

Aus dem Max-Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung Hamburg-Volksdorf
(Direktor: Prof. Dr. R. v. SENGBUSCH)

Eine Schnellmethode zur Gesamtoalatbestimmung in Blattgemüsen*

Von BÄRBEL NIEDIECK

Vergleichende Diätversuche zeigten, daß bei reichlicher Zufuhr oxalathaltiger Nahrungsmittel erheblich mehr kristallines Harnoxalat ausgeschieden wird als bei normaler oxalatarmer Kost. Eine „Überlastung“ des Organismus mit Oxalaten kann, bei vorliegender Disposition, zur Bildung von Nierensteinen beitragen (VON SENGBUSCH und TIMMERMANN 1957 a und b; NIEDIECK, VON SENGBUSCH und TIMMERMANN 1959).

LANG und RANKE (1950) berichten von Fütterungsversuchen an Ratten. Sie stellten nach einseitiger Spinatverfütterung schwere Calciummangelschäden fest. Orale Gaben von Kaliumoxalat hatten die gleiche Wirkung. Am Abbau des Knochencalciums ist zweifellos der hohe Anteil des löslichen, nicht an Calcium gebundenen Spinatoxalates maßgebend beteiligt.

Es kann an dieser Stelle nicht diskutiert werden, ob und in welchem Ausmaß die schädlichen Wirkungen der pflanzlichen Oxalate bei einer ausgeglichenen Kost zur Auswirkung kommen. Fest steht jedoch, daß der hohe Oxalatgehalt des Spinates einen wertmindernden Faktor darstellt. Die Züchtung oxalatarmer Spinatsorten wäre aus diesem Grunde eine lohnende Aufgabe im Rahmen der züchterischen Qualitätsverbesserung unserer Kulturpflanzen. Voraussetzung für die züchterische Arbeit ist eine Schnellmethode zur serienmäßigen Untersuchung von Einzelpflanzen. 1956 wurde über einen polarisationsoptischen Test zur Schnellbestimmung des ungelösten Calciumoxalates im Blattgewebe berichtet (HUHNKE, MONICKE, SCHWANITZ und VON SENGBUSCH 1956). Diese Methode gestattet die Durchsicht eines großen Pflanzenmaterials, hat aber den Nachteil, daß man nur den in seiner physiologischen Wirkung harmloseren unlöslichen Oxalatanteil erfaßt.

Der Oxalatgehalt des Spinates macht 4–16% der Trockenmasse aus. Nach eigenen Analysen liegen etwa 68% dieses Gesamtoxalates in löslicher Form vor. Um diesen Teil des Oxalates mitzuerfassen, sind wir zur Bestimmung des Gesamtoxalates übergegangen. Dabei bewährte sich eine Kombination des Analysenganges von BAKER (1952) mit der Dioxynaphthalinmethode von PEREIRA (1951).

Es wurde versucht, diese Bestimmung arbeitstechnisch soweit zu vereinfachen, daß sie für Serienuntersuchungen brauchbar ist. Der Analysengang wurde schrittweise gekürzt und abgeändert. Zur Kontrolle lief jeweils zu dem vereinfachten Gang ein ausführlicher parallel. Nach den Ergebnissen dieser Voruntersuchungen läßt sich die Methode von BAKER und PEREIRA ohne Verlust ihrer Spezifität für eine halbquantitative Serienuntersuchung wie folgt modifizieren:

Blattausstiche von 6 oder 8 mm Durchmesser werden in Reagenzgläser eingebracht, die man serienweise aus einer Bürette mit 2 ml 1 n Salzsäure füllt. Die

Gläser bleiben abgedeckt über Nacht, etwa 18 Std., stehen. Während dieser Zeit geht das Blattoxalat als Oxalsäure in Lösung. Für jede Probe muß eine Pipette und ein mit 12 mg Magnesium beschicktes Reagenzglas bereitgestellt werden. Nach 18stündiger Einwirkung der HCl werden je 4 Tropfen des salzsauren Extraktes mit einer Hütchenpipette entnommen und zur Reduktion der darin enthaltenen Oxalsäure auf das Magnesium aufgetropft. 15 Minuten später werden die Proben von einer anderen Hilfskraft per Bürette mit jeweils 2 ml Dioxynaphthalinlösung versetzt. Der Zusatz dieser Lösung, die 10 mg 2,7-Dioxynaphthalin in 100 ml konz. H₂SO₄ enthält, erfolgt langsam und bei Wasserbadkühlung. Anschließend läßt man die Probegläser in Gestellen 30 Minuten lang kochen. Die dabei entstehende violette Farbe geht in ihrer Intensität dem Oxalatgehalt der Probe parallel. Bonitiert wird mit Hilfe einer Farbskala.

Die wesentlichen Vereinfachungen dieser Methode sind folgende: Auf die Zerkleinerung des Blattgewebes kann verzichtet werden, wenn man Blattausstiche wählt, die genügend klein sind. — 18stündiges Verbleiben der Blattstücke unter HCl ersetzt den Kochprozeß der Extraktion. — Eine Enteiweißung mit Phosphorwolframsäure hatte keinerlei Einfluß auf Farbqualität und -intensität der Proben. — Überflüssig und bei den zur Verfügung stehenden Mikromengen unmöglich war ferner die Umfällung des Oxalates nach Neutralisation des salzsauren Auszugs. — Da die Magnesiumeinwaage eine Toleranz von ± 3 mg hat, kann man bei einiger Übung mit einem markierten Spatel die Magnesiummenge schätzen, wenn man zur Kontrolle jede 10. Probe wägt. — Die photometrische Bestimmung der Oxalsäurekonzentration aus den Extinktionswerten kann für die Massenselektion durch eine Bonitierung der Farbintensität ersetzt werden.

Mit dieser Technik können 3–4 Personen pro Tag ca. 500 Pflanzen analysieren. Da rein quantitativ die Leistungsfähigkeit des polarisationsoptischen Testes mit 2000 Untersuchungen pro Tag größer ist, soll diese Prüfung zur Massenselektion beibehalten werden. Mit der Dioxynaphthalinprobe kann man einen bestimmten Prozentsatz des großen Materials stichprobenartig kontrollieren, während man die züchterisch wertvollen Pflanzen ausschließlich diesem Test unterwirft.

Da bei der abgeänderten Methode anstelle von 60 g Blattmaterial nur 0,01 g für eine Analyse gebraucht wird, läßt sich die Bestimmung auch zur halbquantitativen Mikroanalyse verwenden. Andererseits macht es diese Tatsache unmöglich, die Genauigkeit der Einzelanalysen mit der alten Methodik zu kontrollieren. Es wurde deshalb so verfahren, daß mit der Schnellmethode je 100 Pflanzen untersucht wurden. Die 100 Blätter, aus denen die Blattausstiche entnommen waren, wurden gesammelt und nach der ausführlichen Methode von BAKER und PEREIRA untersucht. An Hand der Tabelle lassen sich die quantitativen Ana-

* Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

lysergebnisse mit den dazugehörigen Mittelwerten der Bonituren vergleichen.

Material	Mittelwert der Bonitur (Schnelltest)*	% Oxalsäure in Frischgewicht (quant. Best.)
Gewächshausspinat:		
4. Blatt von oben	9,1	0,802
Keimblatt	4,2	0,395
Freilandspinat:		
ältestes gr. Blatt	9,4	0,861
2. Blatt von oben	6,3	0,506
Junges Rübenblatt:		
„Eckendorfer Rote“	8,9	0,754
„Eckendorfer Gelbe“	9,2	0,812
Salat	2,0	
Blindprobe		0,000
(Chemikalienwert)	2,0	—

* Die Bonituren des verschiedenen Materials wurden auf gleiche Blattgewichte bezogen, da selbstverständlich nur Blattausschnitte gleicher Dicke, also ungefähr gleichen Gewichts, miteinander verglichen werden können.

Die gute Relation zwischen den Ergebnissen der ausführlichen und der gekürzten Methode bestätigt die Brauchbarkeit des Schnelltestes.

Literatur

BAKER, C. J. L.: *Analyst* (London) 77, 340 (1952). — HUHNKE, W., W. MONICKE, F. SCHWANITZ, und R. v. SENGBUSCH: Beiträge zur Qualitätszüchtung bei Nahrungs- und Futterpflanzen I. Grundlagen für die Züchtung von oxalatarmem Spinat. *Der Züchter* 26, 168—173 (1956). — LANG, K., und O. F. RANKE: Stoffwechsel und Ernährung. Springer 1950. — NIEDIECK, B., R. v. SENGBUSCH, und A. TIMMERMANN: Chemische und morphologische Untersuchungen am Harnoxalat des Menschen. *Urologia intern.* 7, 309—319 (1958). — PEREIRA, R. S.: *Mikrochemie* 36/37, 398 (1951). — v. SENGBUSCH, R., und A. TIMMERMANN: Das kristalline Calciumoxalat im menschlichen Harn und seine Beziehung zur Oxalatsteinbildung. *Urologia intern.* 4, 76—95 (1957). — v. SENGBUSCH, R., und A. TIMMERMANN: Die Bildung von Calciumoxalat-Mikrosteinen im menschlichen Harn und ihre Veränderung durch diätetische und medikamentöse Maßnahmen. *Urologia intern.* 5, 218—231 (1957).

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln-Vogelsang

Eine Methode zur Keimungsbeschleunigung bei *Rubus*-Samen

Kurze Mitteilung

Von GABRIELE BAUMEISTER

Mit 1 Abbildung

Bei allen bisher durchgeführten Versuchen zur Keimungsförderung von Himbeersamen stand die Erhöhung der Keimprozente im Vordergrund, das zweite Ziel war die Verkürzung der normalerweise mehrjährigen Keimungsdauer. FÜRSTAUERS Erfahrung (1940), daß mit einer einfachen Stratifizierung nie mehr als 10% der Samen in einem Jahr zur Keimung gebracht werden konnten, veranlaßte ihn, eine Brechung der Keimruhe mit chemischen, physikalischen und mechanischen Mitteln zu versuchen. Keine dieser Methoden erwies sich als erfolgreich, einzig die Verbesserung der Stratifizierungsmethode vermochte die Keimungsquote auf 33,6% im Durchschnitt zu erhöhen. Diese Versuche wurden richtungweisend für weitere Arbeiten auf diesem Gebiet. Man beschränkte sich zunächst nur auf den weiteren Ausbau der Kältestratifizierungsmethoden (SLATE 1944) und griff erst dann wieder auf chemische Methoden zurück, als sich zeigte, daß die Kältestratifizierung zwar die Keimprozente heraufsetzte, die Keimungsdauer aber nicht wesentlich beschleunigte.

Außer der Stratifikation wandte man Behandlungen mit Schwefelsäure oder auch Hypochlorit an (KRONENBERG 1953). Besonders gute Ergebnisse in der Erhöhung der Keimprozente wurden mit Kombinationen dieser Behandlung erreicht, die Mindestzeit bis zum Auflaufen der Samen konnte auf 5 Monate herabgesetzt werden. SCOTT und INK (1957) schalteten zwischen die Hypochlorit- oder Schwefelsäurebehandlung und die 3monatige Kältestratifizierung noch eine Wärmestratifizierung von 7—8 Wochen ein. Sie erhielten damit eine Keimung von 95,5% bei der schwarzen und von 54,5% bei der roten Himbeere, auch liefen die Samen gegenüber der nur stratifizierten Kontrolle wesentlich früher auf, doch die Gesamtzeit der Behandlungen umfaßte wieder fünf Monate.

Eine ähnliche Hypochlorit-Kältestratifizierungsmethode (nach einer mündlichen Mitteilung von DARROW) wird seit 1954 mit gutem Erfolg in unserem Institut angewandt. BAUER erzielte mit ihr bei einer Anzahl von Himbeersorten und -kreuzungen Keimungen bis über 90%. Der Nachteil liegt jedoch bei dieser Methode, ebenso wie bei den vorher besprochenen, in der fünfmonatigen Behandlungszeit.

Für die normale Prüfung der Kreuzungsergebnisse spielen diese fünf Monate Behandlungszeit keine Rolle, zumal sie nur mit einem geringen Arbeitsaufwand verbunden ist. Anders liegt jedoch der Fall, wenn man bereits in den Wintermonaten mit jungen Pflanzen arbeiten will, um sich z. B. einen schnellen Überblick über die Keimfähigkeit einer Sorte zu verschaffen, kurzfristige Tests durchzuführen oder auch auf schnellstem Wege virusfreie Futterpflanzen für Läusekulturen zu erhalten. Hier wurde die verhältnismäßig lange Keimdauer zu einem schweren Hindernis. Außer den langwierigen Stratifizierungen mußte eine andere Möglichkeit gefunden werden, die Samen frühzeitig aus ihrer Keimruhe zu bringen. Es lag nahe, wieder auf mechanische Methoden zurückzugreifen, zumal diese Behandlungen bei anderen schwer keimenden Samen erfolgreich waren. So berichten z. B. FISCHNICH und LÜBBERT (1955), daß sie bei Kartoffelsamen durch Verletzung des mikropylaren Endes des Samens und des Endosperms die Keimruhe unmittelbar nach der Ernte brechen konnten.

Zunächst wurde versucht, ob ein Anritzen der Samen bereits zu der gewünschten Keimung führen würde. Aber die Himbeersamen keimten nur langsam und unvollkommen, wie es nach den gleichartigen Versuchen FÜRSTAUERS (1940) zu erwarten war. Etwas besser wurde das Ergebnis, wenn man die Samen nach einer Hypochloritbehandlung ritzte. Ein Teil der