

Untersuchungen über die Wirkung von Kinetin auf Kallus und Tumoren bei Organkulturen von *Nicotiana glauca*, *N. langsdorffii* und deren amphidiploiden Bastard¹

Durch die genetischen Untersuchungen von KOSTOFF², HITIER und IZARD³, KEHR und SMITH⁴, NÄF⁵ und SMITH und STEVENSON⁶ an *Nicotiana*-Arten sind eine Reihe von *Nicotiana*-Bastarden bekannt geworden, die aufgrund ihrer genetischen Konstitution Tumoren bilden. Zu diesen Tumorbildnern gehört auch der amphidiploide Bastard von *Nicotiana glauca* und *N. langsdorffii* ($4n = 24 + 18 = 42$). An ihm konnte gezeigt werden, dass sich seine Fähigkeit, Tumoren zu bilden, vorwiegend auf eine von *N. glauca* vererbte, starke kallusbildende Potenz zurückführen lässt⁷. Die Tumorbildung tritt gewöhnlich nur in wachstumsaktiven Geweben nach Gewebespannungen und -zerreibungen auf, sie kann aber auch nach Verwundung induziert werden.

Nachdem nun im Verlaufe der letzten Jahre deutlich geworden ist, dass die Entstehung pflanzlicher Tumoren unter anderem auf einer Disharmonie von wenigstens 2 Wuchsstoffen, den Indolwuchsstoffen und den Kininen beruht⁸, wurde in der vorliegenden Arbeit geprüft, wie sich eine Verabreichung von Kinetin (6-Furfurylamino-purin, eine den natürlichen Kininen analoge Verbindung) auf Wundgewebe des Bastards und dessen Herkunftsarten *N. glauca* und *N. langsdorffii* auswirkt. Hierfür sind die Wundflächen abgeschnittener Blätter, die in Organkultur genommen werden (vgl. Technik zur Legende der Figur 1) ein geeignetes Testobjekt. Um die Reaktionen exakt vergleichbar zu machen, wurden physiologisch gleichwertige Blätter jeweils 15 Tage nach dem Abschneiden untersucht.

Zu diesem Zeitpunkt hat der Bastard an der Schnittstelle bereits Tumoren entwickelt (Figur 1a, Kontrollblatt; Figur 2, oben Mitte). *N. glauca* zeigt zum gleichen Zeitpunkt nur eine relativ starke Kallusbildung (Figur 1b, Kontrollblatt; Figur 2, unten links). Demgegenüber weist

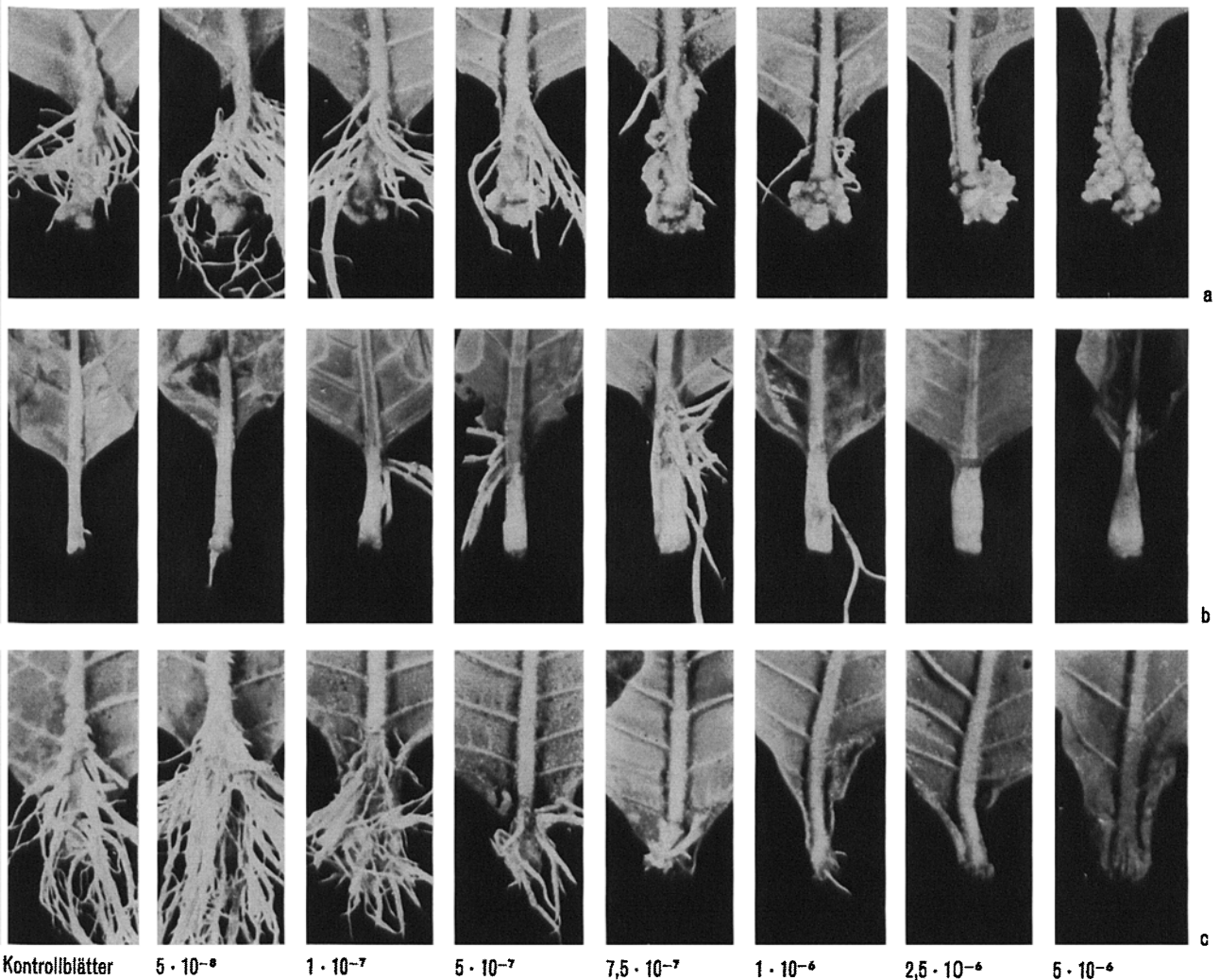


Fig. 1. Vergleich der Reaktionen an den Stielen und Stielschnittstellen bei isoliert kultivierten Blättern, a) von *N. glauca* × *N. langsdorffii* (amphidiploid), b) von *N. glauca* und c) von *N. langsdorffii* (etwa $\times 0,5$). Technik der Organkultur: Nahezu ausgewachsene Blätter weitgehend gleichen Entwicklungszustandes von nichtblühenden Gewächshauspflanzen in 0,1%igem Nipaginbad desinfiziert. Anschliessend Stiele mit $4 \cdot 10^{-6}$ %iger Indolyl-3-Buttersäurelösung 24 h bei 18–22°C behandelt. Sodann Stiele der Blätter von 7 Gruppen in Kinetinlösungen obiger Konzentrationen getaucht und dort weitere 24 h bei gleicher Temperatur belassen. Entsprechende Behandlung der Kontrollen mit Leitungswasser. Kultursubstrat: Steriler Sand



Fig. 2. Vergleich der Reaktionen an den Stielschnittstellen bei isoliert kultivierten Kontrollblättern, von *N. glauca* × *N. langsdorffii* (amphidiploid) (oben Mitte), von *N. glauca* (unten links) und von *N. langsdorffii* (unten rechts). Vergrößerung × 4,5. Technik der Organkultur wie in Legende zur Figur 1.

N. langsdorffii lediglich spärliche Wundverschlüsse der einzelnen Blattgefäße auf (Figur 2, unten rechts), die allerdings zumeist durch die starke Bewurzelung verdeckt werden (Figur 1c, Kontrollblatt). *N. glauca* schliesst sich also in seiner Reaktion dem Bastard wesentlich stärker als *N. langsdorffii* an.

Bei den mit Kinetin behandelten Blattstielen wird dieses Ergebnis in folgender Weise modifiziert: Beim Bastard wird die Tumorentwicklung durch die Kinetinbehandlung im allgemeinen proportional zur Konzentration verstärkt (Figur 1a). Darüberhinaus treten bei einer Konzentration von $7,5 \cdot 10^{-7}$ und höher auch Tumorbildungen an den unverletzten Teilen des Blattstieles auf, und zwar bevorzugt an den Stellen, an denen sich die untersten Ränder der Lamina als schmale Bänder am Stiel entlangziehen (Figur 3a).

N. glauca, die bereits bei den unbehandelten Blättern eine relativ starke Kallusbildung zeigt, schliesst sich auch nach Kinetinbehandlung in ihrer Reaktion dem Bastard an, denn auch hier wird die Kallusbildung proportional zur Konzentration deutlich gefördert (Figur 1b). Dabei ist besonders bemerkenswert, dass hier bei den höheren Konzentrationen in dem ganzen Bereich, in dem der Blattstiel mit Kinetin in Berührung gekommen ist, zusätzliche Wucherungen auftreten. Diese sind am basalen Ende stärker als am spreitennahen Stielabschnitt. Da die untersten kallusartigen Zellmassen mit dem Wundkallus der Schnittfläche verschmelzen, erhalten die Stiele das Aussehen einer sich apikal verdickenden Keule (Figur 3b).

N. langsdorffii (Figur 1c) ist dagegen nicht befähigt, in dieser Weise auf Kinetin zu reagieren. Zwar findet hier im allgemeinen auch mit steigender Kinetinkonzentration eine Verstärkung der normalen Reaktion statt, doch stellt sich diese zumeist nur als ein etwas stärkerer Verschluss der Leitgefäße in Form einer sehr dünnen Schicht eines glasig-schaumigen, fast durchsichtigen Gewebes dar. Die am Blattstiel herablaufenden Ränder der Blattlamina erhalten das gleiche Aussehen; diese Erscheinungen sind aber niemals so ausgeprägt, als dass die Laminaränder nicht mehr sofort als solche zu erkennen wären (Figur 1c)⁹.

Es hat sich also gezeigt, dass nur der Bastard und in etwas abgeschwächtem Masse auch *N. glauca* auf die

Kinetinapplikation ansprechen. Die Reaktion von *N. langsdorffii* ist hingegen so geringfügig, dass ihr keine Bedeutung beigemessen werden kann. Dabei werden nur die typischen Reaktionen, die schon am unbehandelten Gewebe auftreten, mehr oder weniger intensiv verstärkt. Dieses Ergebnis stützt den früheren Befund, dass die Tumorbildung des Bastards genetisch mit der Kallusbildung von *N. glauca* zusammenhängt und möglicherweise überhaupt nur eine Form übersteigerter Kallusbildung darstellt. Ausserdem zeigen diese Feststellungen erneut, dass die Tumorbildung des untersuchten Bastards wahrscheinlich vorwiegend auf Kallus-Genen von *N. glauca* beruht. Dass es solche Erbfaktoren geben muss,

¹ Den Herren Prof. Dr. G. DE LATTIN (Zoologisches Institut der Universität des Saarlandes) und Prof. Dr. F. ANDERS (Genetisches Institut der Justus Liebig-Universität, Giessen) bin ich für die Förderung dieser Arbeit zu grösstem Dank verpflichtet.

² D. KOSTOFF, Zentbl. Bakt. Parasitkde 87, 244 (1930).

³ H. HITIER und C. IZARD, C. r. hebdom. Séanc. Acad. Sci., Paris 232, 877 (1951).

⁴ A. E. KEHR und H. H. SMITH, Brookhaven Symp. Biol. 6, 55 (1954).

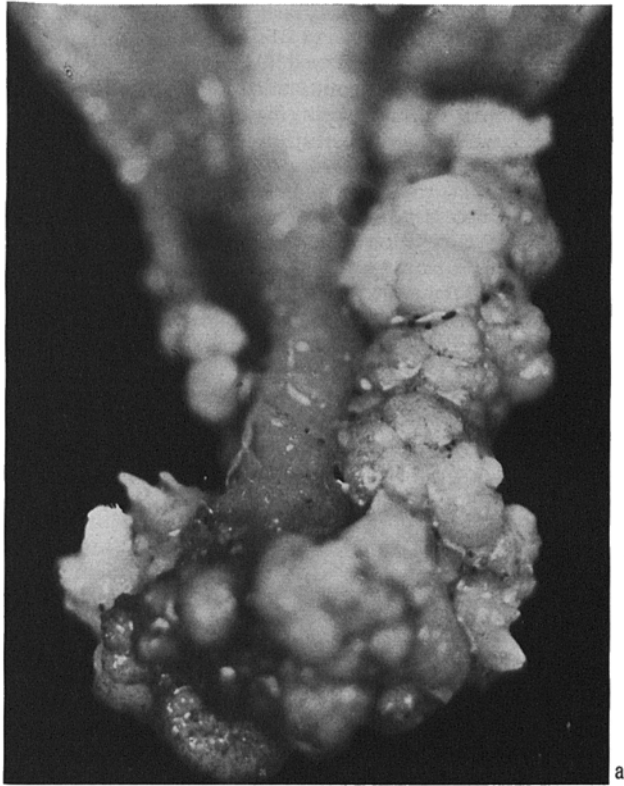
⁵ U. NÄF, Growth 22, 167 (1958).

⁶ H. H. SMITH und H. Q. STEVENSON, Z. VererbLehre 92, 100 (1961).

⁷ E. STEITZ, Experientia 21, 647 (1965).

⁸ F. SKOOG und C. O. MILLER, Soc. Exp. Biol. Symp. 11, 118 (1957). – K. PATAU, N. K. DAS und F. SKOOG, Physiologia Pl. 10, 949 (1957). – A. C. BRAUN und T. STONIER, Protoplasmatologia 10, 1–93 (1958). – H. N. WOOD und A. C. BRAUN, Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A. 47, 1907 (1961). – A. C. BRAUN und H. N. WOOD, Cancer Res. 6, 81 (1961); Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A. 48, 1776 (1962). – K. PATAU und N. K. DAS, Chromosoma 11, 553 (1961). – G. W. SCHAEFFER, Nature 196, 1326 (1962). – G. W. SCHAEFFER und H. H. SMITH, Plant Physiol., Lancaster 38, 291 (1963). – G. W. SCHAEFFER, H. H. SMITH und M. P. PERKUS, Am. J. Bot. 50, 766 (1963). – G. L. HAGEN, Proc. 10th Int. Bot. Congr. 1, 378 (1964). – M. R. AHUJA und G. L. HAGEN, Genetics, Princeton 50, 231 (1964).

⁹ Der bei diesen Untersuchungen gleichzeitig zu beobachtende Einfluss des Kinetins auf die Wurzelbildung wird später in einer ausführlichen Publikation beschrieben.



a



c

Fig. 3. Vergleich der Reaktionen an den Stielen und Stielschnittstellen bei isoliert kultivierten Blättern, a) von *N. glauca* \times *N. langsdorffii* (amphidiploid) (Vergrößerung $\times 4,5$), b) *N. glauca* (Vergrößerung $\times 4,5$) und c) *N. langsdorffii* (Vergrößerung $\times 4,5$) nach Behandlung mit Kinetin (Konzentration $2,5 \cdot 10^{-6}$). Technik der Organkultur wie in Legende zur Figur 1.



b

Minderung der Genaktivität könnte das Genom von *N. langsdorffii* beitragen, denn diese Spezies zeigt in der reinen Art nur eine ganz unbedeutende Potenz zur Kallusbildung; ihr dürften demgemäß diese Repressionsgene weitgehend fehlen. Es scheinen hier also grundsätzlich ähnliche Verhältnisse vorzuliegen, wie sie bei den bekannten Melanomen der *Platyopocilus-Xiphophorus*-Bastarde im Tierreich nachgewiesen wurden¹¹.

Summary. In leaf cultures of *Nicotiana glauca*, *N. langsdorffii*, and their amphidiploid hybrid, callus growth or tumor formation is enhanced by kinetin, depending on its concentration. Of the 2 species and their hybrid, maximum response was found in the hybrid, less in *N. glauca*, the slightest response being found in *N. langsdorffii*. These facts confirm the earlier finding of a connection between callus-forming potency in *N. glauca* and tumor formation in its hybrid.

E. STEITZ

Zoologisches Institut der Universität des Saarlandes, Saarbrücken (Deutschland), 20. Oktober 1966.

beweisen die Untersuchungen von AHUJA¹⁰. Da diese Gene im Bastard gegenüber *N. glauca* offensichtlich eine wesentlich stärkere Aktivität entfalten, wird vermutet, dass diese in der unvermischten Art in irgendeiner Weise reprimiert werden und dass diese Repression beim Bastard aufgehoben oder wenigstens gemindert wird. Zu dieser

¹⁰ M. R. AHUJA, Ph.D. Thesis, University of California, Berkeley (1961); Genetics, Princeton 47, 865 (1962); Proc. 11th Int. Congr. Genet. 7, 118 (1963).

¹¹ F. ANDERS und K. KLINKE, Z. VererbLehre 96, 49 (1965); Verh. Deutsch. Zool. Ges. in Göttingen (1966), im Druck. — E. STEITZ und F. ANDERS, Verh. Deutsch. Zool. Ges. in Göttingen (1966), im Druck.