



Abb. 2. Lumineszenzintensität des Zigarettenrauch-Teers (in nA des Photomultipliers) in Abhängigkeit von der Zeit: $\times - \times - \times$ a. etwa eine Stunde alter Teer wird bei A mit Methanol versetzt, linker Maßstab, $\circ - \circ - \circ$ b. Rauch einer Zigarette durch Dimethylphthalat geleitet, rechter Maßstab.

Zugabe von Alkohol auf das 10-fache an. Leitet man den Rauch sofort durch ein organisches Lösungsmittel, wie Dimethylphthalat, erhält man eine mit jedem „Zug“ ansteigende Lumineszenz, die beim Abschalten des Rauchstroms erst in etwa 60 min auf den zehnten Teil ihres Ausgangswertes abklingt. Eine

Analyse der Kinetik der Lumineszenzabklingkurven ergab weder eine erste noch eine zweite Reaktionsordnung, was auf einen komplizierten Mechanismus der Erzeugung der angeregten Zustände deutet, die für die Lichtemission verantwortlich sind. Dies und die außerordentlich lange Abklingzeit lassen mit Sicherheit auf eine chemische Reaktion schließen, die erst nach dem Verbrennungsprozeß des Tabaks einsetzt. Sie muß Reaktionsschritte einschließen, die in der Lage sind, fluoreszenz- oder phosphoreszenzfähige Moleküle anzuregen.

Bei Berücksichtigung dieser Eigenschaft des Rauchteers ist damit zu rechnen, daß bei seiner Einwirkung auf biologische Substanzen auch Reaktionen elektronisch angeregter Moleküle stattfinden, wie sie sonst nur bei photochemischen Prozessen auftreten. Wegen der begrenzten Zeit, in der im Teer angeregte Moleküle erzeugt werden, müßten alle Aussagen, die aus Versuchen mit Rauchteer hergeleitet worden sind, überprüft werden, ob diese mit frischen Präparaten (bis zu etwa $3/4$ Sde. alt) gemacht worden sind oder nicht.

- ¹ E. L. Wynder u. G. Wright, *Cancer* **10**, 255 [1957].
- ² H. Druckrey, *Acta med. scand.* **170**, Suppl. 24 [1961].
- ³ H. Druckrey u. A. Schildbach, *Z. Krebsforsch.* **65**, 465 [1963].
- ⁴ Ph. Lazar, I. Chouroulinkov, C. Libermann u. M. Guérin, *J. nat. Cancer Inst.* **37**, 573 [1966].
- ⁵ G. Reske u. J. Stauff, *Z. Naturforsch.* **18b**, 774, [1963]; **19b**, 716 [1964].
- ⁶ G. Reske, *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* **13**, 913 [1963].

- ⁷ J. Maisin u. A. De Jonghe, *C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées* **117**, 111 [1934].
- ⁸ L. Santamaria, G. G. Giordano, M. Alfisi u. F. Cascione, *Nature [London]* **210**, 824 [1966].
- ⁹ B. L. Van Duuren, A. Sivak, A. Segal, L. Orris u. L. Langseth, *J. Nat. Cancer Inst.* **37**, 519 [1966].
- ¹⁰ J. Stauff u. J. Ostrowski, *Z. Naturforsch.* **22b**, 734 [1967].
- ¹¹ J. Stauff u. H. Fuhr, *Z. Naturforsch.* **26b**, 259 [1971].

Plating Efficiency of Protoplasts of Tobacco in Different Light Conditions

Gisela Enzmann-Becker

Max-Planck-Institut für Biologie, Abteilung Melchers, Tübingen

(*Z. Naturforsch.* **28c**, 470–471 [1973]; received May 5, 1973)

Protoplasts, intensity of light, calli, tobacco

Today there appears to exist no real difficulty for the isolation of protoplasts of plant cells. Protoplasts have been successfully cultured and have produced callus masses which can regenerate into whole plants¹. The conditions which proved to be suitable for the cultivation of protoplasts to calluses depend on the plant material (variety, growth conditions,

age of leaves a. s. o.), the culture medium, temperature and light conditions. We found that dimlight, especially in the first two days after isolation, increases the plating efficiency.

The protoplasts were isolated from leaves of *Nicotiana tabacum* var. „Samsun“ which were cultivated in a greenhouse with additional illumination (Osram Fluora; 21–8 o'clock) in autumn and winter. The leaves which had most recently expanded were used. The sterilized leaf pieces² were pre-incubated with pectin-glycosidase from *Aspergillus*, Rohament P* (Röhm GmbH, Darmstadt) as described³. The further isolation followed the two-step method⁴. The liberated cells were counted and the resulting number of the protoplasts per ml of medium was calculated (counts made with a haemocytometer). The cells were plated in agar with the medium described by Nagata and Takebe (1971)² and cultivated in a

Requests for reprints should be sent to Dipl.-Biol. G. Enzmann-Becker, Max-Planck-Institut für Biologie, Abteilung Melchers, D-7400 Tübingen, Corrensstr. 41.

* Sincere thanks are due to Röhm GmbH for the donation of the enzyme Rohament P and to Osram GmbH for a gift of fluorescence tubes.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Table I. Influence of different light intensity on colony formation.

Intensity of light [lux]	Protoplasts plated					
	$[6.7 \cdot 10^3]$ proto- plasts/ml	[100] %	$[1.5 \cdot 10^4]$ proto- plasts/ml	[100] %	$[1.4 \cdot 10^5]$ proto- plasts/ml	[100] %
Protoplasts grown to calli						
3000	$5.0 \cdot 10^2$	7.5	$4.7 \cdot 10^3$	47	32	0.02
400	$3.6 \cdot 10^3$	53.5	$3.8 \cdot 10^3$	38	5.4	0.004
400 for 48 h	$4.6 \cdot 10^3$	67.5	$5.9 \cdot 10^3$	59	53	0.04

climate chamber at 28 °C, 85% relative humidity and continuous illumination with white fluorescent light (Belalux, Osram GmbH *), 20 tubes/m², distance from the object 110 cm and intensity approximately 3000 lux. After three weeks of culture the grown colonies were resuspended with liquid medium and the colonies per 0.1 ml of the resulting suspension were counted and the plating efficiency was calculated.

One factor which influences the plating efficiency of protoplasts has been shown to be the intensity of the illumination during the first two days of culture following isolation. The effects of different illumination in the development of calli are compared in Table I. One fraction of the protoplast preparation was continuously maintained in 400 lux. Another fraction (the control) was continuously maintained in 3000 lux, and the third fraction was maintained in 400 lux during a period of 48 hours and was then transferred to 3000 lux. Cultures maintained three

weeks in 3000 lux containing $6.7 \cdot 10^3$ protoplasts per ml medium showed a plating efficiency of 7.5% ($5.0 \cdot 10^2$ calli/ml). Cultures with the same cell density but continuously maintained in 400 lux showed a plating efficiency of 53.5% ($3.6 \cdot 10^3$ calli/ml). However, an intensity of 400 lux given for 48 hours followed by an intensity of 3000 lux increased the plating efficiency to 68% ($4.6 \cdot 10^3$ calli/ml).

If the protoplasts are plated in higher densities, $1.5 \cdot 10^4$ and $1.4 \cdot 10^5$ cells per ml medium respectively, the difference between the plates which were kept at 3000 lux and the plates which were kept for 48 hours at 400 lux decreased but was still present (Table I). These observations imply that the dim-light given during a period of 48 hours after isolation of the protoplasts promoted the plating efficiency.

I would like to thank Professor Dr. G. Melchers for support and helpful discussions.

¹ J. Takebe, G. Labib, and G. Melchers, *Naturwissenschaften* **58**, 318 [1971].

² T. Nagata and J. Takebe, *Planta* **99**, 12 [1971].

³ L. Schilde-Rentschler, *Z. Naturforsch.* **27b**, 208 [1972].

⁴ J. Takebe, Y. Otsuki, and S. Aoki, *Plant and Cell Physiol.* **9**, 115 [1968].

Über Flavon- und Anthrachinon-Farbstoffe der *Digitalis*-Arten, V¹

Die Struktur von Digiferrol und Digiferruginol

About Flavone and Anthraquinone Pigments of *Digitalis*

The Structure of Digiferrol and Digiferruginol

Sedat Imre und Lale Ersoy

Pharmazeutische Fakultät der Universität Istanbul, Türkei

(*Z. Naturforsch.* **28 c**, 471–473 [1973]; eingegangen am 3. April 1973)

Anthraquinones, synthesis, structure

Vor kurzem hatten wir über zwei neue Anthrachinon-Farbstoffe aus den Blättern von *Digitalis*

jerruginea berichtet¹. Ihre Konstitutionen waren mittels UV-, IR- und NMR-Spektroskopie als 1.4-Dihydroxy-3-hydroxymethylantrachinon (= DF – A₂) und 1-Hydroxy-3-(oder-2-)hydroxymethylantrachinon (= DF – A₃) aufgeklärt und wir hatten für diese neuen Naturstoffe die Namen Digiferrol und Ferruginol vorgeschlagen. Da wir aber nachträglich festgestellt haben, daß der Name Ferruginol bereits einem Diterpen gegeben ist², möchten wir, um Verwirrungen zu vermeiden, die Bezeichnung von (DF – A₃) als Digiferruginol revidieren.

Zum endgültigen Strukturbeweis haben wir nun die in Frage kommenden Anthrachinone synthetisiert und mit den Naturstoffen verglichen.

Sonderdruckanforderungen an Doz. Dr. S. Imre, Pharmazeutische Fakultät der Universität Istanbul, *Beyazit-Istanbul*, Türkei.