

Rückkreuzungen in bezug auf Qualität eine bedeutend bessere Püree als die Standardsorten.

4. Die auf dieser Weise aus Rückkreuzungen erhaltenen F_1 können in verschiedenen Richtungen große praktische Bedeutung haben. Sie können zuerst für Zubereitung von hochqualitativer Tomatenpüree mit großen Vorzügen über den bis jetzt bekannten Tomatensorten verwendet werden; sie können weiter mit Erfolg auch bei dem Frühtomatenanbau Verwendung finden

und zuletzt auch besonders für Zubereitung von geschmackvollem Tomatensaft.

Die Erzeugung von größeren Mengen Kreuzungssaatgut aus diesen Rückkreuzungen ist eine verhältnismäßig leichte Aufgabe, wie wir das im Institut Plowdiw nachgewiesen haben.

Literatur.

1. DASKALOFF, CHR.: Gartenbauwiss. 11, H. 2 (1938). — 2. DASKALOFF, CHR.: Züchter 1942, H. 5.
- 3. HACKBARTH, J.: Gartenbauwiss. 15, H. 1 (1940).

Versuche zur Züchtung einer giftfreien Ricinussorte.

Von **Otto Knapp**,

In jüngster Zeit nimmt die Ricinusanzaufläche in Europa ständig an Ausdehnung zu. Dies läßt die Frage nach einer möglichst rationalen Verwertung der Rückstände, die bei der Gewinnung des Ricinusöls verbleiben, an Bedeutung zunehmen.

Extrahiertes Ricinusschrot ebenso wie die Preßkuchen werden in Britisch-Indien, dem Hauptproduktionsgebiet von Ricinussaat, als Düngemittel in den Tee- und Zuckerrohrkulturen benutzt (1, 362). Die indischen Preßkuchen enthalten etwa 6% Stickstoff, etwa 2,5% Phosphorsäure und etwa 1% Kali. Auch in der Umgebung von Marseille, das der bedeutendste Platz für die Einfuhr und Verarbeitung von Ricinussaat in Frankreich ist, fand das extrahierte Ricinusschrot zur Düngung von Frühgemüsekulturen Verwendung (2, 35).

Trotz seines hohen Futterwertes — Ricinusschrot enthält etwa 30—40% Rohprotein und etwa 15% stickstofffreie Extraktstoffe — kann es nicht direkt als Futtermittel verwendet werden, da es das hochgiftige *Ricin* enthält. *Ricin* ist ein *toxisches Protein mit Albumincharakter*. Es ist ein typisches Toxin mit *enormer Giftwirkung* (3). Nach EHRILCH (1891, 4) tödet 1 g Ricin $1\frac{1}{2}$ Millionen Meerschweinchen. Bei Fütterung von Ricinussamen beträgt nach MIESSNER (4) die Todesdosis

Tabelle 1.

Je kg	Ricin g	Je kg	Ricin g
Huhn . . .	14,0	Kalb . .	0,5
Ente . . .	4,0	Gans . .	0,4
Kuh . . .	2,0	Pferd . .	0,1
Schwein .	1,3—1,4		

Die Wirkung des Ricins auf den Tierkörper beruht auf einer Lähmung des vasomotorischen Zentrums, Blutdrucksenkung und Darmaffekt-

tionen. Bei Menschen wurde als Folgen von akuter Vergiftung mit drei Ricinussamen Verdauungsstörungen, cardiovasculäre und Nierenschädigungen beobachtet, ferner Albuminurie und Hyperacotämie (5).

Neben seinen toxischen Eigenschaften besitzt das Ricin auch eine sehr intensive Agglutinationsfähigkeit gegenüber den roten Blutkörperchen. Nach JAKOBY (4) ist diese Einwirkung auf die roten Blutkörperchen bei den einzelnen Tierarten sehr verschieden:

Tabelle 2.

Tierart	Verdünnung
Meerschweinchenblut	10 000 000
Hundeblut	4 000 000
Menschenblut	2 000 000
Katzenblut	2 000 000
Kaninchenblut	2 000 000
Schweineblut	1 000 000
Hammelblut	400 000
Rinderblut	400 000

Eine Trennung von Toxin und Agglutinin konnte bisher nicht erreicht werden. MORYAMA (3) kam vielmehr zu dem Schluß, daß „*toxische und hämagglutinierende Eigenschaften zwei Charaktere desselben Ricinproteins sind*“.

Von besonderem wissenschaftlichem aber auch praktischem Interesse ist die Fähigkeit des Ricins, im Blut ein „*Antiricin*“ zu entwickeln, d.h. man kann Tiere durch langsam steigende Gaben von Ricin bzw. Fütterung mit Ricinusschrot allmählich gegen die Wirkung des Ricins immunisieren. Es bildet sich dann im Blut das sogenannte „*Antiricin*“, ein Serum, das auch gleichzeitig ein „*Antiagglutinin*“ enthält.

Ricin ist nicht löslich in Öl. Ricinusöl enthält demnach auch kein Gift. Es löst sich dagegen, seinem Albumincharakter entsprechend, in physiologischer Kochsalzlösung.

Versuche, die darauf abzielen, durch Entgiftung des Ricinusschrotes ein wertvolles Eiweißfuttermittel zu gewinnen, sind mehrfach unternommen worden. Auf Grund der Löslichkeit des Ricins in Salzlösungen schlug NAGEL (6) vor, das Ricinusschrot 6—8 Stunden mit einer 6—7fachen Menge einer 10%igen Kochsalzlösung zu extrahieren. Dieses so entgiftete Ricinusschrot soll jedoch Verstopfungen hervorrufen.

Über die Entgiftung von Ricinusschrot durch Erhitzen liegen sich widersprechende Angaben vor. TRIVELLONI (7) berichtet über Versuche, bei denen Ricinuskuchen $1\frac{1}{2}$ Stunden lang auf 112° erhitzt wurden. MOOSER (8) behauptet dagegen, daß Ricin durch feuchte Hitze von 90° und trockene Hitze von 130° , wie MIESSNER (9) vorschlägt, seine Giftigkeit nicht verliert. Andererseits konnte H. FANGL (10) durch Erhitzen

von JAKOBY (4) ließ sich Ricin in 21 untersuchten Arten und Varietäten von Ricinus nachweisen. JAKOBY fand ebenso wie dies B. ATZORI (12) bei Untersuchungen über die Lokalisation des Ricins im Ricinussamen an acht verschiedenen Varietäten feststellte, im Gegensatz zu anderen Mitteilungen (2, 34), daß die Samenschalen von Ricinus ungiftig sind. Das Gift befindet sich vielmehr ausschließlich im Eiweißkörper des Samens.

An einer größeren Anzahl von eigenen Untersuchungen, die in den Jahren 1937—1940 an der Pflanzenzuchtstation der Firma Mauthner Ödön r. t. in Felsöreg durchgeführt wurden, sollte die Frage, ob es ricinfreie Formen gibt, einer eingehenderen Prüfung unterzogen werden.

Die Versuche wurden mit der Agglutinationsmethode durchgeführt. Verwendet wurden gewaschene rote Blutkörperchen teils vom Rind, teils vom Schwein. Das Ricin wurde durch physiologische Kochsalzlösung in Lösung gebracht.

Zunächst sollte ein Vorversuch über die Lokalisation des Ricins und seine Löslichkeitsverhältnisse Aufschluß geben. Hierzu wurde 1. ein ganzes Ricinuskorn, 2. ein zerquetschtes Ricinuskorn, 3. fein zerkleinerte, gefeilte Ricinusschalen, 4. ein ganzer Ricinuskern, 5. ein zerquetschter Kern, 6. ein ganzes Korn, dessen äußere

Schale etwas abgeschabt war, 7. ein Korn, dessen Schale etwas geplatzt war, 8. ein Korn mit abgebrochener Caruncula, 9. extrahierte Ricinusmehl in 10 ccm physiologische Kochsalzlösung gegeben. Nach 1 Stunde wurden 2 Tropfen gewaschene Blutkörperchen zugesetzt. In Bestätigung der Befunde von ATZORI (12) und der Angaben von JAKOBY (4) ergab sich, daß die Samenschale kein Ricin enthält, eine Agglutination trat hiermit nicht ein. Negative Reaktion zeigten ferner das ganze Korn sowie das abgeschabte und das geplatzte Korn; hierbei war das Ricin nicht in Lösung gegangen. Schwache Agglutination trat beim ganzen Kern in Erscheinung, während beim zerquetschten Kern ebenso wie beim zerquetschten Korn sehr starke Agglutination erfolgte (Abb. 1). Nach längerem Stehen erfolgte bei diesen beiden Proben Hämolyse. — Dieser Versuch wurde in zwei Vergleichsserien angestellt, die eine wurde mit Körnern von *Ricinus sanguineus*, die andere

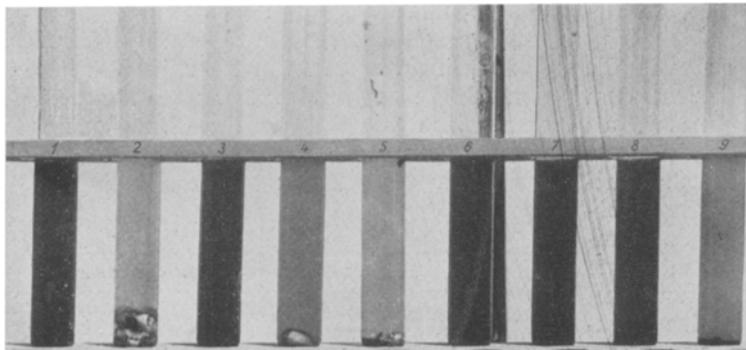


Abb. 1. Agglutinations-Erscheinungen beim Vorversuch.

von Ricinusschrot auf 140° während 60—90 Minuten ein Futtermittel erzielen, das bei einem Gehalt von 35,5% Rohprotein, 5% Fett und 20,8% Rohfaser ohne Schädigungen an Schafe verfüttert werden konnte. Nach JÁKI (11) wurde am ungarischen staatlichen Ricinusölbetrieb in Budapest eine eigene Methode zur fabrikationsmäßigen Entgiftung von Ricinusschrot ausgearbeitet, mit der in den Jahren 1939 und 1940 2000 t giftfreien Schrotes erzeugt worden sind.

Die Schwierigkeiten, die sich bei der Verwertung des Ricinusschrotes mit Rücksicht auf die hohe Giftigkeit des darin enthaltenen Ricins ergeben, legten die Frage nahe, ob nicht die Möglichkeit besteht, auf züchterischem Wege eine Ricinussorte zu schaffen, die ricinfrei ist oder wenigstens nur noch so viel Giftstoff enthält, daß größere Mengen unbehandelten Ricinusschrotes ohne wesentliche Schädigungen an Tiere verfüttert werden können. Nach Angaben

Tabelle 3.

Ricinlösung % oo	sofort nach Zusatz von roten Blutkörperchen	Beobachtungen	
		nach 2 Stunden	nach 10 Stunden
1,1	4 (Agglutination)	5 (Hämolyse)	Hämolyse
0,22	4 (Agglutination)	5 (Hämolyse)	Hämolyse
0,022	keine Reaktion	4 (Hämolyse)	Hämolyse
0,0165	keine Reaktion	2 (Agglutination)	3 (Agglutination)
0,0110	keine Reaktion	1 (Agglutination)	2 (Agglutination)
0,0055	keine Reaktion	0—1 (Agglutination)	1 (Agglutination)
0,0022	keine Reaktion	keine Reaktion	0—1 (Agglutination)
0,00022	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion
reine 0,9 % NaCl-Lösg.	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion

Anmerkung: 1 = sehr schwache, feinkörnige Agglutination; 2 = schwache, ziemlich feinkörnige Agglutination; 3 = mittelstarke, ziemlich grobflockige Agglutination; 4 = starke, grobflockige Agglutination; 5 = sehr starke, grobflockige Agglutination.

mit solchen von *Ric. comm. var. minor* durchgeführt. Die einzelnen Vergleichsproben der beiden Sorten zeigten vollkommene Übereinstimmung.

Auf Grund dieser Ergebnisse wurde in den folgenden Jahren ein möglichst großer Teil des vorhandenen Ricinus-Elitematerials auf seinen Ricingehalt mit Hilfe der Agglutinationsmethode qualitativ untersucht. Im ersten Jahre gelangte je Einzelpflanze je 1 Korn zur Untersuchung, im zweiten Jahr anfänglich ebenfalls 1 Korn, später je Elite 2 Körner — jedes Korn getrennt — zur Kontrolle. In den folgenden Jahren 1939 und 1940 wurden die Untersuchungen in derselben Weise weitergeführt.

Das zur Untersuchung benutzte Zuchtmaterial ging im wesentlichen auf Auslesen aus indischer kleinkörniger Ölsaat zurück (*Ric. comm. var. minor*). Der kleinere Teil der untersuchten Eliten stammte von einer ostasiatischen Herkunft sowie von ungarischen Land- und Zuchtsorten (*Ric. comm. var. sanguineus*). Insgesamt wurden 1760 Einzelpflanzen in über 3200 Einzelkornuntersuchungen geprüft. Sämtliche untersuchten Proben zeigten positive Ricinreaktion, d. h. ergaben Agglutination; eine ricinfreie Pflanze wurde nicht gefunden.

Da sich bei verschiedenen Einzelpflanzen graduelle Unterschiede hinsichtlich der Intensität der Agglutination zeigten, tauchte die Frage auf, ob diese Unterschiede vielleicht durch Verschiedenheiten im Ricingehalt der einzelnen Pflanzen bedingt sind. Um dies festzustellen, war eine Untersuchungsmethode zur quantitativen Bestimmung des Ricingehaltes erforderlich.

Die Ausarbeitung einer derartigen Methode konnte ich am Pharmakologischen Institut der Universität Pécs im November 1942 durch-

führen¹. Chemische Methoden zur Bestimmung des Ricingehaltes wurden bisher nicht bekannt (13). Es mußte deshalb versucht werden, auf der Grundlage der Agglutinationsmethode ein biologisches Verfahren zu finden.

Für die Untersuchungen wurde jetzt Meerschweinchenblut, das am stärksten auf Ricin reagiert (vgl. Tabelle 2), benutzt, und zwar in einer Verdünnung von 1 Teil gewaschener roter Blutkörperchen zu 9 Teilen 0,9%iger NaCl-Lösung. Mit einem Ricinpräparat der Chemischen Werke Charlottenburg (nach JAKOBY) wurden Testlösungen mit bekanntem Ricingehalt in physiologischer Kochsalzlösung hergestellt (Tabelle 3). Diesen Testlösungen wurde dann auf 9 ccm Ricinlösung 1 ccm Meerschweinchenblut zugesetzt; sie wurden kalt gestellt und die Reaktion beobachtet. Hierbei ließen sich deutliche Unterschiede im Grad der Agglutination beobachten: Je konzentrierter die Ricinlösung war, desto rascher und kräftiger erfolgte die Agglutination und die Ausfällung der roten Blutkörperchen. Bei leichtem Schütteln der konzentrierten Lösungen (1,1—0,22%_{oo}) nach zweistündiger Einwirkung des Ricins trat bei diesen Hämolyse ein. Je schwächer die Ricinkonzentration war, desto langsamer und schwächer erfolgte auch die Agglutination. Ricinlösungen unter 0,002%_{oo} Ricin ergaben keine Agglutination mehr.

Diese Testproben dienten als Maßstab für die

¹ Herrn Professor Dr. MANSFELD, Direktor des Pharmakologischen Instituts der Universität Pécs, der mir die Ausführung der Versuche an seinem Institut ermöglichte, bin ich hierfür sowie für seine Ratschläge und die freundliche Unterstützung bei der Einstellung der Versuche zu besonderem Dank verpflichtet. Ebenso danke ich Herrn Assistentenarzt Dr. LICHNER, der mir bei der Durchführung der Versuche und Ausarbeitung der Methode behilflich war.

Bestimmung des Ricingehaltes einzelner Ricinuskörner. Hierzu wurde je 1 Ricinuskorn von zehn verschiedenen Ricinusarten bzw. Sorten und Kreuzungszuchten (vgl. Tabelle 4) verwendet. Die einzelnen Körner wurden zunächst genau gewogen, dann im Porzellanmörser unter Zusatz von einigen Tropfen 0,9%iger NaCl-Lösung zerrieben. Durch weitere Zugabe von 0,9%iger NaCl-Lösung, wobei die entsprechenden Flüssigkeitsmengen je nach dem vorher festgestellten Einzelkorngewicht wechselten, wurde hieraus eine genau 1%ige Ricinuslösung hergestellt. Nach einstündigem Stehen wurde diese Lösung filtriert. Zur eigentlichen Untersuchung erfolgte eine weitere Verdünnung dieser Proben auf 0,1%. Zu 10 ccm dieser 0,1% Ricinuslösung gaben wir 0,5 ccm Blutkörperchenlösung (in der oben angegebenen Verdünnung 1:9). Die Agglutination erfolgte zunächst langsam, nach 10 stündigem Stehen bei niedriger Temperatur (+3 bis +5°) konnte sie jedoch deutlich beobachtet und mit den Testproben verglichen werden. Der Vergleich ergab, daß die untersuchten Ricinuskörner einen Ricingehalt von etwa 2,5—3% besaßen. Unterschiede hinsichtlich der Stärke der Reaktion zwischen den einzelnen Proben ließen sich jedoch nicht feststellen. Die bei den früheren Untersuchungen bei einzelnen Pflanzen beobachteten graduellen Unterschiede in der Agglutination, die auf

Tabelle 4:

Ricinuntersuchungen an ganzen Körnern.

Sorte	Einzelkorngew. mg
Bánkuter 7	479,4
Mauthners Stachelloser	336
Ri 1251/42 Kreuzg. 08/38 E/4—42	498
Ri 1322/42 „ 09/38	322
Ri 1323/42 „ „	285
Ri 1383/42 „ „	210
Ri 1458/42 „ „	206
Ri 306/38 Ric. comm. var. Minor . .	242
Ri 314/38 „ „ „ „ . .	165
Ric. Zanzibariensis	940

größere Schwankungen im Ricingehalt hatten schließen lassen und die jetzt in ihren Extremen nachgeprüft wurden, zeigten sich bei der genauen quantitativen Untersuchung nicht mehr! Da bei den Versuchen der früheren Jahre die Ricinuslösungen ohne sorgfältige Berücksichti-

gung des Einzelkorngewichtes hergestellt worden waren, waren dadurch ungleiche Konzentrationen entstanden, die dann die graduellen Unterschiede bei der Agglutination hervorgerufen hatten.

Es scheinen also zumindest *stärkere Unterschiede im Ricingehalt der einzelnen Ricinusformen und -arten nicht zu bestehen*. Zur Erfassung feinerer Unterschiede aber reicht die ausgearbeitete Methode immer noch nicht aus, für serienmäßige Massenuntersuchungen, wie sie bei der Schwierigkeit des Zuchtobjektes — Ricinus ist Fremdbefruchteter — erforderlich wären, ist sie außerdem nicht leistungsfähig genug.

Wenn mit dieser Methode wohl kaum ein züchterischer Fortschritt bei Ricinus zu erzielen ist, so dürfte sie immerhin bei der Untersuchung von entgiftetem Ricinuskuchen und -schnrot, ehe diese zur Verfütterung gelangen, bei verhältnismäßig kurzem Aufwand an Zeit und Arbeit brauchbare Ergebnisse liefern. Vor allem dürfte sich diese Methode für Betriebe, die sich mit der fabrikationsmäßigen Herstellung von entgiftetem Ricinuschnrot befassen, zur Nachprüfung der Entgiftung eignen.

Literatur.

1. *Le Ricin*, Rev. Internat. des Produits Coloniaux, Paris, Sept. 1930. — 2. GRUNWALD, H.: Ricinus, Beiheft zum Tropenpflanzer, Jahrg. XXXIII, Nr. 12, Dez. 1930. Verlag Kolonialwirtschafts-Komitee, Berlin W 10. — 3. MORIYAMA, HIDEO: Studies of ricin. (I. rep.) Biochem. Dep. Gouvernement Inst. f. Infect. Dis., Jap. Univ. Tokyo. Jap. J. of exper. Med. 12, 395—409 (1934) Ref. — 4. JAKOBY, M., in A. HEFTTER, Handbuch der exper. Pharmakologie, II. Bd. 2. Hälfte, S. 1735ff. Berlin: Springer 1924. — 5. Atti Soc. med.-chirurg. Padova Boll. Fac. Med. Chirurg. R. Univ. Padova 17, 87—100 (1939) C. 1940 J. 1531 Ref. — 6. NAGEL: J. Soc. Chem. Ind. 1902, 30 Ref. — 7. TRIVELLONI: Le tourteau de ricin dans l'alimentation du bétail. Ref. Bull. écon. de l'Indochine 1921, Nr. 146, p. 128. — 8. MOOSER: Chem. Ztg. 1911 Nr. 77. — TSCHIRCH, A.: Handbuch der Pharmakognosie, II. Bd. 1. Abtlg. S. 625—642. Leipzig: Chr. Tauchnitz 1912. — 10. FANGL, H.: Verfahren zur Entgiftung von Ricinusmehl. Kiserletiigy Közlemény 41, 69 (1939) (Ung.). — 11. JÁKI, M.: Anbau und Verarbeitung von Ricinus in Ungarn. Fette und Seifen 48, 291 (1941). — 12. ARZORI, B.: Sulla localizzazione dell'ricino nei semi di ricino. Istit. di Farmacol., Univ. Gagliari. Arch. ital Sci. farmacol. 9, 91—99 (1940) Ref. — 13. Pharm. Ztg 76, 451—455, 467—470 (1931) Ref.