jeder Messung nötig gemacht, worauf wegen der Umständlichkeit verzichtet werden mußte. Da aber die bei der Aziditätsbestimmung von Redoxsystemen übliche Reduktion mit Platin- oder Osmiumschwarz und Wasserstoff nach der Gleichung



zu einer Säuerung des Preßsäftes führen und die Wasserstoffwerte des ursprünglichen Preßsäftes verändern konnte, mußte auf die Messung im rohen, unverdünnten Preßsaft verzichtet werden. Die starke Pufferung der pflanzlichen Gewebssäfte erlaubte jedoch, diese soweit zu verdünnen, daß der Fehler durch die mitbestimmenden Redoxsysteme vernachlässigt werden konnte. Im allgemeinen erwies sich dabei eine Verdünnung bis auf das Dreifache des ursprünglichen Volumens als ausreichend. In den so verdünnten Lösungen konnte die Messung ohne Beeinträchtigung der Richtigkeit mittels der Chinhydronelektrode in Verbindung mit einer gesättigten Kalomelektrode vorgenommen werden. Da nämlich die eigenen Redoxsysteme des Preßsäftes, verglichen mit dem Chinhydronsystem, äußerst gering beschwert sind, konnte die Verschiebung des Verhältnisses von Chinon zu Hydrochinon in der Gleichung

$$\frac{[\text{Chinon}] \cdot [\text{Hydrochinon}]}{[\text{Chinhydrone}]} = K$$

nur einen geringen Betrag ausmachen, der sich außerdem dadurch verringern mußte, daß das im Überschuß als unlöslicher Bodensatz vorhandene

Chinhydron weitere Mengen bis zur Erreichung des Gleichgewichts in Lösung gibt, und somit die potentialbestimmende Wirkung der Preßsaftsysteme auffängt.

Die Messung selbst erfolgte in Mikroelektrodengefäßen, die zumeist mit 0,3 ccm des zentrifugierten Preßsaftes und 2 ccm Aqua dest. beschickt wurden; die Millivoltwerte wurden an einem Röhrenvoltmeter abgelesen, wobei die Richtigkeit durch Messung der Zahlen für fortschreitende Verdünnungen und logarithmische Extrapolation derselben überprüft wurde.

### 2. Pufferung und elektrometrische Titration.

Zur Ermittlung der Pufferkapazität in den Preßsäften wurden je 0,3 ccm mit 2 ccm Aq. dest. versetzt und zu dieser Mischung steigende Mengen Salzsäure von konstantem Titer gegeben; aus den  $p_H$ -Werten und der zugefügten Säure, ausgedrückt in Moläquivalenten, wurde das Ausmaß der Pufferung für die verschiedenen Bereiche der  $p_H$ -Skala ermittelt. Da die Veränderung im  $p_H$ -Wert gleichermaßen von den in der Lösung vorhandenen puffernden Systemen, den Salzen schwacher Säuren und den Eiweißkörpern abhängt, ergaben sich gleichzeitig aus den Titrationskurven Anhaltspunkte für das Vorliegen solcher Systeme im Preßsaft und für ihre Wirkungsmengen.

Der Titer der Säure mußte dabei so gewählt werden, daß auf den Zusatz der kleinsten verwendeten Säuremenge (0,05 ccm) ein deutlicher, aber nicht zu großer  $p_H$ -Sprung auftrat. Dieser Verdünnungsgrad wurde experimentell ermittelt und nachträglich durch Titration mit  $n/50$  Natronlauge gegen Bromthymolblau auf 0,0293  $n$  festgelegt.

Eine Titration im alkalischen Bereich erübrigte sich, da die isoelektrischen Punkte fast aller pflanzlichen Eiweißkörper im sauren Bereich gelegen sind, und andererseits die sauren Eigenschaften des untersuchten Virus eine Prüfung der Verhältnisse besonders in diesem Gebiet wünschenswert erscheinen ließen.

### 3. Oxydations-Reduktionspotentiale.

Nachdem von *Holmes* (27) der Nachweis erbracht worden war, daß das klassische Tabakmosaikvirus auch in den chlorophyllfreien Teilen der Pflanzen der Vermehrung fähig ist, mußte die heute noch oft vertretene Annahme, daß die Virusvermehrung an den energetischen Prozeß der Assimilation gebunden sei, aufgegeben werden. Es war darum zu untersuchen, ob zwischen dem verschiedenen Vermehrungsausmaß in den einzelnen Pflanzenteilen und deren Potentialverhältnissen eine eindeutige Zuordnung bestünde. Ferner mußte festgestellt werden, inwieweit der Prozeß der Virusvermehrung die Vorgänge der Oxydoreduktion selbst zu beeinflussen vermöchte.

Um dies zu entscheiden, wurde eine Methode zur Messung der anaeroben Potentiale auch an den grünen Teilen der Pflanze ausgearbeitet. Da es hierbei darauf ankam, nicht lediglich die Endpotentiale festzustellen, sondern — um ein Urteil über die Beschwerung in den

einzelnen Potentialbereichen zu ermöglichen — der Gesamtverlauf des Potentialabfalles ermittelt werden mußte, konnte die bisher übliche Methode der Potentialmessung mit Hilfe der *Wheatstone*schen Brücke und des Galvanometers nicht beibehalten werden. Denn die bis zur Einstellung des Potentialgleichgewichts durch die Verschiebung des Brückenkontakts auftretende elektrische Polarisation verändert das Elektrodenpotential und macht die Ermittlung sinnvoller Werte an den Stellen geringer Beschwerung unmöglich.

Aus diesem Grunde wurden die Potentiale mit einem dafür hergestellten Röhrenvoltmeter gemessen, dessen Verstärkungsgrad mit Hilfe

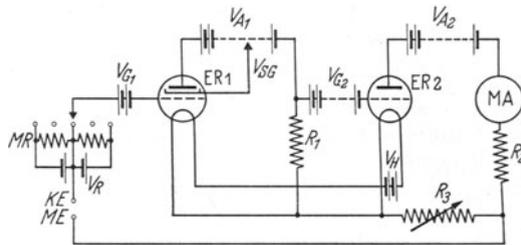


Abb. 1. Schaltschema des Röhrenvoltmeters.

<i>ER</i> <sub>1</sub> Schirmgitterröhre RES 194	<i>V</i> <sub>A1</sub> Batterie + 75 Volt,	<i>R</i> <sub>1</sub> Außenwiderstand	400 000 Ω
<i>ER</i> <sub>2</sub> Triode RE 034	<i>V</i> <sub>A2</sub> „ + 120 „	<i>R</i> <sub>2</sub> „	150 000 Ω
<i>MR</i> Meßregler mit Abgriff	<i>V</i> <sub>G1</sub> „ - 3,0 „	<i>R</i> <sub>3</sub> Ohmsche Rück-	
<i>KE</i> Anschluß für Kalomelektrode	<i>V</i> <sub>G2</sub> „ + 36 „	koppelung	1 000 Ω
<i>ME</i> Anschluß für Meßelektrode	<i>V</i> <sub>SG</sub> „ + 68 „		
<i>MA</i> Milliampereometer, 0,6 mA max.	<i>V</i> <sub>R</sub> „ - 3,0 „		
	<i>V</i> <sub>H</sub> „ + 4,0 „		

Benutzte Eichgerade: Millivolt = - 77,5 + Meßeinheiten · 9,65.

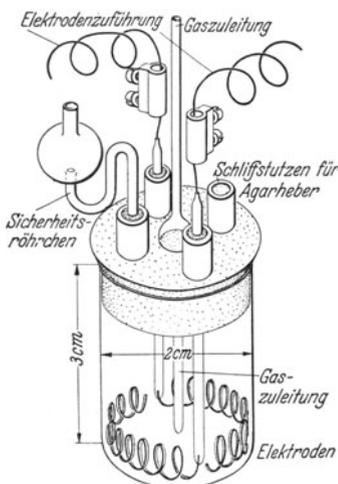


Abb. 2. Mikroelektrodengefäß.

einer Rückkoppelung verändert werden konnte, und bei dem die Einstellung auf den Meßbereich mit Hilfe eines Vorspannungsabgriffes erfolgte (Abb. 1). Die Ablesungen wurden alle 2 oder 5 Minuten bis zum Zeitpunkt der langsamen Potentialeinstellung vorgenommen, von da an in entsprechend größeren Zeitabständen. Um die Potentiale in den Einzelteilen derselben Pflanze miteinander vergleichen zu können, mußte weiterhin die Größe des Elektrodengefäßes und der Elektroden verringert werden. Da aus einem Blatt mittlerer Größe bei den verwendeten Pflanzen eine Flüssigkeitsmenge von etwa 0,3 bis 1,5 ccm erhalten wurde, wurden die Abmessungen des Elektrodengefäßes derart gewählt, daß sie Messungen in 0,5 ccm Flüssigkeit ermöglichten. Die beiden Elektroden, Gaszuleitungsrohr, Sicherheitsventil und

Agarheber wurden dabei durch Schlitze in den Deckel des Gefäßes eingesetzt (Abb. 2). Die Elektroden wurden aus 1 cm 0,5 mm starkem Platindraht hergestellt, der nach dem Einschmelzen zur Folie ausgeschlagen und spiralsch aufgerollt wurde. Zur Herstellung anaerober Verhältnisse wurden vor Beginn der Messung die Schlitze mit einer ätherischen Lösung von Kollodium abgedichtet. Der durchgeleitete Stickstoff wurde einer Bombe mit technischem Gas entnommen und einmal mit Kaliumpermanganat und zweifach mit alkalischer Pyrogalllösung gereinigt; die Gaszuleitung erfolgte mittels Vakuum- und Kapillarschläuchen.

Da bei geringen Elektrodenabmessungen der Einfluß der Eigenart und Vorbehandlung der Elektroden auf die Potentialausbildung wesentlich verstärkt ist, wurden in Vorversuchen diese Einflüsse klar-

gestellt. Hierbei zeigte sich, daß bei Messung mit den schon einmal benutzten Elektroden ohne Reinigung die Potentialeinstellung wesentlich träger verläuft als bei den mit Chromschwefelsäure vorbehandelten Elektroden. Andererseits ergibt die Elektrode bei langer Behandlung mit Chromschwefelsäure (ein Tag bis drei Stunden) selbst nach langer Auswaschung ein stark positives Potential, dessen

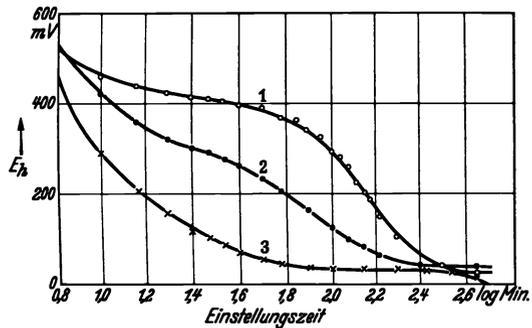


Abb. 3. Einfluß der Elektrodenvorbehandlung auf den Potentialverlauf.

Ansatz: Je 1 ccm zentrifugierter Preßsaft gesunder Tabakblätter + 1 ccm Puffer,  $pH$  7,0, mit Redoxfarbstoffen.

Elektrode 1 stark oxydiert  
 " 2 " " und mäßig reduziert  
 " 3 " " " vollkommen reduziert.

scheinbare Beschwerung mit der Dauer der Vorbehandlung ansteigt, das jedoch durch kathodische Reduktion in verdünnter Schwefelsäure weitgehend unterdrückt werden kann. In einer graphischen Darstellung werden diese Verhältnisse besonders deutlich, wenn der Potentialverlauf gegen den Logarithmus der Einstellungszeit abgetragen wird (Abb. 3).

Jedoch erwies es sich unter Umständen als günstiger, die Elektroden nicht vollständig zu reduzieren, sondern sie durch Einhaltung einer bestimmten Oxydations- und Reduktionszeit auf eine gewisse mittlere Geschwindigkeit der Potentialeinstellung und des Potentialabfalles zu bringen. Sollte nämlich die Potentialbewegung besonders im positiven Anfangsbereich studiert werden, so waren dafür die vollkommen kathodisch reduzierten Elektroden weniger brauchbar; sollte dagegen der Kurvenverlauf im Endstadium einschließlich des Grenzpotentials ermittelt werden, so wurden hierfür besser vollkommen

reduzierte Elektroden verwendet, mit denen bei kürzerer Versuchsdauer etwaige störende Einflüsse durch Entwicklung von Bakterien oder durch Ermüdung der Elektroden ausgeschaltet werden konnten.

Der Vergleich des Potentialverlaufs bei Suspensionen von Gewebsschnitten, im Mörser hergestelltem Gewebebrei und rohen Preßsäften ergab, daß die unmittelbare Messung der sich einstellenden Potentiale auch bei Verwendung von Potentialvermittlern keine sinnvollen Werte liefert. Leitet man nämlich durch eine Suspension von Blattschnitten oder Gewebebrei oder durch rohe Preßsäfte einen Stickstoffstrom, so fällt das Potential zwar bis zu einem gewissen Grenzwert, steigt jedoch bei Aufhören der Stickstoffzuleitung oftmals wieder bis nahezu

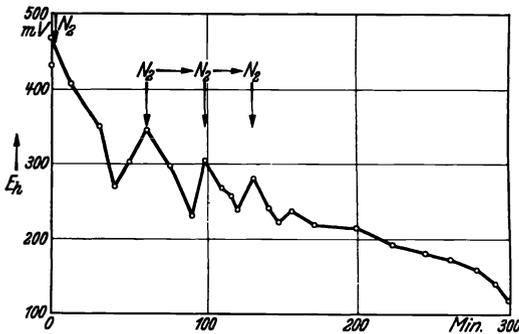


Abb. 4. Potentialverlauf in rohen Preßsäften.  
Ansatz: 1 ccm Preßsaft gesunder Tabakblätter + 1 ccm Puffer,  $p_H$  7,0, mit Redoxfarbstoffen. Bei  $N_2$  Stickstoffzuleitung.

den ursprünglichen Wert an. Bei der Wiederholung des Versuchs ergibt sich die gleiche Erscheinung, nur führt das Absinken zu jeweils negativeren Werten, und erreicht der Wiederanstieg nicht mehr ganz den vorherigen Wert (Abb. 4). Dieses Verhalten macht die Annahme wahrscheinlich, daß den potentialbestimmenden Systemen in der flüssigen Phase ein zweiter, getrennter Einfluß überlagert sei, der durch die Abgabe von Sauerstoff oder die Aufnahme von Elektronen den Potentialverlauf rückläufig beeinflusst.

Um festzustellen, ob die beobachtete Wirkung auf dem Assimilationsvorgang oder davon abhängigen Restvorgängen beruhte, wurden Versuche mit verdunkelten Elektrodengefäßen und vorher verdunkelten Pflanzen angestellt. Sie ergaben, daß die rückläufige Potentialbewegung nicht auf die Assimilationsprozesse zurückgeführt werden kann. Durch Zentrifugieren bis zur Klarheit des Überstandes konnte das störende System aus den Preßsäften entfernt werden. Aus dem Vergleich der Ruhopotentiale, die nach Zusatz von  $m/50$  KCN vor und nach der Durchströmung mit Stickstoff auftraten, konnte ebenso wie für die Systeme der zentrifugierten Säfte eine starke Blausäureempfindlichkeit der Störsysteme festgestellt werden.

Daraus und aus der Ähnlichkeit des Potentialverlaufs in den rohen sowie in den zentrifugierten Preßsäften konnte geschlossen werden, daß die rückläufige Potentialbewegung auf Diffusionsunterschiede des Stickstoffs bzw. Sauerstoffs in den beiden Phasen der rohen Preßsäfte zurückzuführen ist. Danach würde etwa bei Einleitung von Stickstoff für die flüssige Phase eine schnellere Verarmung an Sauerstoff anzunehmen sein, die nach Unterbrechung des Stickstoffstromes durch die Abgabe von Sauerstoff aus der festen Phase das Ansteigen des Potentials verständlich macht.

Um bei den Messungen den Einfluß der störenden Substanz zu beseitigen, wurden daher lediglich klar geschleuderte Preßsäfte verwendet. Zur Potentialvermittlung wurde ihnen je die gleiche Menge einer m/40000 Lösung von Methylenblau ( $E_n = + 0,011$  Volt), Äthylcapriblau ( $- 0,072$  Volt), Nilblausulfat ( $- 0,150$  Volt), Brillantalizarinblau ( $- 0,173$  Volt) und Rosindulin 2 G ( $- 0,281$  Volt) in Phosphatpuffer von  $p_H$  7,0 zugegeben. Unter anaeroben Verhältnissen ergab sich dabei der für physiologische Systeme typische Kurvenverlauf.

**Ergebnisse.**

Die verschieden starke Vermehrung des Virus in den Einzelteilen der Pflanze ließ wegen der Enzymähnlichkeit der Vira eine Beziehung zwischen Vermehrungsgrad und Gewebsreaktion erwarten. Eine solche Beziehung hätte sich in verschiedenen Wasserstoffzahlen für die Teile mit geringer Virusvermehrung (alte Blätter), für die mit mittlerer (Stamm, untere und mittlere Blätter) und für diejenigen mit starker Virusbildung (junge obere Blätter und Wurzeln) (10) (12) (14) zeigen müssen. Wie sich aus den Messungen ergab, läßt sich jedoch eine eindeutige derartige Abhängigkeit nicht annehmen: Die absoluten Werte für die einzelnen Blätter ein und derselben Pflanze überschneiden sich mit den Werten für andere Pflanzen, wobei die Schwankungsbreite von maximal 0,5 Einheiten für die verschiedenen Pflanzen oftmals einen unterschiedlichen Schwankungsbereich auswählt, was es als unmöglich erscheinen läßt, für die verschiedenartigen Blätter sinnvolle mittlere Werte anzugeben (Tabelle II). Bei den unter optimalen Bedingungen

Tabelle II. Wasserstoffzahlen der Blätter einzelner Pflanzen von *Nicotiana tabacum* (Freiland- und Fensterkastenpflanzen).

Pflanze	3	8	10	11	12	16	18	19	21	24	Min.	Max.
Untere Blätter ...	5,68	5,66	5,60	5,52	5,43	5,58	5,58	5,14	5,64	5,23	5,14	5,68
Mittlere Blätter ..	5,82	5,90	5,81	5,87	5,56	5,72	5,56	5,36	5,80	5,49	5,36	5,90
Obere Blätter ...	5,95	6,08	6,05	5,82	5,72	6,03	5,77	5,59	6,11	5,67	5,59	6,11
Schwankungsbreite	0,27	0,42	0,45	0,35	0,29	0,45	0,21	0,45	0,47	0,44	0,21	0,47

aufgewachsenen Freiland- und Fensterkastenpflanzen ließ sich zumeist eine Polarität in dem Sinne feststellen, daß die oberen Blätter höhere Werte erreichten als die unteren; doch fanden sich auch Abweichungen von dieser Regel. Die Wurzeln ähnelten in dieser Beziehung mehr den oberen Blättern, der Stamm mehr den mittleren; Sproßspitzen zeigten im allgemeinen die alkalischsten Werte, alte gelbe Blätter die sauersten. Der Unterschied zwischen den sauersten und alkalischsten Werten für die ausgewachsenen Teile betrug maximal 0,9 Einheiten. Am ausgeprägtesten war die Polarität bei jungen, noch nicht vollentwickelten Treibhauspflanzen, die auch eine größere Schwankungsbreite auf-

wiesen, während sie bei der unter ungünstigen Umständen sich entwickelnden Zimmerpflanze und der in Leitungswasser gezogenen Hungerpflanze bei verringerter Schwankungsbreite verwischt erschien (Tabelle III).

Tabelle III. Wasserstoffzahlen bei verschiedenen gehaltenen Pflanzen von *Nicotiana tabacum*.

Pflanzenteil	Junge Treibhauspflanze	Erwachsene Fensterkastepflanze	Erwachsene Freilandpflanze	Erwachsene Zimmerpflanze	Erwachsene Hungerpflanze
Untere Blätter ...	5,52	5,59	5,68	5,83	5,70
Mittlere Blätter ..	5,86	5,68	5,69	5,91	5,82
Obere Blätter ....	6,19	5,74	5,84	5,81	5,72
Wurzeln .....	6,21	6,06	6,12	5,85	5,78
Stamm .....	5,88	5,81	5,88	5,52	5,71
Schwankungsbreite	0,69	0,47	0,44	0,39	0,12

Ebensowenig fand sich eine Beziehung zwischen dem Immunverhalten der lokalen Resistenz und den Wasserstoffzahlen. Die Werte für die nicht nekrotierenden Sandblätter und unteren Blätter, sowie für die nekrotierenden oberen Blätter von *Nicotiana glutinosa* liegen innerhalb der Schwankungsbreite der entsprechenden Teile von *Nicotiana tabacum* (Tabelle IV).

Tabelle IV. Wasserstoffzahlen für die Blätter einzelner Pflanzen von *Nicotiana glutinosa*.

Pflanze	1	3	4	8	11	12
Sandblätter .....	5,24	5,21	5,32	5,32	5,46	5,37
Untere Blätter ...	5,41	5,23	5,40	5,48	5,48	5,49
Mittlere Blätter ..	5,29	5,38	5,58	5,39	5,72	5,70
Obere Blätter ....	5,78	5,32	5,63	5,50	5,95	5,80
Spitzenblätter ....	5,90	5,84	5,88	5,79	6,20	6,12
Schwankungsbreite	0,66	0,63	0,56	0,47	0,74	0,75

Für das Auftreten der kristallinen Einschlüsse dagegen konnten Hinweise auf eine solche Abhängigkeit gefunden werden: Die Gewebe mit stärkerer Kristallbildung (Epidermis und Haare) (9) ergaben mit der Indikatorreaktion eine saurere Färbung als die mit schwacher Kristallbildung (Tabelle V), was wahrscheinlich macht, daß die Kristallausscheidung an eine saurere Reaktion gebunden ist. Doch können hier auch systematische Salz- und Eiweißfehler einen Einfluß haben.

Da angenommen werden konnte, daß das Virus wegen seines sauren Charakters in einem Regulationsgleichgewicht mit den puffernden Systemen der Zelle stehe und Vermehrungsgrad und Symptombild

Tabelle V. Indikatorreaktion der Gewebe von *Nicotiana tabacum*.

Gewebe	Indikator und Umschlagsbereich						
	Bromphenolblau 3,0—4,6	Methylorange 3,1—4,4	Bromkresolgrün 3,8—5,4	Benzolazonnaphthylamin 3,5—5,7	Methylrot 4,4—6,5	Diäthylrot 4,5—6,5	Bromkresolpurpur 5,2—6,8
Epidermis	blauviolett	gelb	blau	hellgelblichrot	gelblichrosa	rosa	gelb
Rinde ...	"	"	"	gelb	gelb	gelb	schwach braunviolett
Phloem ..	"	"	"	"	"	"	gelbbraun
Xylem ...	blau	olivgrün	grün	rot	rot	rot	schmutzigbraun
Markstrahl	blauviolett	gelb	blau	gelb	gelb	gelb	braunviolett
Mark ....	"	"	"	gelbrot	hellrot	rosarot	gelb
Haare ...	"	"	blaugrün	"	"	"	"

entsprechend von der Pufferung abhängt, wurde die Pufferung des Tabaks im physiologischen Bereich entsprechend der Formel

$$P = \frac{\text{zugefügte Moläquivalente HCl}}{\Delta p_H}$$

ermittelt. Dabei fand sich jedoch, daß die einzelnen Blätter einer Pflanze nahezu die gleiche Pufferkapazität besitzen, und daß auch verschiedene Pflanzen vergleichsweise ähnliche Werte liefern. Die Maximalzahlen ergaben sich für die gut ernährten Fensterkasten- und Freilandpflanzen (0,019), während die unter ungünstigen Bedingungen wachsenden Pflanzen eine verringerte Pufferung zeigten (Tabelle VI). Verglichen mit den Blättern hatten die Wurzeln die gleichen, Stamm und Blüten etwas erhöhte Pufferwerte (Tabelle VII).

Tabelle VI. Pufferung der Blätter von *Nicotiana tabacum*.

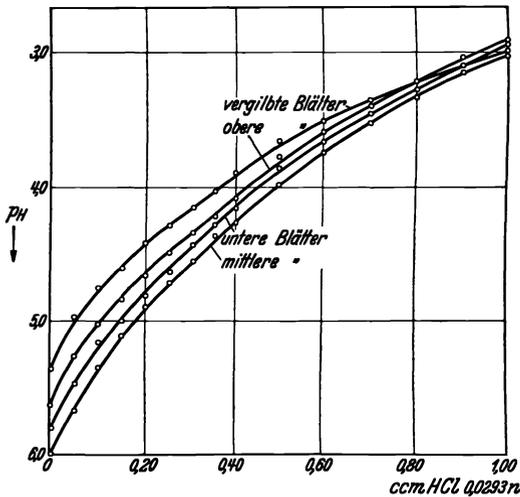
Blätter	$\Delta p_H$		$P$		$\Delta p_H$		$P$	
	0,1 ccm HCl		0,1 ccm HCl		0,1 ccm HCl		0,1 ccm HCl	
Freilandpflanzen.								
Untere Blätter ...	0,65	0,015	0,70	0,014	0,51	0,019		
Mittlere Blätter ..	0,66	0,015	0,69	0,014	0,53	0,018		
Obere Blätter ....	0,65	0,015	0,67	0,015	0,51	0,019		
Fensterkastenpflanzen.								
Untere Blätter ...	0,75	0,013	0,63	0,016	0,68	0,014		
Mittlere Blätter ..	0,69	0,014	0,63	0,016	0,66	0,015		
Obere Blätter ....	0,70	0,014	0,64	0,015	0,69	0,014		

Blätter	Zimmerpflanze		Hungerpflanze	
	$\Delta p_H$ 0,1 ccm HCl	P	$\Delta p_H$ 0,1 ccm HCl	P
Untere Blätter ...	0,89	0,011	0,98	0,010
Mittlere Blätter ..	0,88	0,011	0,96	0,010
Obere Blätter ....	0,86	0,011	0,96	0,010

Tabelle VII. Pufferung der Teile von *Nicotiana tabacum*.

Pflanzenteil	$\Delta p_H$	Pufferung	Pflanzenteil	$\Delta p_H$	Pufferung
	0,10 ccm HCl			0,10 ccm HCl	
Untere Blätter ...	0,65	0,015	Wurzel .....	0,66	0,015
Mittlere Blätter ..	0,66	0,015	Stamm .....	0,52	0,019
Obere Blätter ....	0,65	0,015	Blüte .....	0,32	0,039
Alte gelbe Blätter	0,64	0,015			

Diese Tatsache gab Anlaß, die Titrationskurven für die Einzelteile festzustellen (Abb. 5 und 6). Dabei ergab sich eine auffällige Übereinstimmung der Einzelblattkurven und eine weitgehende Ähnlichkeit im Kurvenverlauf von

Abb. 5. Titrationskurven der Blätter von *Nicotiana tabacum*.

Wurzeln, Stamm, Blüten und Blättern. Um nun zu beurteilen, inwieweit das Titrationsverhalten den Immuncharakter der Pflanze bestimmt, wurden gleichermaßen die Pufferkapazitäten und Titrationskurven für die Einzelblätter von *Nicotiana glutinosa* ermittelt. Für die Pufferung der Blätter wurde im Gegensatz zu *Nicotiana tabacum* eine außerordentliche Variabilität der Einzelblätter gefunden, wobei die unteren Blätter eine sehr starke, die oberen Blätter eine verminderte Pufferung

aufwiesen (Tabelle VIII). Inwieweit diese Veränderung in Beziehung zu einem abweichenden Verhalten im Immuncharakter der Einzelteile der Pflanzen zu setzen war, blieb zunächst noch ungeklärt. Es fand sich nämlich, daß die älteren, stark gepufferten Blätter keine oder doch nur langsam geringfügige, morphologisch unscharfe Läsionen ent-

wickelten, während die jungen oberen Blätter auf den Virusbefall schneller mit der Entwicklung der typischen Lokalnekrosen reagierten und nach einiger Zeit eine starke Vergrößerung der Läsionen unter

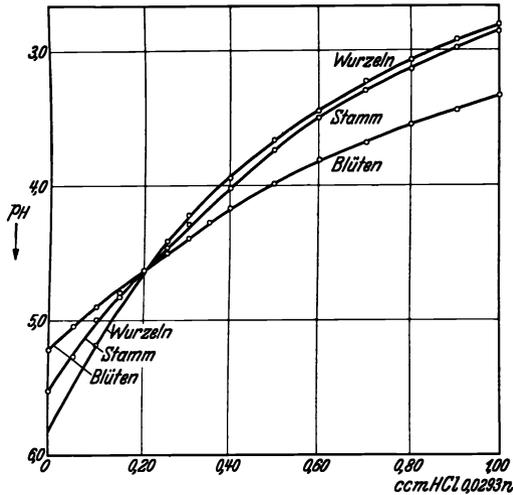


Abb. 6. Titrationskurven von Wurzel, Stamm und Blüten von *Nicotiana tabacum*.

Tabelle VIII. Pufferung der Blätter von *Nicotiana glutinosa*.

Blätter	$\frac{\Delta p_H}{0,1 \text{ ccm HCl}}$	$P$	$\frac{\Delta p_H}{0,1 \text{ ccm HCl}}$	$P$	$\frac{\Delta p_H}{0,1 \text{ ccm HCl}}$	$P$
	Untere Blätter ...	0,04	0,244	0,19	0,051	0,12
Mittlere Blätter ..	0,13	0,075	0,26	0,038	0,15	0,065
Obere Blätter ....	0,52	0,019	0,25	0,039	0,30	0,033
Spitzenblätter ....	0,57	0,017	0,60	0,016	0,53	0,018

Blätter	$\frac{\Delta p_H}{0,1 \text{ ccm HCl}}$	$P$	$\frac{\Delta p_H}{0,1 \text{ ccm HCl}}$	$P$
	Untere Blätter ...	0,19	0,051	0,06
Mittlere Blätter ..	0,40	0,024	0,19	0,051
Obere Blätter ....	0,52	0,019	0,48	0,020
Spitzenblätter ....	0,61	0,016	0,54	0,018

Ausbildung konzentrischer Umwallungsränder zeigten, die an die Erscheinungen bei *Nicotiana rustica* und *Nicotiana sylvestris* erinnerten (Abb. 7). Auffällig im Titrationsverhalten war die Ausbildung eines deutlichen Wendepunkts bei  $p_H$  5, der sowohl bei den alten wie bei den jungen Blättern, wenn auch hier etwas weniger stark, auftrat (Abb. 8).

Die Untersuchung der Titrationsverhältnisse wurde nun auf einen größeren Kreis lokalresistenter und anfälliger Pflanzen ausgedehnt.

Dabei konnte das Auftreten der typischen Wendepunkte auch bei den lokalresistenten Datura- und Phaseoluspflanzen beobachtet werden,

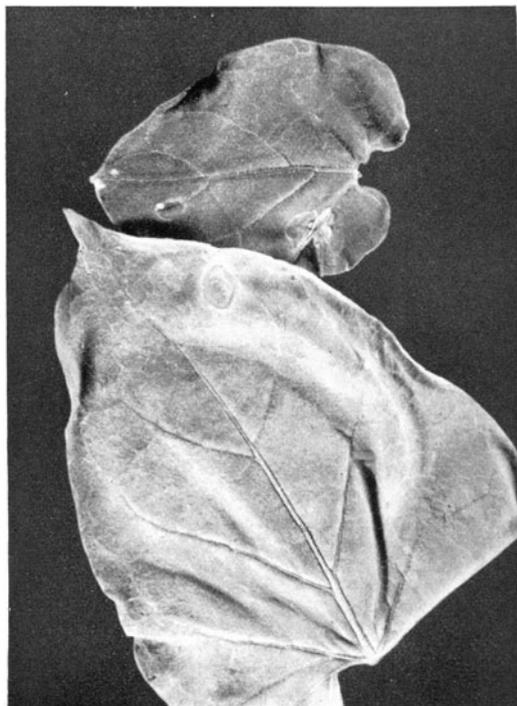


Abb. 7. Vergrößerte Lokalnekrosen bei *Nicotiana glutinosa*.

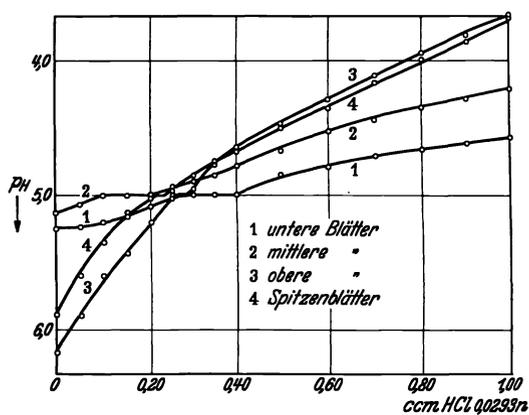


Abb. 8. Titrationskurven der Blätter von *Nicotiana glutinosa*.

während bei *Nicotiana rustica* (als Form mit systematischer Nekrose) der Wendepunkt weniger deutlich war (Abb. 9). Im Gegensatz zu diesen Pflanzen wurde bei der anfälligen Beta ein Kurvenverlauf ähnlich wie bei *Nicotiana tabacum* festgestellt; *Solanum lycopersicum* ergab bei besonders im physiologischen Bereich außerordentlich starker Puffe-

zung eine entsprechende Kurve, wobei gelegentlich beobachtete Abweichungen um  $p_H$  5 als atypisch erschienen (Abb. 10).

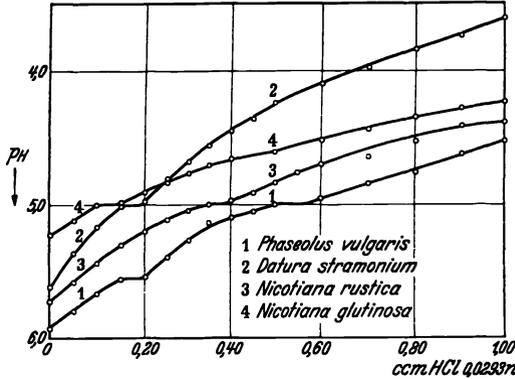


Abb. 9. Titrationskurven lokalresistenter Pflanzen und von *Nicotiana rustica*.

Nachdem das Titrationsverhalten der gesunden Pflanzen genügend bekannt war, wurden nunmehr die Unterschiede gegenüber dem Kurvenverlauf bei kranken Pflanzen ermittelt. Zum Vergleich wurden dabei Pflanzen von möglichst derselben Beschaffenheit und denselben Umweltbedingungen gewählt. Die Messungen an den kranken Pflanzen ergaben nicht — wie wegen der Azidität des Virus zu erwarten gewesen wäre — eine Ver-

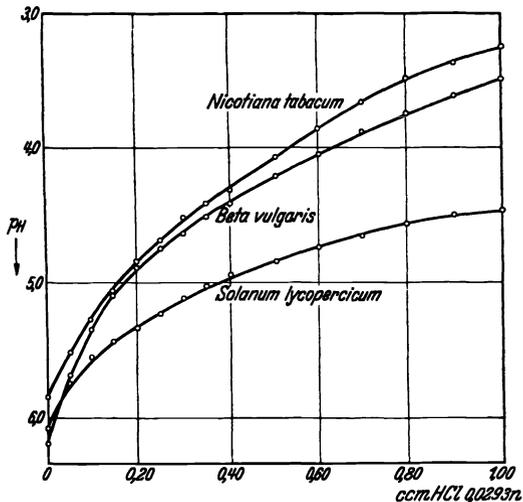


Abb. 10. Titrationskurven anfälliger Pflanzen.

schiebung der  $p_H$ -Werte nach dem sauren Bereich, sondern vielmehr zumeist eine leichte Alkalose, deren Ausmaß 0,15 bis 0,30 Einheiten betrug. Da die Einzelwerte innerhalb der Schwankungsbreite der Werte für verschiedene Pflanzen lagen, konnte die Verschiebung nur dann als sicher gelten, wenn gleichzeitig die Titrationskurven im sauren Bereich sich denen der gesunden wieder stärker annäherten, was in mehreren Fällen festgestellt wurde (Abb. 11).

Ferner erwiesen sich die kranken Blätter als stärker gepuffert; maximal wurde eine Steigerung auf 144 % beobachtet (Tabelle IX). Diese Verstärkung der Pufferung drückt sich in einem flacheren Verlauf der Titrationskurve aus, der besonders zwischen  $p_H$  3 und 4 deutlich ist und sich mit saureren Werten wieder dem der Kurven gesunder

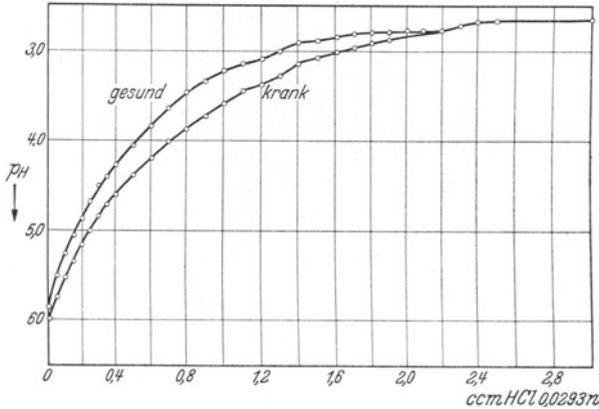


Abb. 11. Titrationskurven gesunder und kranker Blätter von *Nicotiana tabacum*.

Tabelle IX. Pufferung gesunder und kranker Blätter von *Nicotiana tabacum* und *Beta vulgaris*.

Blätter	$\Delta p_H/0,10 \text{ ccm HCl}$	Pufferung
<i>Nicotiana tabacum</i> , gesund ..	0,60	0,016
„ „ krank ...	0,43	0,023
<i>Beta vulgaris</i> , gesund .....	0,74	0,013
„ „ krank .....	0,62	0,016

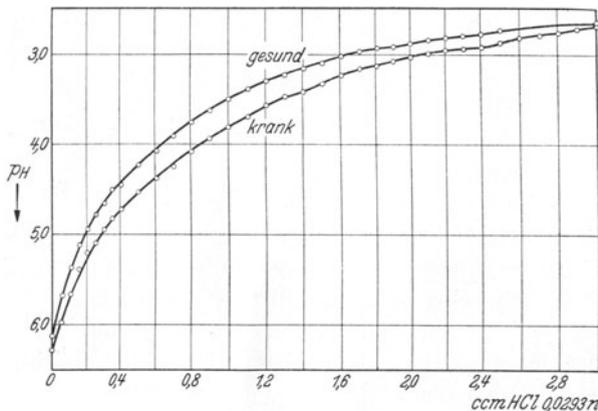


Abb. 12. Titrationskurven gesunder und kranker Blätter von *Beta vulgaris*.

Pflanzen angleicht. Das auffällige Ansteigen der Pufferung mit der Erkrankung und die Ausbildung der Maximalzone bei  $p_H$  3 bis 4 wurde sowohl bei *Nicotiana tabacum* wie bei *Beta vulgaris* (Abb. 12) gefunden und überschreitet — besonders bei den schon länger erkrankten Pflanzen — erheblich die aus der Streuung der gesunden Pflanzen sich ergebenden maximalen Normalwerte (Abb. 13).

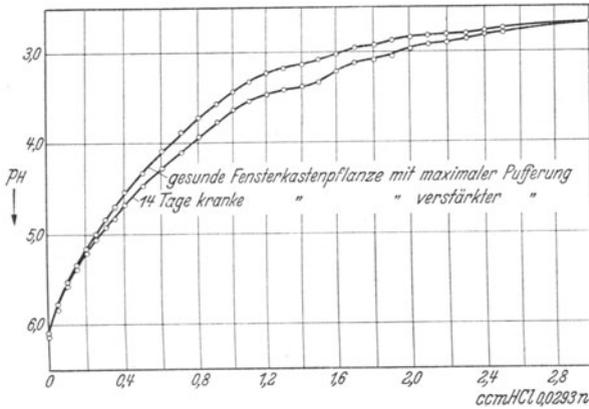


Abb. 13. Titrationskurven gesunder und kranker Blätter von *Nicotiana tabacum*.

Da der Wasserstoffionenkonzentration in den Einzelteilen der Pflanze keine Bedeutung für die Kinetik der Virusreaktion zugemessen werden konnte, mußte untersucht werden, welche Beziehungen sich zwischen Redoxpotential und Vermehrungsgeschwindigkeit ergaben, zumal da die Potentialmessungen bei den Virosen der Kartoffel für die chlorophyllfreien Knollen nur sehr spezielle und darum unvergleichbare Befunde gebracht hatten (28) (29) (30). Die Potentialmessungen an den Teilen von *Nicotiana tabacum* ergaben für alte gelbe Blätter eine sehr geringe Reduktionskraft, für Stamm, untere und mittlere Blätter eine mäßige, für Wurzeln und obere Blätter eine starke, und für Blüten eine außerordentlich starke, weit zum Potential der Wasserstoffelektrode verschobene Reduktionsintensität (Tabelle X). *Nicotiana glutinosa*

Tabelle X. Potentialwerte für die Einzelteile von *Nicotiana tabacum*.

Pflanzenteil	$E_h$ nach 400 Min.	$E_h$ nach 720 Min.
Untere Blätter .....	+ 134 Millivolt	+ 102 Millivolt
Mittlere Blätter .....	+ 137 „	+ 98 „
Obere Blätter .....	- 27 „	- 86 „
Alte gelbe Blätter .....	+ 200 „	+ 190 „
Wurzeln .....	- 18 „	- 89 „
Stamm .....	+ 144 „	+ 112 „
Blüten .....	- 108 „	- 275 „

zeigte auch im Preßsaft der unteren Blätter ein stark negatives Potential, ebenso *Datura stramonium* und *Nicotiana rustica*. Der Vergleich der Potentialwerte der gesunden Pflanzen führt zu der Annahme, daß die Virusbildung an das Auftreten starker negativer Potentiale gebunden ist. Die Beziehungen für die Blüten bleiben dabei unklar; der Vermehrungsgrad des Virus in den Blüten läßt sich nämlich kaum ermitteln, da die frühzeitig erkrankten Pflanzen keine Blüten hervorbringen, und die später infizierten sie zeitig verlieren.

Um die Beziehungen zwischen der Erkrankung und den Potentialen genauer bestimmen zu können, wurde der Potentialverlauf in den Preßsäften gesunder und kranker Pflanzen während 24 Stunden festgestellt. Die Messungen an morphologisch stark geschädigten mosaikkranken Bohnenpflanzen ergaben eine starke Verringerung der Reduktionskraft, während bei mosaikkranken Rüben- und Tabakblättern die Verschiebung des Endpotentials nicht so deutlich war (Tabelle XI). Im Gegensatz

Tabelle XI. Potentialwerte gesunder und kranker Pflanzen.

Pflanze	$E_h$ in Millivolt				$p_H$	Potentiale in $r_H$			
	Anfangspotentiale	nach 300 Min.	nach 500 Min.	Endpotentiale		Anfangspotentiale	nach 300 Min.	nach 500 Min.	Endpotentiale
Tabacum, gesund	+ 475	+ 68	+ 41	- 200	6,08	27,8	14,2	13,3	5,3
„ krank	+ 414	+ 80	+ 14	- 133	6,26	26,1	15,0	12,8	7,9
Beta, gesund ....	+ 336	+ 3	- 83	- 325	6,92	24,8	13,7	10,8	2,8
„ krank ....	+ 290	+ 51	- 146	- 258	6,80	23,0	15,1	8,6	4,8
Phaseolus, gesund	+ 381	+ 71	+ 45	- 119	6,06	24,6	14,3	13,4	8,0
„ krank	+ 372	+ 88	+ 76	+ 68	6,14	24,5	15,0	14,6	14,0

zu den gesunden Pflanzen ergaben sich jedoch hier deutliche Abweichungen in den einzelnen Abschnitten der Potentialbewegung. Die Anfangspotentiale der kranken Pflanzen waren um 20 bis 60 Millivolt erniedrigt, die Potentiale nach 300 Minuten lagen über denen der gesunden, nach 500 Minuten wiederum darunter, um nach 800 Minuten gleichmäßig über denen der gesunden zu bleiben. Da die Potentiale wegen des verschiedenen  $p_H$ -Wertes der gemessenen Systeme nicht unmittelbar verglichen werden konnten und die Potentialunterschiede auf der verschiedenen Azidität beruhen konnten, wurden die gemessenen Potentiale ( $E_h$ , bezogen auf die Normal-Wasserstoffelektrode) nach der Gleichung

$$E_0 = E_h + 0,0591 \cdot p_H$$

auf die Nullpotentiale reduziert und aus diesen die  $r_H$ -Werte nach der Formel

$$r_H = \frac{E_0}{0,03}$$

bestimmt (Tabelle XI). Der Vergleich dieser Werte zeigte jedoch eine ähnliche Verschiebung, woraus geschlossen werden kann, daß diese als typische Leistung des kranken Organismus zu gelten hat. Die Potentialkurven (Abb. 14 und 15) zeigen sowohl für *Nicotiana tabacum* wie für *Beta vulgaris* bei den kranken Pflanzen eine Erhöhung des horizontalen Wendepunkts der Kurve, der zu einem schnelleren, dabei

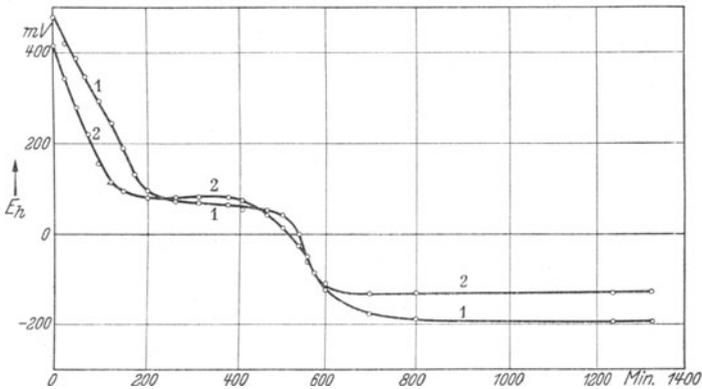


Abb. 14. Potentialkurven gesunder und kranker Blätter von *Nicotiana tabacum*.  
 Ansatz 1: 1 ccm geschleudertes Preßsaft gesunder Blätter + 1 ccm Puffer mit Redoxfarbstoffen,  $p_H = 6,08$ .  
 „ 2: 1 ccm geschleudertes Preßsaft kranker Blätter + 1 ccm Puffer mit Redoxfarbstoffen,  $p_H = 6,26$ .  
 Elektroden 30 Minuten mit Chromschwefelsäure oxydiert und gewässert.

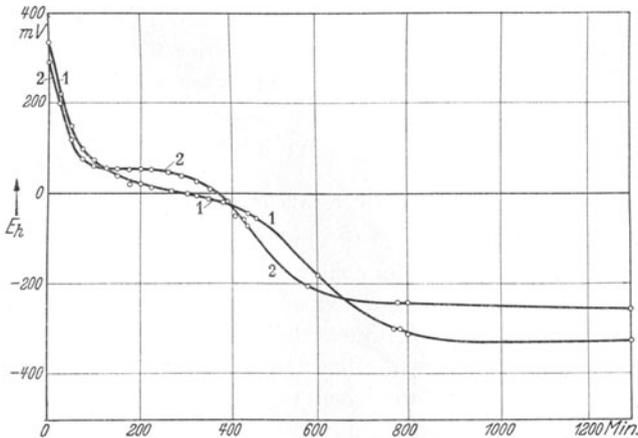


Abb. 15. Potentialkurven gesunder und kranker Blätter von *Beta vulgaris*.  
 Ansatz 1: 1 ccm geschleudertes Preßsaft gesunder Blätter + 1 ccm Puffer mit Redoxfarbstoffen,  $p_H = 6,02$ .  
 „ 2: 1 ccm geschleudertes Preßsaft kranker Blätter + 1 ccm Puffer mit Redoxfarbstoffen,  $p_H = 6,80$ .  
 Elektroden stark oxydiert und schwach kathodisch reduziert.

jedoch weniger intensiven Potentialabfall führt. Aus dem Vergleich der Kurven für zwei kranke Pflanzen der gleichen Art (Beta, Abb. 15 und 16) läßt sich weiter ableiten, daß weder das Ausmaß des Unterschieds im Endpotential gegenüber dem gesunder Pflanzen, noch die zeitliche Ordnung der Potentialwerte an den charakteristischen Punkten der Kurve als kritisches qualitatives Bestimmungsmerkmal für die Krank-

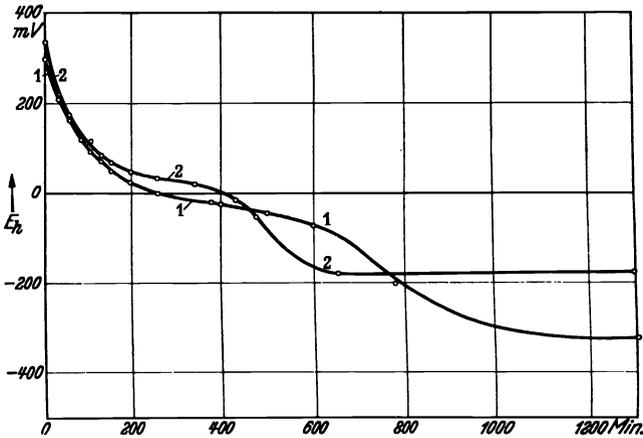


Abb. 16. Potentialkurven gesunder und kranker Blätter von *Beta vulgaris*.

Ansatz 1: 1 ccm geschleuderter Preßsaft gesunder Blätter + 1 ccm Puffer mit Redoxfarbstoffen,  $p_H = 6,97$ .

„ 2: 1 ccm geschleuderter Preßsaft kranker Blätter + 1 ccm Puffer mit Redoxfarbstoffen,  $p_H = 6,94$ .

Elektroden stark oxydiert und schwach kathodisch reduziert.

heit gewertet werden darf; lediglich die Größe der Potentialverlagerung und die Verkürzung des entsprechenden waagerechten Kurventeils gegenüber der gesunden Pflanze darf als kennzeichnend für die Erkrankung eines bestimmten Wirtes typisch gelten.

#### Besprechung der Ergebnisse.

Die für das Studium der Enzymkinetik fruchtbare Vorstellung vom Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die enzymatische Katalyse ergibt bei ihrer Übertragung auf die biologischen Verhältnisse, die sich im Symptom- und Immunverhalten der Pflanzen ausdrücken, keine eindeutige Abhängigkeit. Hingegen findet sich hier eine deutliche Beziehung zwischen der pflanzlichen Reaktion und dem Ausmaß der Pufferung in gewissen bevorzugten  $p_H$ -Bereichen, nämlich in der Nähe von  $p_H 5$ . Dabei erscheint die Pufferkapazität in dem etwas alkalischeren eigentlichen Arbeitspunkt der Pflanze in keiner so deutlichen Beziehung zu ihrem biologischen Verhalten zu stehen, vielmehr erliegt etwa die stark gepufferte *Nicotiana glutinosa* bei systematischer Virusaufnahme

(durch Pflropfung auf *Nicotiana tabacum* und Infizierung der Unterlage) dem Virusangriff unter Ausbildung einer totalen Nekrose rasch (7). Das Titrationsverhalten führt zu der Annahme, daß die Pufferung der lokalresistenten Pflanzen maßgeblich auf einem System, etwa dem Salz einer schwachen Säure, einer Aminosäure oder einem Eiweißkörper, beruht, dessen Puffermaximum bei  $p_H$  5 gelegen ist, und das die Wendepunkte in den Titrationskurven der Preßsäfte verursacht. Die Vermehrung des Virus auf Kosten dieses Systems könnte die Ausbildung der Lokalnekrosen bei örtlicher Infektion erklären.

Jedoch stehen einer solchen einfachen Deutung der Virusreaktion gewisse Schwierigkeiten im Wege: Da nämlich, verglichen mit den Verhältnissen bei den lokalresistenten Pflanzen der Vermehrungsgrad des Virus in den anfälligen Pflanzen ein größerer ist, die Pflanzen jedoch keine verstärkte Pufferung bei  $p_H$  5 zeigen, kann die Virusvermehrung nicht auf diesem System beruhen. Die Bestimmung des isoelektrischen Punktes der Virusproteine durch *Stanley* hatte nun Werte um  $p_H$  3,3 ergeben (25), und *Beale* hatte gezeigt, daß die Proteinkristalle durch Behandlung mit Ammonium- oder Magnesiumsulfat und Säure auch in der lebenden Zelle sichtbar gemacht werden können (26). Diese Tatsachen und das Titrationsverhalten der Preßsäfte mosaikkrankter Blätter, das eine Zone verstärkter Pufferung im stärker sauren Bereich bei  $p_H$  3 bis 4 anzeigt, machen wahrscheinlich, daß das Virus auch unter physiologischen Verhältnissen als freies Virusprotein oder doch zumindest in außerordentlich lockerem Gleichgewicht mit diesem vorliegt, d. h. daß dem isoelektrischen Punkt der Virusproteine auch eine physiologische Bedeutung zugesprochen werden muß. Wegen des Fehlens einer Azidose in der kranken Pflanze bzw. wegen der zuweilen gefundenen schwachen Alkalose muß also die Virusvermehrung entweder durch Umbildung eines sauren Proteins etwa vom isoelektrischen Punkt des Virusproteins oder aber durch einen Wechselprozeß mit alkalischeren Proteinen unter gleichzeitigem Verlauf von Regulationsvorgängen erfolgen, die — etwa durch Desamidierungen — die Reaktion der kranken Pflanze im physiologischen Bereich zu stabilisieren vermögen. Eine solche Wechselwirkung könnte das Auftreten von sekundären und unabhängigen toxischen Agenzien in viruskranken Pflanzen (31) erklären. Doch ist es wahrscheinlicher, daß die Bildung toxischer Agenzien mehr an Pflanzen mit typischer Nekroseneigung gebunden ist, weshalb für das klassische Virus eine Beziehung zwischen toxischem Agens und den spezifischen Systemen der lokalresistenten Pflanzen angenommen werden kann. Eine Sekundärreaktion des Virus mit diesen Systemen würde einerseits die geringe Nekroseneigung der stark gepufferten unteren Blätter von *Nicotiana glutinosa* und das geringe Vermehrungsausmaß des Virus in dieser Pflanze verständlich

machen und könnte andererseits die von Köhler (32) beim Virus der Akronekrose unter gewissen Umständen in Kartoffelfropfungen gefundene partielle Inaktivierung des Virus erklären.

Die Erörterung der stofflichen Grundlagen der Virusvermehrung ließ die Frage offen, vermittels welcher energetischen Faktoren der Aufbau der hochkomplexen Virusmolekeln zustande käme. Die Untersuchung der Potentialkurven brachte nunmehr den Nachweis, daß die virösen Pflanzen im Oxydations-Reduktionsvermögen Eigentümlichkeiten aufweisen, und daß außer der Größe des Endpotentials der Ver-

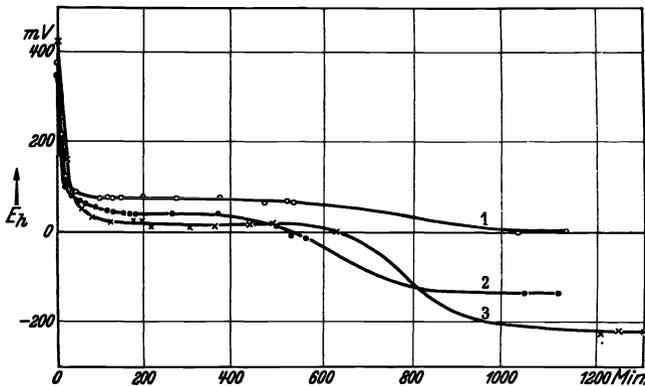


Abb. 17. Verschiedene Typen der Potentialkurven bei kranken Tabakpflanzen.

- Ansatz 1: 1 cem geschleuderter Preßsaft kranker Blätter + 1 cem Puffer mit Redoxfarbstoffen,  $p_{\text{H}} = 6,61$ .  
 „ 2: 1 cem geschleuderter Preßsaft kranker Blätter + 1 cem Puffer mit Redoxfarbstoffen,  $p_{\text{H}} = 6,85$ .  
 „ 3: 1 cem geschleuderter Preßsaft gesunder Blätter + 1 cem Puffer mit Redoxfarbstoffen,  $p_{\text{H}} = 6,71$ .

Elektroden oxydiert und stark kathodisch reduziert.

lagerung des Horizontalwendepunkts besondere Bedeutung zugemessen werden muß.

Diese Verlagerung kann auf die Bildung eines unter normalen Umständen nicht vorhandenen oder doch nicht wirksamen Redoxsystems zurückgeführt werden, dessen Beschwerung den geringen Potentialabfall im kritischen Bereich verursacht. Indem dieses System sich bedeutend über das der normalen Pflanze erhebt, müssen die Elektronen- bzw. Wasserstoffverschiebungen über dieses System erfolgen, d. h. das in der kranken Pflanze gebildete Redoxsystem lenkt die Reduktionsenergie der lebenden Zelle auf ein fremdes Substrat ab, von wo aus sie offenbar für die Virusbildung verwertet werden kann. Diese Annahme vermag auch die bei kranken Pflanzen bisweilen gefundene Erscheinung des Stehenbleibens der Potentialwerte (Abb. 17) zwanglos zu erklären.

Ist nämlich die Beschwerung des neu gebildeten spezifischen Krankheits-systems groß gegenüber der Reduktionskraft der negativeren Systeme, so vermögen diese die Elektrode nicht weiter zu reduzieren und die Potentialausbildung ist lediglich vom Reduktionszustand des ersten Systems abhängig.

Diese mögliche Verflechtungsweise der Stoff- und Energiegrundlagen muß durch weitere Versuche geprüft werden, in denen besonders die Bildung des toxischen Agens in den lokalresistenten Pflanzen und die Beziehung zu deren spezifischen Eiweißkörpern, ferner Eigenart und Wirkungsbedingungen der charakteristischen Redoxsysteme geklärt werden muß. Diese Aufgabe ist der folgenden Arbeit vorbehalten.

#### Zusammenfassung.

Aus den Untersuchungen an etwa 70 Pflanzen von *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana glutinosa*, *Nicotiana rustica*, *Datura stramonium*, *Solanum lycopersicum*, *Phaseolus vulgaris* und *Beta vulgaris* ergaben sich folgende Feststellungen:

1. Durch geeignete Verdünnungen lassen sich die Wasserstoffzahlen für die Einzelteile der Pflanze mittels der Chinhydronelektrode messen.

2. Die unmittelbare Messung anaerober Potentiale in rohen Preßsäften, Gewebebrei oder Blattschnitten grüner Pflanzenteile ergibt unvergleichbare Werte. Durch Ausschleudern lassen sich aus den Preßsäften störende Substanzen entfernen. In den geschleuderten Preßsäften können mittels einer Mikroelektrodevorrichtung bei Verwendung eines Röhrevoltmeters sinnvolle anaerobe Potentiale in Flüssigkeitsmengen von 0,5 ccm bestimmt werden.

3. Bei *Nicotiana tabacum* unterscheiden sich die Wasserstoffionenkonzentrationen im Preßsaft erwachsener Blätter einer Einzelpflanze voneinander nur wenig; die Schwankungsbreite beträgt maximal 0,5 Einheiten. Die Werte für verschiedene Pflanzen weichen bei ähnlicher Schwankungsbreite erheblich voneinander ab. Der maximale Unterschied sämtlicher erwachsener Einzelteile der gleichen Pflanze beträgt 0,9  $p_H$ . Unter optimalen Bedingungen gehaltene Pflanzen zeigen meist eine Polarität, bei der die alten gelben Blätter die sauersten, die Sproßspitzen die alkalischsten Werte erreichen.

4. Die mikroskopische Analyse mittels Indikatorfärbung ergibt bei *Nicotiana tabacum* für Xylem, Haare und Epidermis eine saurere, für Phloem, Rinde, Markstrahlen und Mark eine alkalischere Reaktion.

5. Pufferung und Titrationskurven sind für die Preßsäfte der Einzelblätter von *Nicotiana tabacum* nahezu identisch und unabhängig

von der Azidität des Blattes. Wurzeln, Stamm und Blüten haben eine etwas abweichende Pufferung bei einem ähnlichen Verlauf der Titrationskurven. Der gleiche Kurventyp wurde für *Solanum lycopersicum* und *Beta vulgaris* gefunden. Er ist charakteristisch für die virusanfälligen Pflanzen.

6. Pufferung und Titrationskurven sind für die einzelnen Blätter von *Nicotiana glutinosa* verschieden, ergeben jedoch ein Gebiet stärkerer Pufferung bei  $p_H$  5. Gleichmaßen verhalten sich *Datura stramonium*, *Phaseolus vulgaris* und *Nicotiana rustica*. Dieses Verhalten ist bezeichnend für die lokalresistenten Pflanzen und für die mit systematischer Nekrose.

7. Kranke Pflanzen von *Nicotiana tabacum* und *Beta vulgaris* zeigen akute Alkalose, verstärkte Pufferung und ein verändertes Titrationsbild. Das Gebiet verstärkter Pufferung zwischen  $p_H$  3 und 4 wird auf die Bildung der Virussubstanz zurückgeführt.

8. Die Potentialmessungen an *Nicotiana tabacum* ergeben für alte gelbe Blätter eine geringe, für Stamm, untere und mittlere Blätter eine mäßige, für Wurzeln und obere Blätter eine starke und für Blüten eine sehr starke Reduktionsintensität.

9. Das Endpotential viruskranker Blätter von *Phaseolus vulgaris*, *Beta vulgaris* und *Nicotiana tabacum* ist positiver als das der gesunden Blätter. Der Kurvenverlauf für kranke, jedoch morphologisch nicht geschädigte Blätter von *Nicotiana tabacum* und *Beta vulgaris* deutet auf die Wirksamkeit eines in gesunden Pflanzen nicht auftretenden beschwerenden Systems von positiverem Potentialbereich.

Der Jahrhundertspende der Sächsischen Technischen Hochschule danke ich für ein Stipendium, das mir für die Dauer der Untersuchungen gewährt wurde, und das die Herstellung der Geräte, sowie die Beschaffung der Reagenzien ermöglichte.

#### Literatur.

- 1) *B. M. Duggar* u. *J. L. Karrer*, Ann. Missouri Bot. Gard. 8, 343, 1921. — 2) *J. G. Waugh* u. *C. G. Vinson*, Phytopathology 22, 29, 1932. — 3) *H. Bechhold* u. *M. Schlesinger*, Phytopath. Zeitschr. 6, 627, 1934. — 4) *Fr. O. Holmes*, Phytopathology 26, 896, 1936. — 5) *Th. J. Grant*, ebenda 24, 311, 1934. — 6) *J. Grainger* u. *R. M. Heafford*, Proc. Leeds Philos. Soc. 2, 406, 1933. — 7) *Fr. O. Holmes*, Contrib. Boyce Thompson Inst. 4, 323, 1932. — 8) *J. Grainger*, Nature, London, 137, 31, 1936. — 9) *B. Goldstein*, Bull. Torrey Bot. Club 51, 261, 1924; 53, 499, 1926. — 10) *Fr. O. Holmes*, Contrib. Boyce Thompson Inst. 2, 563, 1930. — 11) *L. O. Kunkel*, Phytopathology 24, 437, 1934. — 12) *T. Matsumoto* u. *K. Somazawa*, J. Soc. Trop. Agric. 2, 223, 1930; II. 4, 161, 1932; III. 5, 37, 1933; IV. 6, 671, 1934. —

- 13) *L. G. Livingston* u. *B. M. Duggar*, Biol. Bull. **67**, 504, 1934. — 14) *Fr. O. Holmes*, Contrib. Boyce Thompson Inst. **4**, 297, 1932. — 15) *K. S. Chester*, Phytopathology **25**, 702, 1935. — 16) *Derselbe*, Science, N. Y. **81**, 1935. — 17) *Derselbe*, Phytopathology **26**, 715, 1936. — 18) *Derselbe*, Bot. Gaz. **87**, 56, 1929. — 19) *P. K. Olitsky* u. *F. C. Forsbeck*, Science, N. Y. **74**, 483, 1931. — 20) *E. H. Johnson*, Phytopathology **25**, 1035, 1935. — 21) *G. Samuel* u. *J. G. Bald*, Ann. Appl. Biol. **20**, 70, 1933. — 22) *W. J. Youden*, *H. P. Beale* u. *J. D. Guthrie*, Contrib. Boyce Thompson Inst. **7**, 37, 1935. — 23) *T. Fukushi*, Jap. J. Bot. **6**, 381, 1933. — 24) *A. W. Petre*, Contrib. Boyce Thompson Inst. **7**, 19, 1935. — 25) *W. M. Stanley*, Am. J. Bot. **24**, 59, 1937. — 26) *H. P. Beale*, Contrib. Boyce Thompson Inst. **8**, 413, 1937. — 27) *Fr. O. Holmes*, Phytopathology **24**, 1125, 1934. — 28) *H. Wartenberg* u. *G. Lindau*, Phytopath. Zeitschr. **9**, 297, 1936. — 29) *E. Köhler* u. *A. Hey*, Centralbl. f. Bakt., Abt. II, **91**, 256, 1935. — 30) *H. Wartenberg* u. *A. Hey*, Planta **25**, 258, 1936. — 31) *H. R. Kraybill*, *P. H. Brewer*, *R. W. Samson* u. *M. W. Gardner*, Phytopathology **22**, 629, 1932. — 32) *E. Köhler*, Angew. Bot. **19**, 158, 1937.
-