

Hawk. — eine weitere gegen den Kartoffelnematoden *Heterodera rostochiensis* (Wollenweber) resistente Species. Naturwissenschaften 48, 742–743 (1961). — 37. ROSS, H.: Über die Vererbung der Resistenz gegen den Kartoffelnematoden (*Heterodera rostochiensis* Woll.) in Kreuzungen von *Solanum famatiniae* Bitt. et Wittm. mit *Solanum tuberosum* L. und mit *S. chacoense* Bitt. Züchter 32, 74–80 (1962). — 38. SASS, J. E.: Botanical microtechnique. 2. Aufl. Ames, Iowa, 228 pp. (1951). — 39. SCHICK, R., und H. STELTER: Das Auftreten aggressiver Formen des Kartoffelnematoden in der Deutschen Demokratischen Republik. Tag.-Ber. Dt. Akad. Landwirtschaftswiss. Berlin 20, 121–129 (1959). — 40. SCHREIBER, K., und G. SEMBDNER: Über „Antischlupfstoffe“ für den Kartoffelnematoden in Wurzelknäusen. 1. Mitt. über *Heterodera*-Arten. Naturwissenschaften 46, 434–435 (1959). — 41. SEMBDNER, G.: Anatomische Untersuchungen über die Reaktionen von Pflanzen auf Befall durch den Kartoffelnematoden, *Heterodera rostochiensis* Woll. Diss. Dresden, 128 pp. (1961). — 42. SEMBDNER, G.: Anatomische Untersuchungen über die Reaktion von Organen der Kartoffelpflanze auf Befall durch den Nematoden *Heterodera rostochiensis* Woll. 7. Mitt. über *Heterodera*-Arten. Kulturpflanze 10, 383–411 (1962). — 43. SEMBDNER, G.: Anatomie der *Heterodera-rostochiensis*-Gallen an Tomatenwurzeln. 8. Mitt. über *Heterodera*-Arten. Nematologica 9, i. Druck (1963). — 44. SEMBDNER, G., G. OSSKE und K. SCHREIBER: Über die mögliche Bedeutung von „Gibberellinen“ für Wirt-

Parasit-Beziehungen beim Kartoffelnematoden. 6. Mitt. über *Heterodera*-Arten. Ber. Dt. Bot. Ges. 74, 370–374 (1961). — 45. SEMBDNER, G., und K. SCHREIBER: Über die schlüpfaktive bzw. schlüpfhemmende Wirkung der Wurzelknäusen verschiedener Pflanzen auf den Kartoffelnematoden, *Heterodera rostochiensis* Woll. 2. Mitt. über *Heterodera*-Arten. Nematologica, Suppl. 2, 127–140 (1960). — 46. SENGBUSCH, R. v.: Beitrag zur Biologie des Rübenknäusen *Heterodera schachtii*. Z. Pflanzenkrankh. (Pflanzenpath.) Pflanzenschutz 37, 86–102 (1927). — 47. SHEPHERD, A. M.: The invasion and development of some species of *Heterodera* in plants of different host status. Nematologica 4, 253–267 (1959). — 48. STELTER, H.: Einige Beobachtungen an nicht-knollentragenden Solanaceen in bezug auf den Kartoffelnematoden (*Heterodera rostochiensis* Wo.). Nachrichtenbl. Dt. Pflanzenschutzdienst, Berlin 13, 135 (1959). — 49. STELTER, H.: Zur biologischen Spezialisierung des Kartoffelnematoden in Ostdeutschland. Europ. Potato J. 4, 253–259 (1961). — 50. TOXOPEUS, H. J.: Probleme der Resistenzzüchtung gegen *Heterodera rostochiensis* auf der Basis von *Solanum tuberosum* subsp. *andigenum*. Tag.-Ber. Dt. Akad. Landwirtschaftswiss. Berlin 20, 57–64 (1959). — 51. TOXOPEUS, H. J., and C. A. HUIJSMAN: Breeding for resistance to the potato root eelworm. I. Preliminary data concerning the inheritance and the nature of resistance. Euphytica 2, 180–186 (1953). — 52. WILLIAMS, T. D.: The resistance of potato to root eelworm. Nematologica 1, 88–93 (1956).

Aus dem Institut für Pflanzenzüchtung Groß-Lüsewitz der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin

Ein Beitrag zur Methodik der Senfölbestimmung in *Brassica*-Samen

Von A. MOLL

Mit 1 Abbildung

Der quantitativen Bestimmung von Senfölen (Isothiozyanaten) wurde besondere Beachtung von seiten der Pharmazie und Lebensmittelindustrie geschenkt, da die Samen des schwarzen und weißen Senfes Bestandteile vieler Pharmakopöen sind und als Gewürzpflanzen Verwendung finden. Ist für diese Verwendungszwecke ein möglichst hoher Senfölgelhalt erwünscht, so wird für unsere als Öl- und Futterpflanzen genutzten Cruciferen das Gegenteil verlangt. Der hohe Senfölgelhalt der Cruciferenölsaaten wird mit für die schlechte Qualität des Rüboles verantwortlich gemacht. Außerdem mindern die scharfschmeckenden und schleimhautreizenden Senföle die Futterqualität der Rückstände der Ölgewinnung sowie die der Cruciferenfutterpflanzen. Die Pflanzenzüchtung ist deshalb daran interessiert, Pflanzen mit möglichst niedrigem Senfölgelhalt zu selektieren, und so ist eine Bestimmung der Senföle auch für dieses Gebiet von Interesse. Bemühungen, senfölarne bzw. -freie *Brassica*-Pflanzen zu züchten, sind nicht neu. Bei der Stoppelrübe gelang es SCHRÖCK (1938), Varietäten mit senfölfreien Rüben auszulesen. P. SCHWARZE (1946) gibt einen einfachen qualitativen Test an für eine Auslese von senfölfreien Rapssamen. Diese Methodik erscheint allerdings wenig erfolgversprechend. Es ist unwahrscheinlich, gänzlich senfölfreie Samen zu finden, da Samen die größten Konzentrationen an Senföglukosiden enthalten und diese Stoffe anscheinend eng mit dem Stoffwechsel der Pflanze verbunden sind (DELAVEREAU 1958, KJAER 1960).

Die Aufgabe dieser Arbeit sollte es sein, eine Methode zu finden, die geeignet ist, den Senfölgelhalt von Samen und vegetativen Teilen von Einzelpflanzen zu bestimmen, um eine Auslese durchführen zu können. Sorten zeigen nur geringe Streuungen im Senfölgelhalt, wie auch WETTER und CRAIG (1959) in ihren Untersuchungen feststellen (Tab. 1). Da bei Einzelpflanzen relativ wenig Untersuchungsmaterial zur Verfügung steht, andererseits die Zahl der Untersuchungen sehr groß ist, mußte diese Methode eine möglichst große Empfindlichkeit mit einem möglichst geringen Arbeitsaufwand verbinden.

Tabelle 1. Senfölgelhalt einiger *Brassica*-Arten.

Art bzw. Sorte	Senfölgelhalt % (berechnet als Allylsenfölgel)
Raps:*	
Malchow Winterraps (Lembkes)	0,275
Lüsewitzer Spätsaatverträglicher	0,289
Ölquell	0,228
Quedlinburger	0,228
Sommerraps Gülzow	0,323
Rüben:	
Winterrüben: Marino	0,480
Lüsewitzer polyplöider Winterrüben	0,625
Kohlrüben:	
Lüsewitzer St.	0,248
Cavolo novone (ital.)	0,103
Markstammkohl Gülzow	0,539
Schwarzer Senf	0,980

* Schwedische, englische, polnische und ungarische Rapssorten zeigten keine größeren Streuungen.

Tabelle 2. *Abhängigkeit der gefundenen Menge Senföl von den Hydrolysebedingungen.*

Autor	Zeit Std.	Temp. °C	pH	Bearbeitung	Zusätze	Ergebnis mg %
Raps						
DAB 6	2	20–25	—	gelegentlich geschüttelt	—	98 *
RUDISCHER	3	Zimmer-temp.	sauer	—	0,125 g Weinsäure 0,200 g weißes Senfmehl	157
ETTLINGER	1	60–70	—	vorextrahiert m. Petroläther	—	170 *
WETTER	3	20	4	geschüttelt	0,200 g weißes Senfmehl	225
ANDRÉ	1	60	—	überbrüht	1 ml Myrosinase-lsg.	259
Schwarzer Senf						
DAB 6	2	20–25	—	gelegentlich geschüttelt	—	700
ANDRÉ	1	60	—	überbrüht	1 ml Myrosinase-lsg.	980

Es wurde dieselbe Rapsprobe verwendet mit einer Einwaage von 1 g. Die Bestimmung erfolgte kolorimetrisch, berechnet wurde auf Allylsenföl.

* Werte sind sehr schwer reproduzierbar und stellen Durchschnittswerte dar.

Die Senföle sind sekundäre Produkte, die erst mit der Zerstörung der Gewebe auftreten. Sie sind in der Pflanze als Thioglukoside an Glukose gebunden und werden erst durch Einwirkung des Fermentkomplexes Myrosinase freigesetzt. Es gibt daher zwei Möglichkeiten zur Bestimmung der Senfölglykoside: die Bestimmung über den Zucker oder das freie Senföl. SCHULTZ und GMELIN (1954) geben eine Methode zur Bestimmung des Zuckers nach der enzymatischen Hydrolyse mit Anthonreagenz an. Wesentlich gebräuchlicher ist die Bestimmung des freien Senföls. Bei beiden Methoden muß beachtet werden, daß die enzymatische Hydrolyse nicht unbedingt quantitativ verläuft. STAHMANN et al. (1943) geben z. B. an, daß unter ihren Bedingungen Myrosinase ca. 80% des theoretisch möglichen Allylsenföls freisetzt. WETTER (1955) erreicht unter bestimmten Bedingungen eine Ausbeute von 90%. Es wird ein pH-Optimum sowie eine optimale Temperatur für die Myrosinaseaktivität angegeben. Daraus geht hervor, daß die Bedingungen der Hydrolyse sehr wichtig für die quantitative Ausbeute an Senfölen sind.

Die enzymatische Hydrolyse

Bei den einzelnen Autoren wird die Hydrolyse unter stark unterschiedlichen Bedingungen vorgenommen, wodurch die Ergebnisse sehr stark schwanken und kaum vergleichbar sind. Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die bei verschiedenen Bedingungen von uns erhaltenen Werte.

Wir stellten fest, daß mit steigender Hydrolysezeit bei dem gewöhnlichen pH von 6–6,5 der Rapsaufschwemmung ohne Zusatz die Ergebnisse sehr stark

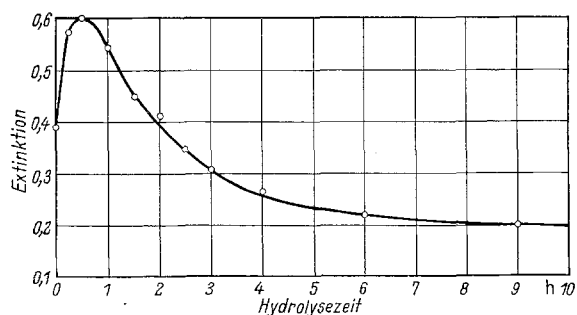


Abb. 1. Extinktionswerte von Senfölen aus Raps in Abhängigkeit von der Hydrolysedauer bei 20 °C. — Jede Bestimmung besteht aus drei getrennt behandelten Einwaagen, deren Extinktion in einer Mischprobe gemessen wurde.

abnehmen (Abb. 1), wobei das Maximum bei $\frac{1}{2}$ Std. liegt bei einer Temperatur von 20 °C. ANDRÉ und CARBOUÈRES (1955–57) machten ähnliche Feststellungen. Sie nehmen ein zusätzlich wirkendes Enzym an, das das gebildete Senföl wieder zerstört, die sogenannte Desulfurase des Senföls. Um dieses Ferment, das im Raps, Rüben, schwarzen Senf, nicht aber im weißen Senf vorkommen soll, zu zerstören, empfehlen sie, die Probe zur Zerstörung aller Fermente mit siedendem Wasser zu überbrühen. Als Fermentmaterial wird dann weißes Senfmehl hinzugesetzt. Nach unseren Erfahrungen scheint weißes Senfmehl nicht das ideale Material zu sein, da ein Überschuß ebenfalls die Ergebnisse verringert (Tab. 3). Es scheint also, als ob auch weißer Senf in geringen Mengen das senfölerstörende Ferment enthält.

Tabelle 3. *Beeinflussung des Untersuchungsergebnisses durch einen Überschuß an weißem Senfmehl.*

Senfmehl g	mg % Senföl
0,2	259
0,5	250
1,0	242
2,0	220

Die Einwaage betrug 1 g Raps.

Günstiger ist es, als Fermentmaterial zellfreie Myrosinase-lösung nach NEUBERG und WAGNER (1926) zu verwenden, da das senfölerstörende Ferment nach ANDRÉ (1957) in den Mutterlaugen der Alkoholfällung der Myrosinase verbleibt.

Die nach ANDRÉ erhaltenen Ergebnisse werden kaum durch die Dauer der Hydrolyse beeinflusst und geben anscheinend den wahren Gehalt an Senföl an. Sie sind im Gegensatz zu anders erhaltenen Werten gut reproduzierbar. Nach einer nochmaligen Fermenteinwirkung auf den Destillationsrückstand und einer Zweitdestillation konnte kein Senföl mehr nachgewiesen werden. Eine Veränderung des pH-Wertes ins Saure sowie Alkalische brachte keine Steigerung der Ergebnisse. Eine enzymatische Hydrolyse bei pH 4, wo nach WETTER (1955) das Optimum der Myrosinaseaktivität liegt, zeigte bei überbrühten Proben etwas geringere Ergebnisse. Liegt allerdings der native Fermentkomplex vor, so wird bei pH 4 die maximale Ausbeute erreicht. Das senfölerstörende Ferment ist

anscheinend säureempfindlich (s. Tab. 2: RUDISCHER, WETTER). Als optimale Temperatur erwies sich die von ETTINGER (1955) vorgeschriebene überraschend hohe Temperatur von 60–70 °C.

Isolation

Soweit es sich um flüchtige Senföle handelt, ist die Wasserdampfdestillation bzw. eine einfache Destillation unter Alkoholzusatz das geeignete Mittel zur Isolation. Sollen nichtflüchtige Senföle bestimmt werden, so muß die Destillation durch eine Extraktion ersetzt werden. Nach KJAER (1954) kann die Extraktion z. B. bei weißem Senf während der Hydrolyse mit Äther erfolgen, ohne daß der Fermentkomplex beeinflusst wird. Bei Raps ist eine Bestimmung der nichtflüchtigen Senföle schwierig. Der Rapssamen enthält außer den 3 flüchtigen Senfölen (3-Butenyl-, 4-Pentenyl- und Phenyläthylsenfö) noch 3 nichtflüchtige Stoffe. Der wichtigste ist das antithyroidale L-5-vinyl-2-thiooxazolidon (VTO), das durch Cyclisierung aus einem 2-Hydroxy-3-butenylsenfö entsteht. Es bildet mit Ammoniak keine Thioharnstoffe, gibt aber eine eigene Färbung mit GROTES Reagenz. Das VTO wird am besten gesondert bestimmt nach KREULA und KIESVAARA (1959) bzw. im Rückstand der Wasserdampfdestillation nach WETTER (1957). Auf eine Bestimmung des Sinalbins sowie des Glucoiberins im Raps kann in unserem Zusammenhang verzichtet werden, da sie nur in sehr geringen Mengen vorkommen.

Umwandlung der Senföle in Thioharnstoffe

Am bequemsten werden Senföle als Thioharnstoffe bestimmt, in die sie leicht durch Behandlung mit äthanolischem Ammoniak übergehen. Diese Umwandlung erfolgt aber nur in reiner äthanolischer Lösung quantitativ, wie Versuche mit Allylsenfö DAB 6 zeigten. In einem Wasser-Alkoholgemisch, wie es nach der Destillation vorliegt, ist die Reaktion weniger vollständig, und in rein wäßriger Lösung treten noch größere Verluste auf (Tab. 4). Deshalb ist ein Alkoholzusatz während der Destillation von Senfölen aus pflanzlichem Material sowohl zum Destilliergut als auch in der Vorlage sehr wichtig; dabei ist ein Verlust von ca. 5% unvermeidbar, und die Ergebnisse sind entsprechend zu korrigieren.

Tabelle 4. *Beeinflussung der Reaktion von Allylsenfö mit Ammoniak durch das Reaktionsmedium.*

Lösungsmittel	gefunden	
	mg	%
30 ml Äthanol 96% 5 ml Ammoniak 20%	4,92	96,6
	4,97	97,5
	4,92	96,6
30 ml Äthanol 96% 50 ml Wasser 5 ml Ammoniak 20%	4,67	91,5
	4,72	92,5
	4,72	92,5
80 ml Wasser 5 ml Ammoniak 20%	4,33	85,0
	4,33	85,0
	4,41	86,5

Vorgabe: 5,1 mg Allylsenfö.

Bestimmung

Für die Bestimmung der Senföle als Thioharnstoffe stehen eine Reihe von Methoden zur Verfügung. Die

bekannteste ist die argentometrische nach GADAMER, deren Überwerte sich vermeiden lassen durch geringe Modifizierungen (FÜRST und POETHKE 1960) oder durch Bestimmung eines Blindwertes (RUDISCHER 1959). Allerdings bilden auch andere schwefelhaltige Stoffe oder Zersetzungsprodukte der Senföle Silbersulfid, so daß das jodometrische Verfahren des Schweizer Arzneibuches sowie das auf der Reaktion mit H₂O₂ beruhende acidimetrische Verfahren nach BÖHME genauere Werte liefern. Alle drei genannten Methoden sind aber zu unempfindlich für Mengen im Bereich von wenigen Milligramm. Empfindlicher ist die Hypojoditmethode nach WOJAHN (1952), wobei der Schwefel unter Verbrauch von 8 Äquivalenten Jod zu Sulfat oxydiert wird. Gegenüber einer Einwaage von 10,0 g Rapssamen bei den vorher erwähnten Methoden genügt im letzteren Fall eine Einwaage von 2,0 g. Für genaue Untersuchungen hat sich die spektralphotometrische Methode der in substituierte Thioharnstoffe umgewandelten Senföle durchgesetzt, da erstere ein charakteristisches Adsorptionsmaximum im UV bei 240 m μ haben. Dazu ist es aber notwendig, bei Pflanzen mit mehreren Senfölglykosiden die einzelnen Thioharnstoffe abzutrennen, was z. B. durch Gegenstromverteilung gelingt (KJAER, 1953). Für Serienuntersuchungen am Rapssamen, der 3 Senföle enthält, ist eine solche Abtrennung zu umständlich. Es kommt hier darauf an, vergleichbare Werte zu schaffen, die der Schwefelmenge der Senföle äquivalent sind.

Kolorimetrische Methode

Wir schlagen eine kolorimetrische Bestimmungsmethode vor, die auf der Blaufärbung C = S-Gruppe der Thioharnstoffe mit GROTES Reagenz beruht. Diese Farbreaktion wird zum qualitativen Nachweis der Thioharnstoffe auf dem Papierchromatogramm benutzt. Der Farbstoff ist aber stabil genug für eine quantitative Auswertung. Allerdings erwies sich der von GROTE angegebene pH-Bereich (gesättigte Natriumbicarbonatlösung) als ungeeignet, die Färbung ist zu schwach und erreicht ihr Maximum nach Tagen. Als günstiger erwies sich ein pH von 8,1–8,2. Die Färbung ist ziemlich intensiv, so daß 0,2 mg % Allylthioharnstoff noch erfaßt werden können, wodurch die Einwaagen an Probematerial sehr gering gehalten werden können. Bei Rapssamen sollte die Einwaage ungefähr 500 mg betragen, bei Rübsen 250 mg und bei schwarzem Senf ungefähr 100 bis 200 mg. Bei grünen Pflanzenteilen sind größere Ausgangsmengen nötig, da sie viel weniger Senföle enthalten. Selbstverständlich können auch größere Mengen als Ausgangsmaterial genommen und nachfolgend verdünnt werden.

Wie Vergleiche von molaren Allylthioharnstoff- mit Thioharnstofflösungen ergaben, ist die Farbtintensität des blauen Komplexes ungefähr der Menge der C = S-Gruppen proportional und wird nur wenig von dem Substituenten beeinflusst. Es ist anzunehmen, daß die molaren Extinktionskoeffizienten des Allylthioharnstoffes und der substituierten Thioharnstoffe aus dem Raps sich nicht sehr stark unterscheiden (3-Butenylsenfö, das Hauptsenfö des Rapssamens, unterscheidet sich nur durch ein C-Atom vom Allylsenfö). Deshalb kann man, ohne einen großen Fehler zu machen, Allylthioharnstoff unter bestimmten Be-

dingungen zu Messungen von Senfölen bei Serienuntersuchungen im Raps zur Aufstellung der Eichkurve verwenden. Ablesungen in verschiedenen Bereichen der Eichkurve nach entsprechender Verdünnung einer Rapsprobe ergaben übereinstimmende Werte, was für einen gleichen Verlauf der Extinktionskurven spricht. Außerdem läßt sich der Fehler durch Mitmessen einer Rapsprobe bekannten Senfölgehaltes korrigieren. Die kolorimetrisch erhaltenen Werte stimmen befriedigend mit denen nach WOJAHN titrierten überein.

Tabelle 5. Vergleich zwischen kolorimetrischer und jodometrischer Methode.

kolorimetrisch mg %	WOJAHN mg %
234	241
232	247
234	235
223	235
234	235

Es wurden fünf parallele Proben bestimmt mit einer Einwaage von 2 g. Nach dem Auffüllen auf 100 ml wurden 50 ml nach WOJAHN titriert, der Rest kolorimetrisch bestimmt.

Für eine Massenauslese genügt als Schnellmethode ein Vergleich der Farbwerte an Hand der Eichkurve oder eines Standards mit dem Auge, ohne eine kolorimetrische Messung.

Experimenteller Teil

Geräte

1. Schliffdestilliersatz mit absteigendem Kühler und 100 ml Steh-Kolben als Vorlage.
2. Extraktoren nach THIELEPAPE.
3. Meßkolben 100 ml und 50 ml.
4. Heizquellen zur Destillation: mit Gasflammen beheiztes Sandbad.
zum Erhitzen: Infrarotlampen, möglichst mit Regelwiderstand.
5. Spektralphotometer oder Kolorimeter.

Chemikalien

1. MyrosinaseLösung nach NEUBERG und WAGNER,
2. Äthanol 96%,
3. Ammoniak 10%,
4. Boratpuffer pH 8,1–8,2
5. Allylthioharnstoff,
6. GROTES Reagenz: 0,5 g Nitroprussidnatrium werden in 10 ml Wasser gelöst und mit 0,5 g Hydroxylaminhydrochlorid versetzt. Dann wird 1 g NaHCO₃ hinzugefügt und nach Abschluß der Gasentwicklung (15 Min.) 2 Tropfen Brom hinzugegeben. Man läßt 15 Min. einwirken und entfernt das Brom durch Durchsaugen eines Luftstromes (10 Min.). Dann wird mit Wasser auf 25 ml aufgefüllt und die Lösung in eine dunkle Flasche filtriert. Das Reagenz ändert seinen Wirkungswert im Laufe der Zeit. Die Farbtintensität des Thioharnstoffkomplexes nimmt zu. Das Reagenz muß frisch bereitete werden, falls man Rapssenöle mit einer Eichkurve von Allylthioharnstoff mißt, da die Änderung der Farbtintensität der Verbindung mit Allylthioharnstoff nicht genau im selben Maße erfolgt wie die der Verbindung mit den Senfölen des Rapses und man zu kleine Werte erhält. Bei Bestimmungen in Schwarzem Senf entfällt diese Forderung.

Arbeitsvorschrift für Bestimmungen in *Brassica*-Samen

0,5–1,0 g feingemahlener Raps bzw. 0,1–0,2 g schwarzer Senf werden in 150 ml-Kolben mit ca. 70 ml siedendem Wasser übergossen, nach dem Abkühlen auf ca. 50 °C

mit 0,5–1 ml (bei älteren Lösungen etwas mehr) zellfreier MyrosinaseLösung versetzt und nach gutem Umschütteln 1 Std. bei 60 °C gehalten. Danach läßt man die Probe abkühlen, versetzt sie mit 20 ml Alkohol und destilliert in einem Schliffdestilliersatz mit absteigendem Kühler. In der Vorlage (100 ml Stehkolben mit Schliff) befinden sich 5 ml 10%iges Ammoniak und 10 ml Alkohol, der Vorstoß muß in dieses Gemisch eintauchen. Die Vorlagen müssen gut gekühlt werden. Die Destillation wird beendet, wenn ungefähr 50 ml übergegangen sind. Der Vorstoß wird mit wenigen ml Wasser abgespült. Die Proben werden 15 Min. unter Verwendung des Extraktors nach THIELEPAPE unter Rückfluß gekocht, danach der Alkohol abdestilliert und schließlich nach Zugabe von 1 Tropfen Phenolphthaleinlösung die offenen Kolben so lange erhitzt, bis der Ammoniak entfernt ist, d. h. es darf in der Kälte keine Rosafärbung auftreten. Die Proben werden in 100 ml Kolben überspült und aufgefüllt. Dann verdünnt man auf den entsprechenden Konzentrationsbereich, bringt die Proben mit Boratpuffer auf einen pH-Wert von 8,1–8,2 und färbt mit der entsprechenden Menge Reagenz an. Für eine Menge bis 1,0 mg Allylthioharnstoff braucht man 1 ml Reagenz.

Um Puffer und Reagenzverbrauch möglichst gering zu halten, ist es günstig, mit 50 ml Meßkolben zu arbeiten. Man mißt 1–1½ Std. nach dem Anfärben gegen das Lösungsmittel mit Reagenzzusatz. Die Färbung ändert sich in 1–3 Std. nur unwesentlich. Gemessen wird bei einer Wellenlänge von 610 mμ bzw. mit geeignetem Filter. Als Eichlösung wird eine Verdünnungsreihe von Allylthioharnstoff verwendet von 0,2–1,5 mg %, Küvettenstärke 3 cm. Bei Ablesung der Extinktion erhält man als Eichkurve eine Gerade. Der Allylthioharnstoff soll ebenso wie die Proben mit Ammoniak und Alkohol gekocht werden, da schon geringe Spuren von NH₃ oder anderen Stoffen die Farbe beeinflussen. Selbstverständlich kann auch frischdestilliertes Allylsenföl als Eichsubstanz verwendet werden. Die bei der Umwandlung in Thioharnstoff auftretenden Verluste von ungefähr 5% sind dann mit eingeschlossen. Da es sich aber bequemer mit einer kristallinen Substanz arbeitet, wurde dem Allylthioharnstoff als Eichsubstanz der Vorzug gegeben.

Der Fehler liegt unter 5%.

Bestimmung von Allylsenföl

Zur Kontrolle der Methode wurden Bestimmungen mit Allylsenföl durchgeführt. Etwa 1 g Allylsenföl DAB 6 wurde genau gewogen und mit 96%igem Alkohol DAB 6 auf 1 Lit. aufgefüllt. Für die Bestimmung wurde dieser Probe eine entsprechende ml-Menge entnommen und in 30 ml Alkohol unter Rückfluß gekocht. Der Alkohol wurde bis auf einen kleinen Rückstand abdestilliert, die Proben mit Wasser aufgefüllt und mit einem Tropfen Phenolphthaleinlösung versetzt. Nach Beseitigen des Ammoniaks durch weiteres Kochen wurde die abgekühlte Lösung in 100 ml Kolben überspült und in entsprechender Verdünnung kolorimetrisch bestimmt (Tab. 6).

Tabelle 6. Bestimmung von Allylsenföl.

Vorgabe mg	gefunden mg	%
101,4	98,0	96,7
50,7	49,2	97,0
10,14	9,86	97,0
5,07	4,87	96,5

Das Senföl wurde in derselben Weise wie die Rapsproben der Destillation unterworfen und bestimmt. Die Verluste sind weniger durch die Destillation als vielmehr durch die nicht quantitative Reaktion mit NH₃ in wäßriger alkoholischer Lösung zu erklären (Tab. 7).

Tabelle 7. Bestimmung von Allylsenföl nach Destillation.

Vorgabe mg	gefunden mg	%
10,20	9,44	92,6
5,10	4,75	93,3
2,04	1,87	93,2

Tabelle 8. Bestimmung von Raps unter Zusatz von Allylsenfölen.

Raps g	Allylsenfölen mg	insges. mg	gefunden: mg	%
1,0	—	2,33	—	—
1,0	0,51	2,80	0,47	92,3
1,0	1,02	3,26	0,93	91,1
1,0	2,04	4,13	1,80	89,6

Das Senfölen wurde in Form einer alkoholischen Lösung vor dem Fermentzusatz der Rapsprobe zugegeben.

Zusammenfassung

Es wird eine kolorimetrische Methode beschrieben, die geeignet ist, Senföle in Samen von Einzelpflanzen zu bestimmen. Sie kann als Schnellmethode angewendet werden und eignet sich für eine Massenauslese. Es wird gezeigt, daß die Bedingungen, unter denen die Senföle aus ihren Glukosiden freigemacht werden, der entscheidende Faktor für reale, gut reproduzierbare Werte sind. Ein Vergleich verschiedener in der Literatur angegebener Methoden ergab stark unterschiedliche Ergebnisse.

Die untersuchten Sorten zeigen keine wesentlichen Streuungen, und eine Auslese scheint nur über Einzelpflanzen aussichtsreich zu sein.

Frau S. BARTEL und Herrn H.-J. PEGLER danke ich für ihre experimentelle Mitarbeit.

Literatur

1. ANDRÉ, E., et M. CARBOUÈRES: Sur l'existence dans les graines de moutarde noire, de colza et de navette d'un enzym possédant une action destructrice sur les sénévol. Comp. Rend. Séances Acad. Sci. **237**, 1274 bis 1276 (1955). — 2. ANDRÉ, E., et M. CARBOUÈRES: Sur la présence dans les graines de certaines crucifères d'un enzym qui provoque la disparition des sénévol. Comp. Rend. Séances Acad. Sci. **240**, 1468—1470 (1955). — 3. ANDRÉ, E., et M. CARBOUÈRES: Sur la présence dans les graines de moutarde noire, de colza et de navette d'un enzym qui possède une action destructrice sur la sénévol. Comp. Rend. Séances Acad. Sci. **244**, 2546—2548 (1957). — 4. ANDRÉ, E., et M. CARBOUÈRES: Sur la présence dans les graines de moutarde noire, de colza et de navette d'un enzym qui possède une action destructrice sur la sénévol. Comp. Rend. Séances Acad. Sci. **244**, 3080—3082 (1957). — 5. ASTWOOD, E. B., M. A. GREER and M. G. ETTLINGER: L-5-vinyl-2-thiooxazolidone antithyroid compound of yellow turnip and *Brassica* seeds. J. Biol. Chem. **181**, 121—130 (1949). — 6. DELAVEAU, P.: Recherches sur les sénévol des graines de *Brassica* à l'aide de la chromato-

graphie sur papier. II. Graines de *Brassica rapa*, *Brassica napus* et *Brassica oleracea*. Ann. pharm. franc. **14**, 770—777 (1956). — 7. DELAVEAU, P.: Variations de la teneur en hétérosides à sénévol de l'*Alliaria off.* L. au cours de la végétation. Comp. Rend. Séances Acad. Sci. **246**, 1903—1905 (1958). — 8. ETTLINGER, M. G., and J. HODGINS: The mustard oil of rapeseed, allylcarbinyl-isothiocyanat and synthetic isomers. J. Amer. Chem. Soc. **77**, 1831—1836 (1955). — 9. FÜRST, W., and W. POETHKE: Zur Bestimmung des Allylsenföls. Pharm. Zentralhalle **99**, 674—677 (1960). — 10. GROTE, I. W.: A new color reaction for soluble organic sulfur compounds. J. Biol. Chem. **93**, 25—30 (1931). — 11. KJAER, A.: Naturally derived isothiocyanates (mustard oils) and their parent glucosides. Fortschr. Chem. org. Naturstoffe **18**, 122—176 (1960). — 12. KJAER, A., J. CONTI and K. A. JENSEN: Volatile isothiocyanates in rapeseeds. Acta chem. scand. **7**, 1271—1275 (1953). — 13. KJAER, A., and K. RUBINSTEIN: Synthese of p-oxybenzylisothiocyanat and evidence of its presence in the glycosid of grains of white mustard (*Sinapis alba* L.). Acta chem. scand. **8**, 598—601 (1954). — 14. KREULA, M., and M. KIESVAARA: Determination of L-5-vinyl-2-thiooxazolidone from plant material and milk. Acta chem. scand. **13**, 1375—1382 (1959). — 15. NEUBERG, C., and W. WAGNER: Über die Verschiedenheit von Sulfatase und Myrosinase. Biochem. Zeitschrift **174**, 457—462 (1926). — 16. RUDISCHER, S.: Bestimmung von Allylsenfölen in Raps und Rüben sowie in den daraus gewonnenen Rohölen. Fachbuch der Margarineindustrie, 468—470. Leipzig: Fachbuchverlag 1959. — 17. SCHRÖCK, O.: Die Züchtung senfölfreier Stoppelrüben. Der Züchter **10**, 276—277 (1938). — 18. SCHULTZ, O. E., and R. GMEIN: Quantitative Bestimmung von Senfölglykosiden mit dem Anthronreagenz. Z. Naturforschung **9b**, 27—29 (1954). — 19. SCHWARZE, P.: Zur Methode der Auslese von senfölfreien Rapsorten. Der Züchter **17/18**, 19—22 (1946). — 20. STAHMANN, M. A., K. P. LINK and J. C. WALKER: Mustard oils in crucifers and their relations to resistance to clubroot. J. Agric. Res. **67**, 49 (1943) zit. bei KJAER, Fortschr. org. Naturst. **18**, 122—176 (1960). — 21. STOLL, A., und E. JUCKER: Senföle, Lauchöle und andere schwefelhaltige Pflanzenstoffe. In: K. PAECH und M. V. TRACEY, Moderne Methoden der Pflanzenanalyse Bd. IV, 689—718. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — 22. WETTER, L. R.: The estimation of substituted thiooxazolidon in rapeseed oilmeal. Can. J. Biochem. Physiology **35**, 293—297 (1957). — 23. WETTER, L. R.: The determination of mustard oil in rapeseed oilmeal. Can. J. Biochem. Physiology **33**, 980—984 (1955). — 24. WETTER, L. R., and B. M. CRAIG: Variety and environmental effects on rapeseed. I. Isothiocyanate and thiooxazolidon. Can. J. Plant. Sci. **39**, 395—399 (1959). — 25. WOJAHN, H.: Zur Reaktion der Senföle und Rhodanide mit Hypojodit. Ein neuartiges Verfahren zur Bestimmung von Ol. Sinapis. 4. Mitt. über C=S-Verbindungen. Pharm. Zentralhalle **91**, 326—333 (1952).

Aus dem Institut für Kulturpflanzenforschung Gatersleben der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin

Untersuchungen an Tomaten-Mutanten. II

Von JOHANNES HELM

Mit 2 Abbildungen

1. Die Brüchigkeit der Achsen der Wildtomaten-Mutante *fragosa*

Unter den von STUBBE 1960 und 1961 vorgestellten und beschriebenen, nach Röntgenbestrahlung der Samen erhaltenen Mutanten der Wildtomate *Lycopersicon pimpinellifolium* (Juslen.) Miller befindet sich auch die Mutante *fragosa* (1961, S. 63). Wie dort durch Abb. 4 veranschaulicht, sind vor allem die Sproßachsen der Mutante sehr leicht — an beliebigen Stellen — brüchig, während die der Wildart sehr biegsam sind und bei stärkerer Belastung nur einknicken.

Vergleichende anatomische Untersuchungen der Achsen sowohl der Ausgangssippe als auch der Mutante *fragosa* ergaben hinsichtlich des Aufbaues der Rinde völlige Übereinstimmung nicht nur bezüglich der Anzahl, sondern auch des Ausbildungsgrades der einzelnen sie zusammensetzenden Gewebe (Abb. 1). Im Stengelquerschnitt folgen jeweils auf eine mit Haarbildungen versehene einschichtige Epidermis zwei kleinzellige, subepidermale, chlorophyllführende Parenchymzellreihen, denen sich ein mehrschichtiger (4—6), geschlossener, der Festigung dienender Kollen-