

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen)

## Untersuchungen zum Nachweis des Primins bei *Primula obconica*

Von J. BRACHTENDORF

Mit 1 Textabbildung

### A. Einleitung

Von den etwa 300 Arten, welche die Gattung *Primula* umfaßt, ist *Primula obconica* HANCE, die 1879 von China nach Chelsea in England eingeführt wurde, vom gärtnerischen Standpunkt aus bei weitem die bedeutendste. CHARLES MARIES, ein Sammler des Londoner Hauses VEITCH, hatte die Wildart an den Kalksteinfelsen und in den Schluchten nördlich des Jangtse in West Hupe entdeckt und den Samen nach England geschickt. Dort wurde die Pflanze schon im nächsten Jahr zum Blühen gebracht. Sie wurde zunächst nur wenig beachtet, bis sie der deutsche Gärtner ARENDS 1887 mit nach Deutschland brachte und begann, diese Wildart in unermüdlicher züchterischer Arbeit zu einer brauchbaren Zimmerpflanze zu entwickeln. Neben ARENDS bauten dann weitere Züchter auf die „Arendssche Ursprungsrasse“ *Primula obconica grandiflora* auf und entwickelten die uns heute vorliegenden Typen der *grandiflora*- und *gigantea*-Gruppe mit ihren großen Formen- und Farbenmannigfaltigkeiten. Einen guten Einblick in den Verlauf der Zuchtentwicklung und den Stammbaum der *grandiflora*- und *gigantea*-Gruppe geben MAURER und STORCK (1935). Alle diese heute zu hunderttausenden Exemplaren herangezogenen Pflanzen zeichnen sich durch Schönheit und Vielzahl der Blüten auch in den blumenarmen Herbst- und Wintermonaten sowie durch verhältnismäßig einfache Kultur und schließlich durch große Anspruchslosigkeit in der Pflege der erwachsenen Pflanze aus.

Diesen Vorteilen der Pflanze, die sie so beliebt gemacht haben, steht aber ein wesentlicher Nachteil gegenüber, und das ist der Gehalt an einem Giftstoff, den KARRER Primin nannte. Dieses Primin wird in den Köpfchen der über die ganze Pflanze verteilten Drüsenhaare erzeugt und ruft bei vielen Menschen, sobald sie mit der Primel in Berührung kommen, die sog. Primeldermatitis hervor. Das Primin wirkt dabei als spezifisches Gefäßgift, also ohne Gewebszerstörung unmittelbar entzündungserregend auf die Haut, die unter starkem Juckreiz zunächst gerötet wird und schließlich ein mehr oder weniger starkes Bläschen- oder Knötchenekzem zeigt.

Wenn auch nur ein Teil der Menschen, nach ULBRICH und ETEL ungefähr 6 %, primielemphindlich ist, so war doch diese unangenehme Eigenschaft der *Primula obconica* vom Beginn des Jahrhunderts an bis auf den heutigen Tag Gegenstand ständiger Bestrebungen, den Handel und Anbau dieser Pflanze zu verbieten. Bereits in der Reichstagssitzung vom 25. 2. 1903 wurde das kaiserliche Gesundheitsamt um ein Anbauverbot der Primel ersucht (Gartenflora 1903). Es

folgten Vorträge und Aufsätze, insbesondere von Dermatologen, wodurch die Primel ständig an Beliebtheit verlor und heute z. B. aus Krankenhäusern und öffentlichen Gebäuden weitgehend verschwunden ist.

In derselben Zeit seit 1900 haben sich Ärzte, Naturwissenschaftler und Gärtner mit dem Problem beschäftigt, einerseits um auf dem Wege über die Erzeugung einer echten Idiosynkrasie beim Tier durch reines Primin dem Idiosynkrasie-Problem und seiner Behandlung selbst näher zu kommen, andererseits um durch Einkreuzungen priminfreier Wildarten oder durch Selektion eine gifffreie Primel zu züchten. Insbesondere letztere Versuche sind ohne Erfolg geblieben, und es ist bis heute noch keine gifffreie Primel im Handel, die in Habitus, Blühwilligkeit und Farbenpracht der giffigen *P. obconica* entspricht.

Daß Kreuzungen zwischen *Primula obconica* und gifffreien Wildarten, wie sie u. a. bei der Großgärtnerei Arends, Wuppertal, schon vor 25 Jahren vorgenommen wurden, zu einer gifffreien Pflanze vom *obconica*-Typ führen können, dürfte kaum zweifelhaft sein. Aber wenn man diesen Weg zur Züchtung der gifffreien *Primula obconica* beschreiten will, so muß man sich darüber klar sein, daß 1. die züchterische Arbeit, die an den heutigen *obconica*-Arten seit über 50 Jahren geleistet wurde, zu einem großen Teil umsonst war, und daß 2. wiederum viele Jahre notwendig sind, um die heutige *P. obconica* nach der gifffreien Einkreuzung wieder gewinnen zu können.

Aus diesen Gründen ist der Weg einer Selektion auf Gifffreiheit vorzuziehen, zumal er bei geeigneter Methode gestattet, jeden heute vorhandenen züchterisch wertvollen Typ zu erhalten, und außerdem in wesentlich kürzerer Zeit zum Ziele führen kann.

Ein Erfolg in dieser Hinsicht ist um so wahrscheinlicher, als es ja zahlreiche priminfreie Primelarten gibt, und nach dem Gesetz der homologen Reihen also auch eine priminfreie *P. obconica* zu erwarten ist. Genau wie z. B. bei den Lupinen die Süßlupine sowie beim Tabak ein nikotinfreier Tabak gefunden wurden, ist auch bei *Primula obconica* mit größter Wahrscheinlichkeit damit zu rechnen, daß priminfreie Mutanten auftreten können. Überdies haben bereits die bisher vorliegenden Untersuchungen gezeigt, daß der Primingehalt verschiedener *obconica*-Rassen in ziemlich breiten Grenzen variiert; es muß also mindestens eine Selektion in quantitativer Hinsicht, d. h. also wenigstens auf Priminarmut hin, aussichtsreich sein.

Da eine Selektion aber nur dann mit einiger Aussicht auf Erfolg in Angriff genommen werden kann, wenn sie sich auf ein möglichst umfangreiches Pflanzenmaterial stützen kann, ist die wichtigste Voraus-

setzung dafür eine Methode, die es gestattet, schnell und genau den Gehalt einer Pflanze an Primin festzustellen, so daß Reihenuntersuchungen großen Umfanges möglich sind. Eine solche Methode zur Bestimmung des Primins auszuarbeiten, war Aufgabe und Ziel dieser Arbeit.

### B. Material

Das gesamte Pflanzenmaterial, das für die Arbeit benötigt wurde, stammte von der Großgärtnerei Mayer, Bamberg, und zwar die Sorten der Mayerschen Züchtung:

|                                     |                  |
|-------------------------------------|------------------|
| <i>Primula obconica grandiflora</i> | Bayern-Blut      |
| „ „ „                               | Schneelawine     |
| „ „ „                               | Königssee        |
| „ „ „                               | Lachsprinzessin. |

Für die Kontrollversuche mit giftingen Primeln wurden folgende Pflanzen aus dem Botanischen Garten der Universität Erlangen herangezogen:

|                             |            |
|-----------------------------|------------|
| <i>Primula elatior</i> (L.) | SCHREBER   |
| „ <i>denticulata</i>        | SMITH      |
| „ <i>acaulis</i>            | HILL       |
| „ <i>bulleyana</i>          | G. FORREST |
| „ <i>juliae</i>             | KUSZN.     |
| „ <i>veris</i>              | L.         |
| „ <i>japonica</i>           | A. GRAY    |
| „ <i>farinosa</i>           | L.         |
| „ <i>pulverulenta</i>       | DUTHIE     |
| „ <i>veitchii</i>           | DUTHIE     |

### C. Ergebnisse

Aus der Literatur ist eine Primin-Bestimmungsmethode von MAURER und STORCK bekannt, die auf Seite 163 kurz beschrieben wird. Zuvor sei aber auf die bereits bekannten und die eigene Darstellung des Primins sowie auf seine Formel und Eigenschaften eingegangen. Für die Aufgabe der Arbeit schien es zweckmäßig, zunächst das Primin zu isolieren, um mit der reinen Substanz Vorversuche für eine Primin-Bestimmungsmethode zu machen. Es war daran gedacht, einen papierchromatographischen Nachweis des Primins zu erarbeiten. Die im wesentlichen auf die Arbeiten von CONSDEN, GORDON und MARTIN aufbauende Papierchromatographie hat sich in den letzten 10 Jahren zu einer analytischen Bestimmungsmethode entwickelt, die wegen ihrer Empfindlichkeit und ihres hohen Trenneffektes vor allem auch in der Biochemie mit ständig größerem Erfolg angewandt wird. Auch für Serienuntersuchungen in der Pflanzenzüchtung wurde die Papierchromatographie bereits herangezogen.

#### a) Darstellung des reinen Primins

Isolierungsversuche des Primins sind durchgeführt worden von SIMPSON (1917), BIRCHER (1924—1925), BLOCH und KARRER (1927) und KLEIN und TRÖTHANDL (1929). Wir entschieden uns für das Verfahren nach BLOCH und KARRER, das aber von uns etwas abgeändert wurde.

BLOCH und KARRER extrahierten die Blätter von 3000 Primeln 2 Tage lang mit Äther in Extraktionsapparaten. Das Extrakt bestand aus zwei Schichten, einer wäßrigen und einer ätherischen. Erstere wurde in einem Flüssigkeits-Extraktionsapparat mehrere

Stunden lang mit Äther behandelt, um alle ätherlöslichen Substanzen zu entziehen. Die bereits extrahierten Blätter wurden bei gelinder Wärme getrocknet und nochmals längere Zeit mit Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherauszüge wurden vorsichtig eingedunstet und der Rückstand der Wasserdampfdestillation (ca. 40 Std.) unterworfen, nachdem sich im Vorversuch gezeigt hatte, daß das Primin mit Wasserdampf flüchtig ist.

Die Wasserdampfdestillate wurden mit Äther ausgezogen und konzentriert. Die sich im Konzentrat auskristallisierende Substanz wurde abgenußt und wiederholt aus siedendem Petroläther umkristallisiert. Diese Substanz war das reine Primin. Das (mittels Schmelzpunktdepression in Kampfer ermittelte) Molekulargewicht betrug 214. Als Summenformel wurden  $C_{14}H_{20}O_3$  bzw.  $C_{14}H_{18}O_3$  angegeben. Der Schmelzpunkt betrug  $62^\circ$ . Weitere Charakteristika: Unlöslich in  $H_2O$ , verdünnter HCl und kaltem Petroläther; schwerlöslich in Ammoniak; löslich in Alkohol, Chloroform, Terpentinöl, Benzol, konzentrierter  $H_2SO_4$ , konzentrierter HCl, Äther, Methanol, Pyridin, Tetrachlorkohlenstoff, heißem Petroläther, KOH (10%), KOH (25%) unter dunkelgrüner Färbung und Zurücklassung brauner Tropfen, KOH (50%) unter dunkelgrüner Färbung, die in braun übergeht. Nach KARRER ist ein Sauerstoff-Atom als Hydroxylgruppe vorhanden, die beiden anderen scheinen, da Primin neutral reagiert, sich aber in starker NaOH langsam und vollständig löst, als Lactongruppe vorzuliegen. Primin ist stark ungesättigt, entfärbt  $KMnO_4$ -Lösung und reduziert ammoniakalische  $AgNO_3$ -Lösung.

Soweit die Reindarstellung von BLOCH und KARRER und die bisher vorliegenden Ergebnisse der chemischen und physikalischen Untersuchungen des Primins.

Die Abänderung im Isolierungsverfahren wurde dahingehend vorgenommen, daß die Blätter der Primeln nicht der langen Extraktion von 50 bis 60 Std., sondern nur einem kurzen Abwaschen mit Äther ausgesetzt waren. Mikroskopische und dermatologische Untersuchungen hatten gezeigt, daß die Drüsenhaare der Blätter nach gründlichem Übergießen mit Äther kein Primin mehr enthielten. Folglich war eine solche lange Extraktion, wie sie BLOCH und KARRER vorgenommen hatten, nicht notwendig und eher für die Isolierung von Nachteil, weil dadurch eine ganze Reihe weiterer ätherlöslicher Bestandteile nicht nur von der Oberfläche, sondern auch aus dem Inneren der Blätter herausgelöst werden konnten. Wir bauten für die Priminextraktion folgende einfache Apparatur auf (s. Abb. 1).

Ein Glaszylinder vom Durchmesser 25 cm und der Höhe 60 cm war am Boden durchbohrt und in die Durchbohrung mittels Gummistopfen ein Ablaufhahn eingesetzt. In den Boden des Zylinders war auf einen 3 cm hohen Dreifuß eine Glasplatte gelegt, die ringsum 2—3 mm Spielraum bis zur Gefäßwand frei ließ.

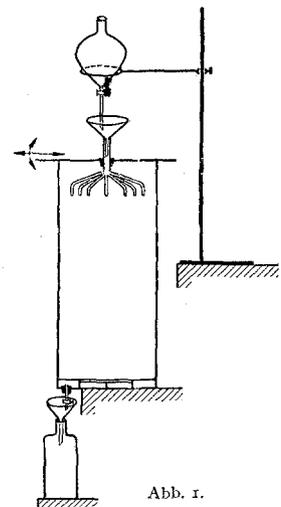


Abb. 1.

Abgedeckt war der Zylinder mit einer größeren Glasplatte. In der Mitte trug diese Platte mittels Gummistopfen eine „Glasspinne“, die in der Mitte und in sechs Armen kapillar ausgezogen war. Über der Glasspinne befanden sich ein Trichter und ein Scheidetrichter für den Zulauf des Äthers. Durch öfteres geringes seitliches Verschieben und Drehen der Glasplatte und damit gleichzeitig der Glasspinne wurde erreicht, daß die ganze Fläche unter der Glasspinne berieselt werden konnte. In den Zylinder wurden die abgeschnittenen Blätter von je 100 Pflanzen in 6 Schichten senkrecht locker eingestellt und 1½ bis 2 Std. mit Äther berieselt. Insgesamt sind 2500 Pflanzen extrahiert worden. Es handelte sich um einjährige Pflanzen, die als Samenträger benutzt worden waren. An Äther wurden dabei ca. 60 l verbraucht. Das Extrakt wurde filtriert, die ätherische von der wäßrigen Schicht im Scheidetrichter getrennt und die wäßrige nochmals mit Äther ausgezogen. Die vereinigten Ätherauszüge wurden 24 Std. mit NaCl getrocknet. Dann wurde der Äther unter gelinder Erwärmung abgezogen, der verbleibende goldgelbe, ölige Rückstand der Wasserdampfdestillation unterworfen, die im Destillat ausfallenden Kristalle wieder in Äther aufgenommen, der Äther abermals abgezogen und die zurückbleibenden Kristalle achtmal in heißem Petroläther umkristallisiert. Die so gewonnenen Kristalle entsprachen mit ihrem Schmelzpunkt von 62° und allen anderen Eigenschaften den Priminkristallen von KARRER. Es waren insgesamt 0,475 g erhalten worden. KARRER hatte aus 2000 Primeln 0,2 g Primin gewonnen. Bei einer nochmaligen Isolierung hatte er aus 10 000 Primeln eine Ausbeute von 2 g (s. MAURER und STORCK), die also mit unserem einfacheren Verfahren fast erreicht worden war. Ein mit dem bloßen Auge kaum sichtbares Kristall zeigte im dermatologischen Versuch höchste Toxizität. An weiteren Eigenschaften wurden festgestellt: Löslichkeit in Butanol, Eisessig, Phenolum Liquefactum, Aceton, Benzin, Salpetersäure (65%) und Anilin unter Orangefärbung; schwerlöslich in Formaldehyd.

Die reinen Priminkristalle wurden nun zu papierchromatographischen Versuchen verwendet. Zuvor sei aber kurz auf die von MAURER und STORCK 1935 entwickelte Primin-Bestimmungsmethode eingegangen.

#### b) Primin-Bestimmungsmethode von MAURER und STORCK

MAURER und STORCK bedienen sich bei ihrer Methode einer 1908 von NESTLER entdeckten Reaktion des Primins. NESTLER hatte festgestellt: „Wenn man zu dem mit Äther erhaltenen Rückstand des Sekretes . . . konzentrierte Schwefelsäure hinzutreten läßt, so werden die homogene Grundsubstanz und gelben Kristalle sofort gelöst, und zwar mit grünlichgelber Farbe, die gewöhnlich nach 5–6 Minuten in smaragd-dunkelgrün übergeht. Nach 10 Minuten, mitunter erst nach ½–1 Std. sieht man an manchen Stellen zahlreiche Nadeln von blauer Farbe, die sich allmählich entfärben und dann verschwinden.“

MAURER und STORCK wandten diese Reaktion in folgender Bestimmungsmethode an:

Ein Blatt wurde mit der Pinzette am Stiel angefaßt (um einen Verlust an Drüsenhaaren auf dem Blatt möglichst zu vermeiden), abgeschnitten, in eine Petrischale gelegt und dort mindestens 20 Min. bis zum

leichten Anwelken gelassen. Dann wurde das Blatt in einen Gooch-Tiegel gebracht, der Stiel abgeschnitten und das Blatt mit 2 × je 3 cm<sup>3</sup> reinem, durch metallisches Natrium völlig wasserfreiem Äther mittels Tropfpipette übergossen. Der Äther wurde auf einem Uhrglas aufgefangen, und nach teilweisem Verdampfen des Äthers wurden 10 kleine Tropfen, entsprechend 0,02 cm<sup>3</sup> reiner konzentrierter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (s = 1,84), hinzugegeben. 15 Min. nach der erstmaligen Zugabe wurden nochmals zwei weitere Tropfen Schwefelsäure zugefügt. Die Stärke der Reaktion wurde in regelmäßigen Abständen von anfangs 5, später 10 Min. nach der erstmaligen Zugabe von Schwefelsäure beobachtet bis 40 Min. nach der Zugabe. Das Schwefelsäure-Äthergemisch färbte sich im allgemeinen zuerst gelblich, dann smaragdgrün, und es traten dann schließlich die blauen Kristalle auf. Die Stärke und Geschwindigkeit der Blaufärbung waren ein Maß für die Stärke des Primin-Gehaltes des betreffenden Blattes. Mit dieser Methode konnten MAURER und STORCK mit 1–2 eingearbeiteten Kräften und einer gärtnerischen Hilfskraft an einem Tage bis zu 200, evtl. überschlägig bis zu 400 Pflanzen untersuchen. Durch Untersuchung von 32 Kultursorten in den Jahren 1934 und 1935 (weitere Untersuchungen wurden angekündigt) stellten sie fest: „Der Giftgehalt der *obconica*-Sorten ist sehr wahrscheinlich ein sortentypisches Merkmal. Es gibt Sorten mit niedrigem und solche mit hohem Giftgehalt. Die *gigantea*-Sorten gehören zu den stark bis sehr stark giftigen Sorten.“

#### c) Papierchromatographische Untersuchung des Primins

Für einen papierchromatographischen Nachweis des Primins schien von vornherein eine Schwierigkeit gegeben, nämlich die Wasserunlöslichkeit des Stoffes. Zumindest war ihm diese Eigenschaft bisher zugeschrieben worden. Aber wir konnten nachweisen, daß das Primin, wenn auch nur in Spuren, doch wasserlöslich ist. Je 2–3 mg Primin wurden erstens unter Druck und Erhitzen, zweitens unter Erhitzen und drittens unter Schütteln und vierundzwanzigstündigem Stehenlassen in je 1 cm<sup>3</sup> Wasser zu lösen versucht. Beim Versuch Nr. 1 ging das Primin vollkommen in Lösung, fiel aber nach 1–2 Std. langsam wieder aus. Auch beim 2. Versuch ging ein Teil des Primins in Lösung, fiel aber ebenfalls beim Erkalten allmählich wieder aus. Beide Male war das Filtrat gelb gefärbt. Beim Versuch Nr. 3 konnte zunächst kein deutliches Lösen beobachtet werden, aber immerhin zeigte das Filtrat eine schwache Gelbfärbung. Das Filtrat des Versuches 3 wurde nun in einem Wattebausch aufgenommen und im dermatologischen Versuch geprüft. Die Versuchsperson, die sehr stark primelempfindlich war, reagierte positiv. Nach 8 Std. stellte sich eine schwache Rötung an der Stelle des Oberarms ein, wo der mit dem Filtrat getränkte Wattebausch aufgebracht worden war, ging aber, verbunden mit leichtem Juckreiz, in 3 Tagen wieder zurück. Zweifelsfrei handelte es sich hier nur um eine recht schwache, aber doch positive Reaktion, die zusammen mit der leichten Gelbfärbung des Filtrates auf eine schwache Löslichkeit des Primins schließen ließ. Damit war eine wesentliche Voraussetzung für die Papierchromatographie, die ja ein Verteilungsvorgang zwischen einer wäßrigen stationären und einer organischen beweg-

lichen Phase darstellt, gegeben. Allerdings war bei der geringen Wasserlöslichkeit des Primins mit einem hohen RF-Wert zu rechnen.

Die ersten Versuche wurden auf SS 598 G-Papier in aufsteigender und Rundfiltermethode durchgeführt. Als Substanzlösung wurden alkoholische oder ätherische Lösungen des Primins genommen und in der aufsteigenden Methode Mengen von 1 bis 100  $\gamma$ , in der Rundfiltermethode bis zu 500  $\gamma$  aufgetragen. Die Standardlösungsmittel von Phenol, n-Butanol, Eisessig, Pyridin, Propylalkohol, Isopropylalkohol, Methyläthylketon und anderen in verschiedenen Mischungen mit Wasser und untereinander zeigten das Primin in der Lösungsmittelfront oder bei RF-Werten über 0,8. Die ersten brauchbaren Ergebnisse mit RF-Werten zwischen 0,6 und 0,8 zeigten sich bei Azeton-Wassergemischen im Verhältnis von 35 zu 65 bis 60 zu 40. Bevor ein geeignetes Anfärbungsmittel gefunden war, bereitete die Erkennung des Primins auf dem Papier gewisse Schwierigkeiten. Ein Hilfsmittel der Erkennung war die gelbe Eigenfärbung des Primins, die herab bis zu 20  $\gamma$  noch schwach zu erkennen war. Eine, wenn auch umständliche, so doch sichere Methode war der Test mit ausgeschnittenen Papierstreifen, die der Versuchsperson auf den Oberarm aufgelegt wurden. Das ausgeschnittene Stück wurde mit Alkohol oder Äther leicht angefeuchtet und der Versuchsperson mittels eines Pflasters auf den Oberarm gebracht. Dort, wo in diesem Papierstück das Primin vorhanden war, zeigte sich mit Sicherheit nach 4 bis 8 Std. eine Rötung der Haut und Juckreiz. Eine dritte Kontrolle zur Feststellung der Priminflecke war die NESTLERSche Reaktion, die sich erfolgreich auf dem Papier anwenden ließ. Das ausgeschnittene Papier wurde auf einem Uhrglas mit Äther angefeuchtet und darauf einige Tropfen konzentrierter  $H_2SO_4$  geträufelt. Dort, wo sich das Primin befand, zeigte sich eine deutliche Gelb-Grün-Blaufärbung. Wurde nicht mit Äther, sondern mit Azeton angefeuchtet, so zeigte sich nicht erst eine Gelb-Grünfärbung, die langsam in blau überging, sondern es trat sofort eine deutliche Blaufärbung auf. Die Reaktion trat immer nach 1 bis 3 Minuten ein, nach etwa 10 bis 20 Minuten wurde das Papier von der Schwefelsäure aufgelöst.

Bei dem Entwickeln der Chromatogramme griffen wir zunächst wegen der reduktiven Eigenschaft des Primins auf die für reduzierende Zucker gebräuchlichen Anfärbemethoden zurück. Anilinphthalat, ammoniakalische Silbernitratlösung und T. T. C. zeigten jedoch nur ganz schwache Reaktionen und erwiesen sich als unbrauchbar. m-Phenylendiamin, Harnstoff und Benzidin waren ebenfalls nicht empfindlich genug. Durch eine Arbeit von O. TÖPPEL (1954) stießen wir auf die FISCHERSche Base, die TÖPPEL für die Sichtbarmachung verschiedener organischer Verbindungen (Ameisensäure und verschiedene ihrer Derivate, Aldehyde, Ketone, einige trihalogenmethyl-haltige Substanzen, verschiedene Heterozyklen und i. a. kupplungsfähige Substanzen) erstmalig erfolgreich verwendet hatte. Dieses 1887 von FISCHER zum ersten Mal durch Methylierung von  $\alpha$ -Methylindol dargestellte 1-3-3 Trimethyl-2-methylen-indolin, nach ihm FISCHERSche Base benannt, ist durch seine außerordentlich reaktionsfreudige Methylengruppe zu vielen in der Literatur beschriebenen Reaktionen befähigt.

Wie wir nun gefunden haben, reagiert die FISCHERSche Base auch mit dem Primin, und zwar unter Blaufärbung.

Das Papier wurde zur Sichtbarmachung der Priminflecke mit einer 1%igen alkoholischen Lösung der Base, die auf 100  $cm^3$  Lösung mit 1  $cm^3$  Bromwasserstoffsäure ( $D = 1,38$ ) versetzt worden war, besprüht. Dann wurde das Papier zur Entfernung des überschüssigen Reagens mit Heißdampf ausgeblasen und anschließend bei gelinder Wärme getrocknet. Nun wurde mit einem Gemisch aus gleichen Teilen 2n Soda- und 2n Ammoniaklösung nachgesprüht, abermals mit Heißdampf ausgeblasen und bei 100° getrocknet. Die Priminflecke erschienen tiefblau auf weißem Grund. Im aufsteigenden Chromatogramm waren 5  $\gamma$  Primin noch gut nachzuweisen. 1  $\gamma$  war noch ganz schwach zu erkennen. Die besten Reaktionen lagen zwischen 10 und 80  $\gamma$ . Über 100  $\gamma$  wurden die Flecke zu breit und zeigten Schwänze, so daß eine RF-Wertbestimmung nicht mehr möglich war.

Neben dieser FISCHERSchen Base versuchten wir ein zweites Indolderivat, und zwar 1-3-3 Trimethyl-5-methoxy-2-methylenindolin. Auch hier traten bei dem Ausblasen mit Heißdampf nach Besprühen mit der Soda-Ammoniaklösung die blauen Flecke des Primins deutlich hervor. Sie waren sogar noch kräftiger als bei dem ersten Entwickler. Aber schon bei langsamem Trocknen des Papiers färbte sich dieses trotz des vorausgegangenen gründlichen Ausblasens durch die Eigenfärbung des Reagens tief rot-violett, so daß nach vollständigem Trocknen die blauen Priminflecke kaum noch sichtbar waren. Deshalb war die Entwicklung mit dem ersten Indolderivat der letzteren vorzuziehen.

Der papierchromatographische Nachweis des reinen Primins aus ätherischer Lösung ist wie folgt zusammenzufassen:

|                       |   |
|-----------------------|---|
| Papier:               | 598 G Schleicher & Schüll   |
| Methode:              | aufsteigend   |
| Lösungsmittelgemisch: | Azeton-Wasser 45—55   |
| Laufzeit:             | 3 Std.  |
| Entwicklungsmittel:   | 1%ige alkoholische Lösung der FISCHERSchen Base versetzt mit ca. 1 $cm^3$ Bromwasserstoffsäure auf 100 $cm^3$ Lösung — Heißdampfausblasen — Trocknung bei gelinder Wärme — Gemisch zu gleichen Teilen aus 2n Soda- und 2n Ammoniaklösung — Heißdampfausblasen — Trocknung bei 100°. |
| Farbe der Flecke:     | blau  |
| RF-Wert:              | 0,77.   |

Nun wurde dazu übergegangen, mit vorbeschriebener Methode das Primin, das mittels Äther von einem Blatt, Kelch oder Stiel abgewaschen worden war, aus dieser ätherischen Lösung, die nun aber auch noch andere ätherlösliche Stoffe von der Oberfläche der Blätter bzw. Sprosse enthielt, nachzuweisen.

Die Bereitung und Einengung dieser Substanzlösung, aus z. B. einem Blatt, wurde so ausgeführt: Das Blatt wurde abgeschnitten, mit einer Pinzette über einem Trichter mit ätherfeuchtem Faltenfilter gehalten und in kleinen Portionen mit insgesamt 5—8  $cm^3$  Äther übergossen. Das Filterpapier wurde mit einigen

Tropfen Äther nachgewaschen. Das in einem Reagenzglas aufgefangene Filtrat wurde unter leichtem Schütteln möglichst schräg in einen heißen Fönstrom gehalten, wobei der Äther in 1—3 Min. vertrieben wurde. Dann wurde das Reagenzglas unter laufendem Wasser abgekühlt, wodurch sich die noch im Glas befindlichen Ätherdämpfe an der kalten Glaswand kondensierten und am Boden zu einem Tropfen zusammenflossen. Dieser Tropfen wurde mit einer Mikropipette aufgenommen und auf das Papier aufgetragen.

Die Untersuchung verschiedener Teile ein und derselben Pflanze auf ihren Primingehalt hin ergaben nun unerwartet große Unterschiede in quantitativer Hinsicht. Gleichzeitig wurden dadurch aber auch gewisse Schwierigkeiten in der Durchführung und die Grenzen der Anwendbarkeit der Papierchromatographie für die Priminbestimmung sichtbar. Qualitativ war immer ein Nachweis zu führen, sofern Primin vorhanden war. Aber es zeigten sich vor allem bei den Substanzlösungen aus jungen Blättern und Kelchen so hohe Priminwerte, daß ihr exakter chromatographischer Nachweis unmöglich wurde. Es traten Schwänze auf, die sich teilweise vom Startpunkt bis zu einem RF-Wert von 0,8 hinzogen und schätzungsweise einem Primingehalt von 300—500 und mehr  $\gamma$  entsprachen. Ein Primingehalt bis zu 50  $\gamma$ , z. B. aus älteren Blättern und Blattstielen, ließ sich dagegen gut nachweisen. Auf die Ursachen dieser starken Schwankungen im Primingehalt wird später näher eingegangen.

Der unerwartet hohe Primingehalt, mit dem man bei jungen Blättern sowie bei Kelchen zu rechnen hat, ist eine der Hauptschwierigkeiten für eine exakte papierchromatographische Erfassung des Primins. Wir wissen, daß die papierchromatographische Methode am besten mit Substanzmengen von 5 bis 30  $\gamma$ , evtl. bis zu 100  $\gamma$  arbeitet. Bei größeren Substanzmengen werden die Flecke zu groß, nicht mehr scharf abgegrenzt und bilden Schwänze, wie auch hier beim Nachweis des Primins beobachtet wurde. Diesen Schwierigkeiten konnte natürlich durch entsprechende Maßnahmen begegnet werden, die jedoch immer eine gewisse Komplizierung darstellen.

Da aber noch während der papierchromatographischen Arbeiten ein Versuch, das Primin mit Hilfe der FISCHERSchen Base direkt nachzuweisen, zur Ausarbeitung eines Primin-Schnelltestes führte, der für Serienuntersuchungen der papierchromatographischen Methode in jedem Falle überlegen war, wurde im Hinblick auf das Ziel der Arbeit an dem papierchromatographischen Nachweis nicht mehr weitergearbeitet.

#### d) Entwicklung einer Primin-Schnellbestimmungsmethode

Den Ausgangspunkt der Schnellbestimmungsmethode bildete folgender durch die Ergebnisse der Papierchromatographie nahegelegter Versuch.

Ein zusammengefaltetes Filterpapier mit einer Fläche von etwa 1 cm<sup>2</sup> wurde in Äther getaucht und dann mehrfach über ein Blatt gestrichen. Der Äther wurde im Fönstrom vertrieben. Dann wurde das Papier mit der alkoholischen Lösung der FISCHERSchen Base besprüht, bei 60 bis 70° getrocknet und mit der Ammoniak-Sodalösung besprüht. Nach der anschließenden Trocknung bei 100° zeigten sich an den Rändern des zusammengefalteten Papiers

schwache Blaufärbungen. In einer größeren Reihe von Versuchen wurde die Methode unter Abstellung folgender ihr noch anhaftender Nachteile zu einem in seiner Einfachheit und Sicherheit kaum mehr zu übertreffenden Schnelltest ausgearbeitet.

1. Die Reaktion auf dem zusammengefalteten Papier verteilte sich auf eine zu große Fläche und war nur in den Ecken und Kanten des Papiers eindeutig. Um eine mehr punktförmige Reaktionsfläche zu bekommen, wurden anstelle des Papiers kleine Wattekügelchen (Nr. 1 und 2 Fa. Paul Hartmann, AG. Heidenheim) vom Durchmesser 3 bis 8 mm genommen. Hierbei zeigte sich bei positivem Ausfall eine mehr oder weniger starke Blaufärbung, die sich ziemlich gleichmäßig über den kleinen Wattebausch verteilte und viel deutlicher anzusprechen war, als auf dem gefalteten Papier. Außerdem waren die Wattekügelchen besser mit der Pinzette zu fassen und ermöglichten ein schnelleres und vollkommeneres Abstreichen der Pflanzenteile.

2. Die Reaktion mit 1-3-3 Trimethyl-2-methylenindolin war nicht sehr stark und kam erst langsam beim Trocknen durch. Ganz entschieden besser und schneller ließ sich die Reaktion mit dem Indolderivat 1-3-3 Trimethyl-5-methoxy-2-methylenindolin durchführen. Damit setzte die Blaufärbung unmittelbar nach der alkalischen Besprühung ein und war in der Intensität etwa 10 bis 20mal stärker als in der Ausführung mit der FISCHERSchen Base. Da die Reaktion immer sofort beobachtet wurde, störte auch die starke, erst nach vollständigem Trocknen der Wattekügelchen langsam einsetzende Eigenfärbung (dunkelrot-violett) dieses Indolderivates nicht.

3. Für einen Schnelltest dauerte der ganze Reaktionsablauf mit 3 bis 5 Min. viel zu lange. Vor allem war das zwischenzeitliche und abschließende Trocknen des Wattebausches zeitraubend. Diese Nachteile wurden dadurch abgestellt, daß der Wattebausch nicht mehr erst in Äther, sondern gleich in die alkoholische Entwicklerlösung getaucht wurde. Ein Abstreichen der Pflanzenteile mit der alkoholischen Entwicklerlösung war möglich, weil das Primin auch in Alkohol löslich ist. Ferner wurde der Wattebausch nicht mehr im Trockenschrank, sondern direkt über einer Spargasflamme (im Laboratorium) oder Spiritusflamme (im Gewächshaus oder Freiland) getrocknet.

Die Zeit für die gesamte Durchführung eines Testes ließ sich damit auf 15—30 sec verkürzen.

Zusammenfassend ergab sich somit folgender Schnelltest<sup>1</sup>:

Eintauchen des Wattebausches in Lösung a (siehe unten).

Mehrmaliges Abstreichen des zu prüfenden Sproßteiles.

Kurzes Antrocknen des Wattebausches über der Flamme (nicht bis zur völligen Trockne).

Besprühung des Wattebausches mit Lösung b (siehe unten).

Kurzes Antrocknen über der Flamme.

Lösung a: 1%ige alkoholische Lösung von 1-3-3 Trimethyl-5-methoxy-2-methylenindolin versetzt mit ca. 1 cm<sup>3</sup> Bromwasserstoffsäure auf 100 cm<sup>3</sup> Lösung.

Lösung b: Gemisch aus gleichen Teilen einer 2n Ammoniak- und 2n Sodalösung.

<sup>1</sup> Der Schnelltest wurde bei dem Patentamt München angemeldet.

e) Brauchbarkeit und Anwendung der Schnellbestimmungsmethode

Mit der schnellen Durchführung einer Einzelbestimmung und der leichten Handhabung waren bereits zwei Voraussetzungen gegeben, die die Methode für Serienuntersuchungen brauchbar machten. Weitere wichtige Anforderungen an die Methode waren Zuverlässigkeit und Genauigkeit. Um sie auch daraufhin zu überprüfen, wurde die Schnellbestimmungsmethode an 3000 *Primula obconica* angewandt. Sie sprach bei allen 3000 Pflanzen an. Anhaftende Feuchtigkeit sowie Reste der an Stielen und Blättern haftenden Erdteile als auch Rückstände der Nährstoffdünger Phoskamon oder Amophos störten die Reaktion nicht, wogegen z. B. die NESTLERSche Reaktion der Methode von MAURER und STORCK bei der geringsten Spur von Feuchtigkeit versagte.

Neben den 3000 priminhaltigen Pflanzen wurden je 5 Pflanzen der im Abschnitt B, Seite 162 aufgeführten 10 priminfreien Arten untersucht. Die Reaktion war immer negativ. Diese Untersuchungsergebnisse sprechen für die qualitative Zuverlässigkeit der Methode.

Die quantitative Genauigkeit stellten wir zunächst mit bestimmten Mengen reinen Primins fest. Es wurden aus alkoholischen Lösungen bestimmten Gehaltes die Mengen 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 40, 50, 100, 150, 200 und 350  $\gamma$  reinen Primins auf Uhrgläsern aufgetragen. Nach Verdunsten des Alkohols wurden die Uhrgläser genau so wie die Pflanzenteile geprüft, indem sie mit einem in Lösung a (s. S. 165) getauchten Wattekügelchen abgestrichen wurden. Das Wattekügelchen wurde angetrocknet, mit Lösung b (s. S. 165) besprüht und wieder angetrocknet. Die Wattekügelchen von 4 bis 100  $\gamma$  Gehalt zeigten mit zunehmendem Primingehalt eine an Intensität zunehmende Blaufärbung. Außerdem trat die Blaufärbung mit steigendem Primingehalt schneller auf (2 bis 8 Sek.). Über 100  $\gamma$  waren keine Unterschiede in der Farbtintensität mehr zu erkennen. Die Kügelchen sahen so tief blau aus, als wenn sie in blaue Tinte getaucht worden wären. Gut nachweisbar waren auch noch 4  $\gamma$ . Unter 4  $\gamma$  wurden die Reaktionen sehr schwach, waren aber auch bei 1  $\gamma$  noch zu erkennen. Allerdings erwies es sich hier als notwendig, zur Kontrolle Wattekügelchen, die nur mit den Lösungen a und b behandelt worden waren, mit zu beobachten. Die mit dem Schnelltest noch eben nachweisbare Menge von 1  $\gamma$  erreicht vermutlich auch die Grenze der Toxizität. Dermatologische Versuche, die wir mit alkoholischen Lösungen von 1  $\gamma$  Gehalt Primin durchführten, riefen bei der sehr empfindlichen Versuchsperson nur noch eine kaum sichtbare Rötung der Haut hervor. Die Rötung war nach wenigen Stunden wieder verschwunden, Juckreiz und Bläschenbildung traten überhaupt nicht mehr auf.

In der Anwendung des Schnelltestes stellten wir, wie schon vorher mit Hilfe des papierchromatographischen Nachweises, fest, daß der Primingehalt zwischen den verschiedenen Teilen einer Pflanze, zwischen verschiedenen Pflanzen derselben Sorte und zwischen verschiedenen Sorten variiert. Wir bestätigen damit im großen und ganzen die Beobachtungen von NESTLER, BIRCHER, KLEIN u. TRÖTHANDL, HENNIG und MAURER u. STORCK; allerdings fanden wir auch einige abweichende und ergänzende Ergebnisse.

Nach den oben angeführten Autoren nimmt der Primingehalt einer Pflanze mit steigender Temperatur und Belichtung zu. Wir prüften 10 Pflanzen, die 6—7 Monate in einem sehr warmen (25—35°) und hellen, nie schattierten Gewächshaus gehalten worden waren, und beobachteten einen deutlich höheren Primingehalt als bei 10 Pflanzen derselben Sorte, die kälter und dunkler gehalten worden waren.

MAURER und STORCK bezeichneten die auch von ihnen untersuchten Sorten der MAYERSchen Züchtungen nach ihrem Primingehalt wie folgt: Bayernblut sehr stark, Königssee stark bis sehr stark, Schneelawine stark. Wir fanden mit der Untersuchung von 1300 Pflanzen Bayernblut, 300 Königssee und 300 Schneelawine dieselbe Reihenfolge in der Stärke des Primingehaltes. Die von uns mit 300 Pflanzen zusätzlich untersuchte neue MAYERSche Sorte, Lachsprinzessin, war in ihrer Giftigkeit der Königssee gleichzusetzen.

Was die Verteilung des Primingehaltes innerhalb einer Pflanze betrifft, so stellten KLEIN und TRÖTHANDL folgende Reihenfolge im Giftgehalt der einzelnen Organe auf (in absteigender Reihenfolge): Kelch, Blütenstiel, Kronröhre, Blattspreite, Blattstiel und Infloreszenzschafte. Wir konnten diese Reihenfolge im wesentlichen bestätigen. Nur bleibt hier eine von uns gemachte und unseres Erachtens gerade für die praktische Anwendung dieser Priminbestimmung recht wichtige Beobachtung nicht berücksichtigt, daß nämlich ein bedeutender Unterschied im Giftgehalt zwischen jungen und alten Blättern derselben Pflanze besteht, wie wir auch schon bei den papierchromatographischen Untersuchungen gefunden hatten. Wir stimmen hier ebenfalls nicht mit MAURER und STORCK überein, die mit ihrer Bestimmungsmethode zwischen den Blättern einer Pflanze keinen oder nur einen sehr geringen Unterschied im Giftgehalt feststellten. Nach unseren Beobachtungen an Hunderten von Pflanzen zeigte jede Pflanze einen sehr starken Unterschied im Primingehalt ihrer Blätter. Und zwar dürfte der Giftgehalt mit dem Wachstum des Blattes vom embryonalen Stadium bis zum Alter von einigen Wochen zunächst zunehmen, dann eine gewisse Zeit mehr oder weniger konstant bleiben, um schließlich mit weiterem Altern der Blätter wieder abzunehmen. Diesen Schluß müssen wir aus dem Ergebnis unserer Beobachtungen von Blättern in allen Stadien ziehen. Natürlich ist es nicht möglich, die genauen Grenzen des Giftgehaltes bezüglich des Alters und der Größe eines Blattes anzugeben. Wenn man ein und dasselbe Blatt ständig auf seinen Giftgehalt hin untersucht, werden durch Verletzung der Drüsenköpfchen beim Abstreichen mit der Testlösung die normalen Verhältnisse gestört, die wohl auch durch eine vielleicht mögliche Regeneration nicht genau wieder hergestellt werden können.

Ein weiterer wesentlicher Punkt sind die folgenden Beobachtungen. Wir wissen, daß die Drüsenhaare, die das priminhaltige Sekret enthalten, bereits im Embryonalstadium des Blattes angelegt werden und mit dem Flächenwachstum der Spreite lediglich auseinanderrücken. Es ist von den früheren Autoren schon beobachtet worden, daß die Köpfchen der Drüsenhaare nach einigen Monaten platzen, und daß das priminhaltige Sekret den z.T. schon kollabierten Haaren noch in Form von kleinen Schollen außen an-

haftet. Wir beobachteten darüber hinaus, daß dieses Sekret bzw. diese Sekrethsollen durch mechanische Einflüsse (Begießen, Berühren beim Verpflanzen und Ausputzen) abgestreift werden und dadurch der Primingehalt der Blätter selbstverständlich abnimmt. Dasselbe gilt natürlich für alle anderen Sproßteile. So beobachteten wir bei Samenträgerpflanzen, deren Infloreszenzen ständigen Berührungen beim Bestäuben der Blüten und beim Abnehmen der Samen ausgesetzt waren, daß deren Infloreszenzschäfte schwächeren Primingehalt hatten als die Schäfte von jüngeren unberührten Pflanzen.

Aufschlußreich ist auch eine weitere Beobachtung an einem Kelch: Bei einer Pflanze war ein Kelch unter einer Blattspreite gewachsen. An der Seite des Kelches, die der ständigen Reibung mit dem Blatt ausgesetzt war, wodurch die Drüsenhaare verletzt und das Primin abgestreift wurde, zeigte der Test keine Priminreaktion, wogegen die gegenüberliegende nicht verletzte Kelchseite eine einwandfreie starke Reaktion ergab.

Dermatologische Kontrollen bestätigten ebenfalls unsere Beobachtungen, daß ältere Blätter entschieden schwächer als junge Blätter oder andere Sproßteile reagierten.

Es sei ein solcher Kontrollversuch angeführt: Von ein und derselben Pflanze wurden zwei gleichgroße Teile (etwa 0,7 cm<sup>2</sup> groß) eines Kelches und zwei gleichgroße Teile (etwa 10 cm<sup>2</sup>) eines alten Blattes herausgeschnitten. Der eine Teil des Kelches wurde auf den rechten Oberarm der Versuchsperson mittels eines Pflasters aufgebracht, während der andere Teil mit dem Schnelltest geprüft wurde und eine starke Priminreaktion zeigte. Gleichzeitig wurde der eine Teil des Blattes auf den linken Oberarm aufgebracht und der andere Teil ebenfalls mit dem Schnelltest geprüft. Hier konnte nur eine ganz schwache positive Reaktion beobachtet werden. Die Kelch- und Blattteile auf den Oberarmen machten sich fast gleichzeitig nach 4 Std. durch leichtes Jucken bemerkbar. Sie wurden daraufhin entfernt und die Oberarmstellen mit Alkohol abgewaschen. Der linke Oberarm zeigte etwa in Größe des Blatteils eine schwache Rötung, die nach 2 Tagen wieder verschwunden war. Das Jucken hatte bereits nach 12 Std. aufgehört. Anders beim rechten Arm. Hier war die Rötung viel stärker, und das Jucken nahm zu. Nach 12 Std. war eine Blase entstanden, die dreimal so groß war wie das aufgetragene Kelchstück. Es dauerte 3 Wochen bis das Ekzem abgeheilt war und die Haut wieder normal aussah.

Die Beobachtungen, daß also ältere Blätter oder sonst öfter berührte andere Sproßteile weniger Primingehalt als junge Blätter oder nicht berührte andere Sproßteile haben, sind besonders für die Durchführung von Serienuntersuchungen von Bedeutung. Grundsätzlich dürfen nur solche Organe geprüft werden, die noch ihren ursprünglichen Primingehalt besitzen. Daß für vergleichende Untersuchungen verschiedener Pflanzen jeweils nur gleichwertige Teile untersucht werden dürfen, ist ja selbstverständlich.

Auf Grund unserer Erfahrungen empfehlen wir daher für Serienuntersuchungen das möglichst gleichstarke Abstreichen von jungen etwa 3 bis 5 cm langen und breiten Blättern oder, falls vorhanden, von Kelchen, die ja in ihrer Größe noch wesentlich besser übereinstimmen. Durch vergleichende Versuche mit

Priminlösungen bestimmten Gehaltes haben wir festgestellt, daß man bei drei- bis viermaligem Überstreifen über ein solches Blatt bei den untersuchten Sorten eine Priminreaktion bekommt, die ungefähr einem Gehalt von 30 bis 60  $\gamma$  entspricht und für Reihenuntersuchungen geeignet ist.

Wie unsere Untersuchungen an jungen Keimpflanzen weiter zeigten, gaben bereits die kleinsten Blätter 5 bis 12 Wochen alter Sämlinge eine eindeutige Priminreaktion. Damit ist also die Möglichkeit gegeben, mit dem geringsten Zeit-, Material- und Arbeitsaufwand unbegrenzte Mengen von Individuen zu prüfen. Gerade das aber ist eine wesentliche Voraussetzung für eine erfolgreiche Durchführung der Selektion auf Priminfreiheit, denn es muß ja mit der Notwendigkeit gerechnet werden, hunderttausend und mehr Pflanzen einer *obconica*-Sorte zu prüfen, bis eine priminarme oder priminfreie Pflanze gefunden wird. v. SENGBUSCH fand z. B. bei verschiedenen Lupinensorten je nach Sorte unter 20 000, 125 000 oder 340 000 je 1 Süßlupine. Beim Tabak war das Verhältnis zwischen nikotinfrei und nikotinhaltig etwa 1:50 000.

Mit Zahlen dieser Größenordnung wird man wohl auch bei *Primula obconica* rechnen müssen. Daß man tatsächlich mit dem Auftreten von priminfreien bzw. priminarmen Mutanten rechnen darf, wurde schon eingangs erwähnt. Noch mehr als bei dem Bitterstoff der Lupine und beim Nikotin des Tabaks wird man für das Primin der *P. obconica* annehmen dürfen, daß es nicht lebensnotwendig ist, da wir ja zahlreiche priminfreie Primelarten kennen und außerdem innerhalb der einzelnen von uns untersuchten 4 *obconica*-Sorten Schwankungen im Giftgehalt fanden.

Was die Leistungsfähigkeit des Schnelltestes betrifft, hat die Bearbeitung des umfangreichen Pflanzenmaterials gezeigt, daß es möglich ist mit dem Schnelltest 1000 bis 1200 Pflanzen pro Person an einem Tage zu untersuchen. Die 3 Arbeitskräfte, die MAURER und STORCK für die Untersuchung von 200 bis 400 Pflanzen am Tage benötigen, könnten mit unserem Schnelltest in einem Monat etwa 100 000 Pflanzen prüfen.

#### D. Zusammenfassung

Mit einem vereinfachten Isolierungsverfahren wurden aus 2500 *Primula obconica* 0,475 g reines Primin gewonnen. Als neue Eigenschaften des Primins wurden gefunden: Löslichkeit in Butanol, Eisessig, Phenolum liquefactum, Aceton, Benzin, Salpetersäure und Anilin (unter orange Färbung); Schwerlöslichkeit in Formaldehyd. Die bisherige Angabe der Wasserunlöslichkeit wurde widerlegt.

Ein papierchromatographischer Nachweis des Primins wurde gefunden, und zwar als blaue Flecke mit einem RF-Wert von 0,77, Papier SS 598 G, Lösungsmittel Aceton-Wasser 45—55, Entwicklungsmittel FISCHERSche Base.

Für die Auffindung priminfreier Mutanten der *Primula obconica* wurde eine Schnellbestimmungsmethode entwickelt, die es ermöglicht, in 15—30 sec den Primingehalt einer Pflanze qualitativ und quantitativ nachzuweisen. Die Methode beruht auf einer Reaktion des Primins mit 1-3-Trimethyl-5-methoxy-2-methylenindolin unter Blaufärbung und weist noch 1  $\gamma$  Primin nach.

Über den unterschiedlichen Primingehalt verschiedener Organe derselben Pflanze konnten genauere Angaben, als bisher in der Literatur angegeben, gemacht werden.

Der Großgärtnerei Robert Mayer, Bamberg, sei gedankt für die bereitwillige Überlassung des Pflanzenmaterials und den Farbenfabriken Bayer, Leverkusen, für die der Indolderivate.

#### Literatur

1. BIRCHER, W.: Experimenteller Beitrag zur Frage des Primelektzems. *Dermat. Z.* **45**, 271—288 (1925). — 2. BLOCH, BR. und P. KARRER: Chemische und biologische Untersuchungen über die Primelidiosynkrasie. *Vierteljahrsschr. naturf. Ges. Zürich* **72**, Beibl. 13, 26 S. (1927). — 3. COENEN, M.: Reaktionen heterocyclischer Verbindungen mit aktiver Methylen-Gruppe. *Angew. Chemie* **61**, 11—17 (1949). — 4. CRAMER, F.: Papierchromatographie. 2. A., Weinheim-Bergstr. (1953). — 5. EITEL, W.: Zur Frage der Primel dermatitis. *Med. Klin.* **23**, 837 (1927). — 6. GESSNER, O.: Die Gift- und Arzneipflanzen von Mitteleuropa. 2. A., Heidelberg (1953). — 7. HENNIG, K.: Untersuchungen über den Primingehalt verschiedener Primelarten. *Die Gartenbauwissenschaft* **9**, 427—431 (1935). — 8. KLEIN, G. und O. TRÖTHANDL: Nachweis, Verteilung und Verbreitung des Primelgiftes in der

Pflanze. *Beitr. Biol. d. Pfl.* **17**, 211—230 (1929). — 9. LINSKENS, H. F.: Papierchromatographie in der Botanik. Berlin-Göttingen-Heidelberg (1955). — 10. MAURER, E. und A. STORCK: Untersuchungen zur Züchtung einer giftfreien Primel vom „*Obconica*“-Typus. *Die Gartenbauwissenschaft* **10**, 1—50 (1936). — 11. MOLISCH, H.: Mikrochemie der Pflanze. 2. A., Jena (1921). — 12. NESTLER, A.: Die hautreizende Wirkung der *Primula obconica* HANCE und *Primula sinensis* LINDL. *Ber. dtsh. Bot. Ges.* **18**, 189—202 (1900). — 13. NESTLER, A.: Zur Kenntnis der hautreizenden Wirkung der *Primula obconica* HANCE. *Ber. dtsh. Bot. Ges.* **18**, 327—331 (1900). — 14. NESTLER, A.: Die hautreizende Wirkung der *Primula mollis* Hook. und *Pr. Avenstii* PAX. *Ber. dtsh. Bot. Ges.* **26a**, 468—475 (1908). — 15. PAECH, K.: Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe. Berlin-Göttingen-Heidelberg (1950). — 16. SENGBUSCH, R. v.: Bitterstoffarme Lupinen. *Der Züchter* **2**, 1—2 (1930). — 17. SENGBUSCH, R. v.: Bitterstoffarme Lupinen II. *Der Züchter* **3**, 93—109 (1931). — 18. SENGBUSCH, R. v.: Die Züchtung von nicotinfreiem und nicotinarthem Tabak. *Der Züchter* **3**, 33—38 (1931). — 19. SENGBUSCH, R. v.: Ein Beitrag zur Entstehungsgeschichte unserer Nahrungs-Kulturpflanzen unter besonderer Berücksichtigung der Individualauslese. *Der Züchter* **23**, 353—364 (1953). — 20. TÖPPEL, O.: Zur Rundfilter-Papierchromatographie. *Angew. Chemie* **66**, 555—557 (1954).

(Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Abteilung für Kulturpflanzenzüchtung, Hamburg-Volksdorf)

## Beiträge zur Qualitätszüchtung bei Nahrungs- und Futterpflanzen

### I. Grundlagen für die Züchtung von oxalatarmem Spinat \*)

Von W. HUHNKE, W. MONICKE, F. SCHWANITZ und R. v. SENGBUSCH

Mit 12 Textabbildungen

Der Spinat hat für die Versorgung der Bevölkerung mit Gemüse in Deutschland bisher nur eine verhältnismäßig untergeordnete Bedeutung gehabt. Dies beruht darauf, daß frischer Spinat in ausreichender Menge nur im Frühjahr in den Monaten April und Mai und im Herbst während der Monate Oktober und November zur Verfügung steht. Der Dosenspinat hätte an sich die Lücken im Verbrauch schließen können, die sich durch das Fehlen von frischem Spinat im Sommer wie im Winter ergeben. Seine Qualität ist jedoch so unbefriedigend, daß ein größerer Absatz bisher nicht in Frage kam.

Diese Verhältnisse beginnen sich durch die Einführung des Verfahrens des Tiefrierens von Gemüse grundlegend zu ändern. In den Ländern, in denen Gemüse in großem Umfang tiefgefroren wird, insbesondere in Schweden, steht der Spinat mengenmäßig an der Spitze der tiefgefrorenen Gemüsearten. Das bedeutet aber, daß die Bevölkerung hier das ganze Jahr über reichlich mit teils frischem, teils tiefgefrorenem Spinat versorgt ist. Eine ähnliche Entwicklung, wie sie sich in Schweden bereits vollzogen hat, ist für andere europäische Länder mit fortgeschrittener Zivilisation, insbesondere für Deutschland zu erwarten.

Damit aber würde der bisher geringe Verbrauch an Spinat auch bei uns beträchtlich ansteigen. Schädliche Stoffe, die im Spinat enthalten sind, werden dadurch in sehr viel größerem Umfange als bisher mit der Nahrung aufgenommen und können sich demgemäß in sehr viel größerem Maße als bisher auf die Gesundheit breiter Bevölkerungsteile auswirken. Zu diesen schädlichen

Inhaltsstoffen des Spinats gehören in erster Linie die freie Oxalsäure und die Oxalate. Die Menge dieser Substanzen ist beim Spinat ungewöhnlich groß, sie kann bis zu 16% der Trockensubstanz betragen. Tabelle 1 gibt den Oxalsäuregehalt verschiedener Nahrungspflanzen wieder (LEHMANN u. GRÜTZ 1953). Wenn freie Oxalsäure oder oxalsäure Salze in einer solchen Kon-

Tabelle 1. Der Gehalt an (freier und gebundener) Oxalsäure in verschiedenen Nahrungspflanzen.  
(Nach LEHMANN und GRÜTZ.)

| Gemüseart               | % Oxalsäure in Trockensubstanz nach der Veresterungsmethode |
|-------------------------|---|
| Salat, grün, Innenblatt | 0,00  |
| Salat, grün, Außenblatt | 0,00  |
| Weißkohl ohne N-Düngung | 0,00  |
| Weißkohl mit N-Düngung  | 0,00  |
| Rotkohl ohne N-Düngung  | 0,00  |
| Rotkohl mit N-Düngung   | 0,00  |
| Grünkohl                | 0,10—0,15   |
| Blumenkohl              | 0,19  |
| Kohlrabi, Knollen       | 0,07  |
| Kohlrabi, Blätter       | 0,07  |
| Porré                   | 0,12—0,19   |
| Kartoffeln              | 0,30  |
| Sellerie, Wurzeln       | 0,37  |
| Tomaten, grün           | 0,69—0,54   |
| Tomaten, rot            | 0,54—0,40   |
| Bohnen, weiß            | 0,00  |
| Bohnen, grün            | 0,61  |
| Zwiebeln                | 0,71—0,62   |
| Mohrrüben               | 0,97—1,16   |
| Zuckerrüben             | 1,28  |
| Rhabarber, Stiele       | 10,67—10,62   |
| Rhabarber, Blätter      | 8,38—8,05   |
| Spinat, junge Blätter   | 6,11  |
| Spinat, alte Blätter    | 16,22—16,28   |

\* ELISABETH SCHIEMANN zum 75. Geburtstag gewidmet.