

WACHSTUMSREGULATORISCHE EIGENSCHAFTEN VON FLECHTEN-UND MOOS-INHALTSSTOFFEN*

S. HUNECK und K. SCHREIBER

Institut für Biochemie der Pflanzen Halle/Saale des Forschungszentrums für Molekularbiologie und Medizin der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, DDR

(Engegangen 23 November 1971)

Key Word Index—Lichens; liverworts; growth hormones; tests with angiosperms.

Abstract—A number of lichen substances and secondary products from liverworts were tested in the following bioassays: cress root growth, oat and pea seedling growth on infiltration into seed, oat coleoptile section extension, nutrient solution test with bean, pea and pumpkin, and the lanolin paste method with bean. Many of the compounds were growth inhibitors at 10^{-3} and 10^{-4} M and growth promoters at 10^{-6} and 10^{-7} M.

EINLEITUNG

ÜBER den Einfluß von Sekundärstoffen aus Flechten und Moosen auf das Wachstum höherer Pflanzen ist wenig bzw. nichts bekannt. Barbalič¹ fand, daß (–)-Usninsäure die Keimung von Kresse (*Lepidium sativum* L.) hemmt, Miller *et al.*² isolierten aus *Umbilicaria papulosa* (Ach.) Nyl. zwei Typen von Wachstumsinhibitoren, Follmann und Nakagava³ beobachteten Keim- und Wachstumshemmung bei Applikation von Flechtenrohextrakten, die auch von Rondon^{4,5} verwendet wurden. Dagegen wirkt der Extrakt einer *Ramalina*-Art nach Santesson⁶ wachstumsfördernd auf Zwergrmais.

ERGEBNISSE

In Ergänzung und Erweiterung der angeführten Untersuchungen haben wir 33 Flechten- und 6 Moos-Inhaltsstoffe im Kresewurzeltest,⁷ Imprägnierungstest mit Hafer und Erbse, Hafercoleoptilentest,⁷ Nährlösungstest⁷ und im Lanolinpastentest⁷ mit Bohne auf ihre wachstumsregulatorische Eigenschaften geprüft und dabei folgende Ergebnisse erhalten.

Kresewurzeltest. In Tabelle 1 wurden die gemittelten Längen der Kontrollwurzeln (ohne Testsubstanz) gleich 100 gesetzt und die Meßwerte prozentual darauf bezogen. Werte unter 100 bedeuten also Hemmung und Werte über 100 Förderung des Wachstums.

Imprägnierungstest (Tabelle 2–5). Um den wachstumsregulatorischen Einfluß im Verlaufe des Wachstums zu registrieren, wurden 24 Stdn. mit (–)-Usninsaurem-K behandelte Haferpflanzen am 4, 5, 6, 7 und 10 Tag gemessen (Tabelle 3). In einem weiteren Experiment

* Mitt XCII über "Flechteninhaltsstoffe". Mitt. XCI S. HUNECK, *J. Prakt. Chem.*, im Druck.

¹ L. BARBALIČ, *Qual. Plant. Mater. Veg.* **9**, 286 (1969).

² E. V. MILLER, C. E. GRIFFIN, T. SCHAEFFERS und M. GORDON, *Bot. Gaz.* **126**, 100 (1965).

³ G. FOLLMANN und M. NAKAGAVA, *Naturwissenschaften* **50**, 696 (1963).

⁴ Y. RONDON, *Bull. Soc. Bot. Fr.* **113**, 1 (1966).

⁵ Y. RONDON, *Bull. Soc. Bot. Fr.* **115**, 121 (1968).

⁶ J. SANTESSON, *Dtsch. Bot. Ges. N.F.* **4**, 5 (1970).

⁷ J. W. MITCHELL und G. A. LIVINGSTON, *Methods of Studying Plant Hormones and Growth-Regulating Substances*, Agricultural Handbook No. 336, Agricultural Service, U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C. (1968).

TABELLE 1. WACHSTUM VON KRESSEWURZELN UNTER DEM
EINFLUß VERSCHIEDENER FLECHTEN- UND MOOSSTOFFE

Testsubstanz	M	Länge der Keimwurzel in % der Kontrôle (= 100%) bei einer Konzentration von					Länge der Pflanze in % der Kontrôle (= 100%) bei einer Konzentration von					
		10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	
<i>Flechtenstoffe</i>												
aliphat. Verb.												
<i>meso</i> -Erythrit	97	103	111	125	132		103	106	127	133	94	
Tetrahydroxyfettsäuren	92	102	92	81	86		83	98	102	99	110	
Caperatsaures-K	13	79	127	98	74		61	100	125	123	123	
Roccellasaures-K	0	72	104	91	84		92	88	88	85	72	
(+)-Protolichesterinsaures-K	75	72	69	81	97		124	124	111	87	102	
Ursolsaures-K	92	95	75	78	92		138	115	120	144	152	
(-) 16 α -Hydroxykauran	0	52	90	86	86		65	102	127	118	116	
Acetylportentol	0	49	107	120	114		96	124	144	141	142	
<i>Depside</i>												
Confluentinsaures-K	87	118	97	125	111		102	108	94	98	94	
Sekikasaures-K	112	96	148	96	124		85	66	120	114	108	
Atranorin-K	0	88	116	128	104		135	164	128	135	107	
Eversaures-K	7	91	88	94	81		100	112	104	113	87	
Planasaures-K	118	143	136	143	133		62	100	84	75	98	
Lecanorsaures-K	75	98	69	100	94		93	90	109	106	120	
Dichlororsellinsäure	54	93	110	118	93		118	107	107	124	108	
<i>Depsidone</i>												
Fumarprotocetrarsaures-K	34	80	90	90	70		77	103	114	101	107	
Salazinsaures-K	88	94	70	88	85		131	104	138	138	135	
Psoromsaures-K	3	48	84	76	68		126	113	120	130	111	
Virenssaures-K	11	70	112	108	100		53	94	80	100	99	
Stictinsaures-K	95	98	75	83	73		125	98	125	128	115	
Lobarsaures-K	100	122	103	96	112		111	133	122	133	119	
α -Coffatolsaures-K	30	76	73	112	73		127	144	168	154	154	
<i>Dibenzofurane</i>												
(-)-Usninsaures-K	20	116	140	112	133		84	120	142	76	100	
(-)-Isousninsaures-K	0	85	97	94	90		76	124	157	164	160	
Porphyrlisaures-K	84	122	82	102	78		92	94	103	78	108	
<i>Anthrachinone</i>												
Fragilin-K	74	107	107	93	97		132	120	137	150	106	
<i>Diphenylbutadiene</i>												
Vulpinsaures-K	0	43	74	69	92		95	134	94	94	115	
Epanorin-K	63	100	100	123	100		80	124	120	150	153	
Leprapinsaures-K	0	17	94	98	67		139	120	117	98	123	
Pinastrinsaures-K	32	104	132	108	120		98	95	98	95	73	
Rhizocarpsaures-K	18	85	106	100	88		68	92	105	93	98	
<i>Xanthone</i>												
Thiophansaures-K	15	112	117	92	108		92	104	86	152	126	
Thuringion-K	—	130	137	126	118		—	98	109	98	94	
<i>Chromone</i>												
Leprarsaures-K	108	117	125	132	155		118	105	95	98	120	
<i>Moosstoffe</i>												
Gymnocolin	0	55	115	80	94		106	120	125	130	115	
Drimenol	0	20	50	115	110		98	135	138	145	144	
Longiborneol	15	120	110	110	105		98	113	134	140	132	
Longifolen	24	86	94	90	100		77	133	122	133	122	
Lunularsäure	62	90	68	97	76		116	102	127	148	113	
Scapanin	0	40	100	125	90		105	143	123	138	143	

TABELLE 2. WACHSTUM VON HAFER
NACH IMPRÄGNIERUNG MIT VERSCHIEDENEN
FLECHTEN- UND MOOSSTOFFEN

Testsubstanz	M	Länge der Keimwurzel in % der Kontrôle (= 100%) bei einer Konzentration von					Länge der Pflanze in % der Kontrôle (= 100%) bei einer Konzentration von					
		10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	
<i>Flechtenstoffe</i>												
aliphat. Verb.												
<i>meso</i> -Erythrit	97	103	111	125	132		103	106	127	133	94	
Tetrahydroxyfettsäuren	92	102	92	81	86		83	98	102	99	110	
Caperatsaures-K	13	79	127	98	74		61	100	125	123	123	
Roccellasaures-K	0	72	104	91	84		92	88	88	85	72	
(+)-Protolichesterinsaures-K	75	72	69	81	97		124	124	111	87	102	
Ursolsaures-K	92	95	75	78	92		138	115	120	144	152	
(-) 16 α -Hydroxykauran	0	52	90	86	86		65	102	127	118	116	
Acetylportentol	0	49	107	120	114		96	124	144	141	142	
<i>Depside</i>												
Confluentinsaures-K	87	118	97	125	111		102	108	94	98	94	
Sekikasaures-K	112	96	148	96	124		85	66	120	114	108	
Atranorin-K	0	88	116	128	104		135	164	128	135	107	
Eversaures-K	7	91	88	94	81		100	112	104	113	87	
Planasaures-K	118	143	136	143	133		62	100	84	75	98	
Lecanorsaures-K	75	98	69	100	94		93	90	109	106	120	
Dichlororsellinsäure	54	93	110	118	93		118	107	107	124	108	
<i>Depsidone</i>												
Fumarprotocetrarsaures-K	34	80	90	90	70		77	103	114	101	107	
Salazinsaures-K	88	94	70	88	85		131	104	138	138	135	
Psoromsaures-K	3	48	84	76	68		126	113	120	130	111	
Virenssaures-K	11	70	112	108	100		53	94	80	100	99	
Stictinsaures-K	95	98	75	83	73		125	98	125	128	115	
Lobarsaures-K	100	122	103	96	112		111	133	122	133	119	
α -Coffatolsaures-K	30	76	73	112	73		127	144	168	154	154	
<i>Dibenzofurane</i>												
(-)-Usninsaures-K	20	116	140	112	133		84	120	142	76	100	
(-)-Isousninsaures-K	0	85	97	94	90		76	124	157	164	160	
Porphyrlisaures-K	84	122	82	102	78		92	94	103	78	108	
<i>Anthrachinone</i>												
Fragilin-K	74	107	107	93	97		132	120	137	150	106	
<i>Diphenylbutadiene</i>												
Vulpinsaures-K	0	43	74	69	92		95	134	94	94	115	
Epanorin-K	63	100	100	123	100		80	124	120	150	153	
Leprapinsaures-K	0	17	94	98	67		139	120	117	98	123	
Pinastrinsaures-K	32	104	132	108	120		98	95	98	95	73	
Rhizocarpsaures-K	18	85	106	100	88		68	92	105	93	98	
<i>Xanthone</i>												
Thiophansaures-K	15	112	117	92	108		92	104	86	152	126	
Thuringion-K	—	130	137	126	118		—	98	109	98	94	
<i>Chromone</i>												
Leprarsaures-K	108	117	125	132	155		118	105	95	98	120	
<i>Moosstoffe</i>												
Gymnocolin	0	55	115	80	94		106	120	125	130	115	
Drimenol	0	20	50	115	110		98	135	138	145	144	
Longiborneol	15	120	110	110	105		98	113	134	140	132	
Longifolen	24	86	94	90	100		77	133	122	133	122	
Lunularsäure	62	90	68	97	76		116	102	127	148	113	
Scapanin	0	40	100	125	90		105	143	123	138	143	

TABELLE 3. WACHSTUMSRÄTEN VON HAFERKEIMLINGEN NACH IMPRÄGNIERUNG MIT (—)-USNINSAUREM-K

Gemessen am Tag	Länge der Pflanze in % der Kontrolle (= 100%) bei einer Konzentration von				
	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	$10^{-7} M$
4	48	114	123	111	123
5	72	125	125	120	130
6	86	124	126	123	131
7	88	102	118	111	112
10	93	114	118	116	102

wurde der Zusammenhang zwischen Imprägnierungsdauer und Wachstum von Erbsen (*Pisum sativum* L., Schalerbsen 'Frühe Harzerin', M 2130) bei (—)-Usninsaurem-K untersucht (Tabelle 4). Die Pflanzen wurden im Dunkeln bei 20°an gezogen und gehalten. In einem Freilandversuch wurde mit (—)-Usninsaurem-K imprägnierter Hafer (100 Körner pro Konzen-

TABELLE 4. ABHÄNGIGKEIT DES WACHSTUMS VON DER IMPRÄGNIERUNGSDAUER BEI DER BEHANDLUNG VON ERBSEN MIT (—)-USNINSAUREM-K

Gemessen am Tag	Länge der Pflanze in % der Kontrolle (= 100%) bei einer Konzentration von				
	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	$10^{-7} M$
Imprägnierungsdauer:					
24 Stdn.					
3	124	100	100	93	93
4	124	100	83	87	82
5	117	98	86	89	86
6	112	99	92	84	99
7	106	99	94	94	99
Imprägnierungsdauer: 48 Stdn.					
3	108	121	93	170	170
4	114	146	100	168	173
5	124	158	115	173	176
7	138	160	127	183	175

tration) am 26. März 1971 ausgesät und am 19. Juli 1971 die Länge der Pflanzen gemessen (Tabelle 5). Imprägnierung von Hafer und Erbsen (24 und 48 Stdn.) mit (—)-Usninsäure in Methylenchlorid bei 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} und $10^{-7} M$ erbrachte keine signifikanten Unterschiede im Wachstum der Pflanzen von behandelten und unbehandelten Samen.

TABELLE 5. WACHSTUM VON HAFER NACH IMPRÄGNIERUNG MIT (—)-USNINSAUREM-K IM FREILANDVERSUCH

	Länge der Pflanzen in % der Kontrolle (= 100%) bei einer Konzentration von				
	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	$10^{-7} M$
101	103	112	103	98	

TABELLE 6. WACHSTUM VON HAFERKOLEOPTILEN UNTER DEM EINFLUß VERSCHIEDENER FLECHTEN- UND MOOSSTOFFE

Testsubstanz	Länge der Koleoptilen in % der Kontrolle (= 100%)				
	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷ M
<i>Flechtenstoffe</i>					
aliphat. Verb.					
meso-Erythrit	102	98	100	94	72
Tetrahydroxyfettsäuren	96	96	95	91	95
Caperatsaures-K	85	106	103	101	105
Roccellsaures-K	78	87	89	91	94
(+)-Protolicesterinsaures-K	78	90	98	103	97
Ursolsaures-K	82	88	94	93	96
(--)-16- <i>a</i> -Hydroxykauran	70	93	91	89	89
Acetylportentol	76	90	91	93	94
Depside					
Confluentinsaures-K	98	101	101	106	103
Sekikasaures-K	83	95	95	97	97
Atranorin-K	89	96	97	98	95
Evernsaures-K	64	77	80	85	88
Planasaures-K	76	88	98	98	103
Lecanorsaures-K	72	82	79	79	87
Dichlororsellinsäure	73	92	90	98	94
Depsidone					
Fumarprotocetrarsaures-K	93	108	105	101	110
Salazinsaures-K	92	92	93	96	100
Psoromsaures-K	82	91	86	81	98
Virensaures-K	70	80	83	95	95
Stictinsaures-K	85	97	98	104	109
Lobarsaures-K	90	97	98	100	100
<i>α</i> -Collatolsaures-K	90	95	97	97	95
Dibenzofurane					
(--)-Usninsaures-K	68	70	69	81	95
(--)-Isousninsaures-K	66	66	72	86	83
Porphyrilsaures-K	80	85	87	88	96
Anthrachinone					
Fragilin-K	95	98	103	101	105
Diphenylbutadiene					
Vulpinsaures-K	71	78	93	98	98
Epanorin-K	73	77	87	90	92
Leprapinsaures-K	75	79	97	95	99
Pinastrinsaures-K	71	77	84	88	85
Rhizocarpsaures-K	74	79	85	93	96
Xanthone					
Thiophansaures-K	77	82	86	89	95
Thuringion-K	—	81	81	90	92
Chromone					
Leprarsaures-K	92	93	97	102	100
<i>Moosstoffe</i>					
Gymnocolin	78	86	91	91	93
Drimenol	70	90	92	95	90
Longiborneol	73	89	93	94	94
Longifolen	97	107	103	103	105
Lunularsäure	88	92	102	96	100
Scapanin	77	88	82	86	86

DISKUSSION

Wie Tabelle 1 zeigt, können die geprüften Flechten- und Moosstoffe im Kresewurzeltest in zwei Gruppen eingeteilt werden, von denen die Verbindungen der einen Gruppe in höheren Konzentrationen das Wachstum hemmen und in niederen Konzentrationen das Wachstum fördern, während die Verbindungen der anderen Gruppe im gesamten Konzentrationsbereich wachstumshemmend wirken. Besonders stark wachstumsfördernd wirken *meso*-Erythrit, Planasäure, (–)-Usninsäure, Leprarsäure und Drimenol, während Caperatsäure, Evernsäure, Fumarprotocetrarsäure, Psoromsäure, Leprapinsäure und Lunularsäure starke Hemmer sind. Roccellsäure, (–)-16 α -Hydroxykauran, Acetylportentol, Atranorin, (–)-Isousninsäure, Leprapinsäure, Gymnocolin, Drimenol und Scapanin verhindern in 10 $^{-3}$ M Konzentration die Keimung völlig. Bemerkenswert ist, daß Kresse, die unter natürlichen Tag-Nacht-Bedingungen keimte, besonders bei Einwirkung von (–)-Usninsäure, Leprapinsäure, Thiophansäure und Rhizocarpsäure bleichgelbe oder gelbe Keimblätter entwickelte.

Im Imprägnierungstest zeigen das Triterpen Ursolsäure, Acetylportentol, α -Collatolsäure, (–)-Isousninsäure, Epanorin, Drimenol und Scapanin in 10 $^{-7}$ M eine Wachstumsförderung bei Hafer (Tabelle 2). Das unterschiedliche Wachstum des imprägnierten Hafers bleibt während der ersten 10 Tage erhalten (Tabelle 3); es scheint nach den Ergebnissen des Freilandversuches (Tabelle 5) auch noch nach mehreren Monaten am Ende der Wachstumsperiode signifikant zu sein.

Bemerkenswert ist die bedeutende Wachstumsförderung bei 48-stündiger Imprägnierung von Erbsen mit 10 $^{-7}$ M (–)-Usninsäurem-K gegenüber 24-stündiger Imprägnierung (Tabelle 4). Dagegen dringt (–)-Usninsäure in Methylenchlorid-Lösung offenbar nicht in die Samen von Hafer und Erbse ein.

Im Haferkoleoptiltest (Tabelle 6) wirken die meisten der geprüften Verbindungen wachstumshemmend; wachstumsfördernde Effekte bei Caperatsäure, Confluentinsäure, Planasäure, Fumarprotocetrarsäure, Stictinsäure, Fragilin und Longifolen sind klein und liegen möglicherweise innerhalb der Fehlergrenze von Biostests.

TABELLE 7. WACHSTUM VON BOHNEN IM LANOLINPASTENTEST

Substanz	Abstand Primärblätter-erste Hauptblätter in % der Kontrolle (= 100%) bei einer Konzentration von				
	1%	10 $^{-1}$ %	10 $^{-2}$ %	10 $^{-3}$ %	10 $^{-4}$ %
(–)-Usninsäure	45	50	105	102	130
Vulpinsäure	64	120	126	126	134
(–)-Rhizocarpsäure	76	99	78	53	69
Leprarsäure	88	107	120	121	122
α -Collatolsäure	100	91	120	107	124
Tetrahydroxyfettsäuren	108	116	112	124	130

Der Nährlösung zugesetzt, hemmt (–)-Usninsäure das Wachstum von Bohnen, Erbsen und Kürbis. Dagegen wirkt (–)-Usninsäure in 1 ppm im Lanolinpastentest deutlich wachstumsfördernd bei Bohnen (Tabelle 7).

EXPERIMENTELLES

Kresewurzeltest. Soweit möglich, wurden von den Flechensäuren die Kaliumsalze hergestellt und von diesen 10 $^{-3}$, 10 $^{-4}$, 10 $^{-5}$, 10 $^{-6}$ und 10 $^{-7}$ M wässrige Lösungen bereitet. In allen anderen Fällen

wurden die Substanzen in der minimalen Menge Äthanol gelöst und mit einer 0,05-proz. Tween-Lösung auf die oben angegebenen Konzentrationen verdünnt. In Petrischalen wurden Rundfilter mit der entsprechenden Menge Lösung getränkt und die Kressesamen in den Schalen (30 Samen pro Schale) ausgesät. Nach 48 Std. Aufbewahren bei 23° im Dunkeln im Klimaschrank wurde die Länge der Keimwurzeln gemessen und gemittelt.

Imprägnierungstest. 20 Samenkörner von Hafer (*Avena sativa* L.) (Sorte 15102/64 vom Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung Hohenheim) wurden 24 Std. bei Raumtemperatur mit den nach (a) hergestellten Lösungen imprägniert, ausgesät und bei 20–22° zur Keimung gebracht. Nach 5 Tagen wurde die Länge der Keimlinge gemessen und prozentual zur Kontrolle (= 100%) ausgewertet (Tabelle 2).

Koleoptiltest. Der Koleoptiltest wurde nach⁷ mit Hafer (Sorte wie unter (b) vermerkt) durchgeführt, der im Dunkeln bei 20° zur Keimung gebracht wurde (Tabelle 6).

Nährlösungstest. In Nährlösung mit 10^{-3} M (–)-Usninsäurem-K 10^{-3} M bleiben Kürbis (*Cucurbita pepo* L.), Bohnen (*Phaseolus coccineus* L.) und Erbsen im Wachstum hinter der Kontrolle zurück.

Lanolinpastentest. (–)-Usninsäure, Vulpinsäure, (–)-Rhizocarpsäure, Leprarsäure, α -Collatolsäure und Tetrahydroxyfettsäuren wurden in den Konzentrationen 1%, $10^{-1}\%$, $10^{-2}\%$, $10^{-3}\%$ und $10^{-4}\%$ im Lanolinpastentest⁷ an 8–10 Tagen alten Bohnen (Sorte Wachs-Hakogold P 4080) durch Auftragen zwischen den Primärblättern und den ersten Hauptblättern getestet und der Abstand zwischen diesen Blättern 10 Tage nach Applikation gemessen und in Relation zur Kontrolle (= 100%) gesetzt (Tabelle 7).

Anerkennung—Frau Eva-Maria Schneider danken wir für die Durchführung der Biotests.