

# Über die Wirkung des Hexachlorcyclohexanes auf die Mitose und das Streckungswachstum in der Wurzel einiger Koniferen

Von E. BRÜNIC

(Eingegangen am 27. 6. 1953)

Das Hexachlorcyclohexan, im folgenden HCH genannt, wurde durch Chlorierung von Benzol im Jahre 1824 von FARADAY zuerst dargestellt. Die insektizide Wirkung des HCH wurde um 1940 in Großbritannien und Frankreich entdeckt. Seitdem wird das HCH in zunehmendem Maße zur Bekämpfung von Schadinsekten verwendet.

Das durch Addition von sechs Chloratomen an den sechs Ecken des Benzolringes entstehende technische HCH enthält fünf Stereoisomere, die in der Reihenfolge ihrer Entdeckung mit den Buchstaben Alpha bis Epsilon bezeichnet werden. Als Durchschnitt kann angenommen werden, daß der Anteil der Isomeren am technischen HCH 60 bis 70% für Alpha, 10 bis 15% für Beta, 12 bis 15% für Gamma, 10% für Delta und 5% für Epsilon beträgt. Die Isomeren sind in Wasser nahezu unlöslich, gut löslich in Lipoiden und einigen organischen Lösungsmitteln. In den meisten Substanzen nimmt die Löslichkeit der Isomeren zu in der Reihenfolge: Beta, Alpha, Gamma, Delta. Wie die meisten schwerlöslichen Substanzen mit hohen Lösungsdrücken wird HCH an Oberflächen relativ gering adsorbiert.

Schon bald nach Einführung des HCH im Pflanzenschutz wurde über seine schädigende Wirkung auf die zu schützenden Pflanzen berichtet. Die Schäden wurden als Verbrennungen, Verätzungen oder Verdickungen beschrieben und auf die Wirkung der in den HCH-Präparaten vorhandenen Nebenbestandteile oder des Delta-Isomeres zurückgeführt (GAMBRELL and STRICKLAND 1950, HEIDENREICH 1951, HOCKING 1950, MÜNCHBERG 1949, SCHÖPFER und BEIN 1948, STELLWAAG 1950, STITT and EIDE 1948, WELLENSTEIN-BOMBOSCH-RUPPERT 1949). Diese Erklärungen schienen der spezifischen Eigenart der Schäden und den physikalischen und chemischen Eigenschaften des HCH (RIEMSCHEIDER 1950) so wenig gerecht zu werden, daß der Verfasser im Jahre 1950 Untersuchungen über die Art der schädigenden Wirkung des HCH auf das Pflanzenwachstum an Keimlingswurzeln von Koniferen begann, über die im folgenden berichtet wird. Die Untersuchungen sollten zeigen, wie sich eine Behandlung mit HCH auf die Wachstumsfunktionen der Zellen auswirkt, welcher Bestandteil des technischen HCH der eigentlich phytozide und für die Schäden vornehmlich verantwortliche ist, und ob die einzelnen HCH-Isomeren in ihrer Wirkung neben quantitativen auch qualitative Unterschiede zeigen.

## Versuch 1

Es wurde die Wirkung der einzelnen HCH-Isomeren, eines Isomerengemisches und des technischen HCH auf die Wachstumsfunktionen von Kiefernwurzeln untersucht.

Weißer, tertiärer Sand wurde zu je 150 ccm mit 0,07, 0,30 und 0,60 mg/ccm zerriebenen Alpha-, Beta-, Gamma- und Delta-Isomer, 0,60 mg/ccm Isomerengemisch und 4 mg/ccm Forstviton-Streumittel gründlich vermischt und in Glashäfen gefüllt. Das Isomerengemisch enthielt einen Anteil der Isomeren, wie er im technischen Rohprodukt vorliegt. Die 4 mg/ccm Forstviton-Streumittel enthielten 0,60 mg/ccm Gesamtwirkstoff. Für jede Reihe wurden zwei Glasgefäße

mit je 75 vier Wochen alten Kiefern sämlingen bepflanzt, von denen während der ganzen Versuchsdauer täglich um 9.00 Uhr einige Sämlinge entnommen, mit JUEL II fixiert und die Wurzelspitzen nach der Karminessigsäure-Methode untersucht wurden. Am 5. Tag wurden je Schale 15 Pflanzen entnommen, fixiert, in Paraffin eingebettet, die Wurzelspitzen 5  $\mu$  dick geschnitten, die Schnitte mit Alaunhämatoxylin nach EHRLICH gefärbt und mit Salzsäurealkohol differenziert (KISSER 1926, LEVAN 1947).

Vierundzwanzig Stunden nach dem Auspflanzen waren in allen Versuchsreihen normale Teilungen zu beobachten. In den Reihen mit 0,60 mg/ccm Forstviton-Streumittel, Isomerengemisch und Delta-Isomer waren die Mitosen zahlreicher als in den übrigen Reihen.

Am zweiten Tag traten bei 0,60 mg/ccm Forstviton-Streumittel, Isomerengemisch und Delta-Isomer einzelne multipolare Spindelfiguren in der Anaphase und einige Mitosen ohne Ausbildung einer Spindel mit in der Metaphase X-förmigen, ungeordnet über den ganzen Kern verstreuten Chromosomen auf. Nach Trennung der Chromosomen in der Anaphase entstanden tetraploide, nach weiteren Teilungen später okto- und höhergradig polyploide Kerne.

Am fünften Tag waren die sich teilenden Kerne bei 0,60 mg/ccm Forstviton-Streumittel, Isomerengemisch, Delta- und Gamma-Isomer fast sämtlich polyploid und die Teilungen sehr zahlreich. Die Zunahme der Mitosen wird nicht durch eine Stimulation, sondern durch eine Hemmung der Teilungsgeschwindigkeit verursacht, die eine Folge der großen Anzahl der Chromosomen und einer direkten Einwirkung des HCH auf den Mitoseablauf zu sein scheint. Die Chromosomen waren bei Forstvitonstreumittel, Isomerengemisch und Delta-Isomer stark, bei Gamma-Isomer schwach verkürzt und verdickt. Die mit einer Liquefaktion der Matrix verbundene Kontraktion konnte schon in der Prophase beobachtet werden und erreichte ihren Höhepunkt in der Meta- und Anaphase mit einer Verkürzung der Chromosomen bis zu 50% der normalen Länge. Die durch Herabsetzung der Viscosität verursachte Liquefaktion der Matrix führte in der Metaphase zu Verklebungen und Zusammenballungen der Chromosomen, die sich in der Anaphase wieder auflösten. In diploiden Mitosen konnte die Chromosomenkontraktion in Kernen beobachtet werden, die sich zum ersten Mal seit Beginn der Behandlung teilten. In 0,07 und 0,30 mg/ccm Gamma- und Delta-Isomer waren die Mitosen vorwiegend noch diploid. In 0,30 mg/ccm Alpha-Isomer traten einige wenige Teilungsphasen mit gestörter Spindel auf. In 0,60 mg/ccm Alpha-Isomer überwogen die polyploiden Phasen. In den Reihen mit Beta-Isomer war in allen Konzentrationen ein Einfluß des HCH nicht festzustellen.

Am zehnten Tag waren die Wurzelspitzen in 0,60 mg/ccm Forstviton-Streumittel, Isomerengemisch und Delta-Isomer völlig polyploid, die Kerne in der Teilungszone stark vergrößert und durch Chromatinaustritt und Gruppenbildung der Chromosomen während der Mitose unregelmäßig geformt. In 0,60 mg/ccm Gamma-Isomer waren neben den

polyploiden noch einige wenige diploide Kerne vorhanden. Die polyploiden Kerne waren weniger unregelmäßig als in 0,60 mg/ccm Delta-Isomer. In den niedrigeren Konzentrationen des Delta- und Gamma-Isomeres nahmen die diploiden Kerne und diploiden Mitosen gegenüber den polyploiden zu. In 0,60 mg/ccm Alpha-Isomer war die Teilungszone mixoploid. In 0,30 mg/ccm Alpha-Isomer traten einige multipolare Spindelfiguren, jedoch keine Polyploidie mehr auf. In 0,07 mg/ccm Alpha-Isomer und in den Reihen mit Beta-Isomer waren auch am zehnten Tag die Mitosen normal (siehe Tab. 1).

Tabelle 1  
Polyploidisierender Effekt von HCH

Isomere	Konz. in mg/ccm	2. Tag	5. Tag	10. Tag
Alpha	0,07	—	—	—
	0,30	—	—+	+
	0,60	---	++	++
Beta	0,07—0,60	—	—	—
Gamma	0,07	—	++	++
	0,30	—	++	++
	0,60	---	+++	+++
Delta	0,07	—	++	++
	0,30	—	++	++
	0,60	---	+++	++++
L-Gemisch	0,60	---	+++	++++
F. V.-Strm.	0,60	---	++	++++
Kontrolle	—	—	—	—

--- = zahlreiche normale Mitosen  
 — = normale Mitosen  
 + = multipolare Spindelfiguren  
 ++ = Mixoploidie  
 +++ = überwiegend polyploid  
 ++++ = alles polyploid

Es zeigte sich, daß das Isomerengemisch mit nur 12% Gamma-Gehalt und 15% Delta-Gehalt eine Wirkung auf die Mitose ausübt, die stärker als die des Gamma-Isomeres und der des Delta-Isomeres etwa gleich ist. In Wasserkulturen späterer Untersuchungen wurde gefunden, daß die Mischung zweier Isomeren-Lösungen, die rein ohne Wirkung auf das Wurzelwachstum waren, eine Polyploidisierung hervorrief. Ebenso trat dieser Effekt ein, wenn eine Pflanze mit ungestörtem Wurzelwachstum aus der einen Lösung herausgenommen, abgewaschen und in die Lösung eines anderen Isomeres eingesetzt wurde. Dieser Synergismus der HCH-Isomeren wurde auch von MAYER bei Lösungen von Alpha-, Gamma- und Alpha + Gamma-Isomeren beobachtet (MAYER 1951).

In der Wirkung auf die Mitose waren die HCH-Isomeren, das Isomerengemisch und das technische HCH mit seinen Nebenbestandteilen qualitativ gleichartig. Unterschiede zeigten sich lediglich in der Stärke der Einwirkung in folgender Reihenfolge abnehmender Wirksamkeit: Forstviton-Streumittel, Isomerengemisch, Delta-, Gamma-, Alpha-, Beta-Isomer. Der geringe Unterschied zwischen dem technischen HCH und dem Isomerengemisch macht es wahrscheinlich, daß die Wachstumsbeeinflussung nicht durch die Nebenbestandteile des technischen HCH, sondern durch die Isomeren selbst hervorgerufen wird. Ein Zerfall der Isomeren in ein ebenfalls phytozides Trichlorbenzol ist für die vorliegenden Versuchsbedingungen (pH 5,2 in H<sub>2</sub>O) nicht anzunehmen.

Neben der Polyploidisierung durch HCH wurde eine Verdickung der Wurzelspitzen beobachtet. Vom fünften Tag an begannen in 0,60 mg/ccm Forstviton-Streumittel, Isomerengemisch, Delta- und Gamma-Isomer die Wurzelspitzen anzuschwellen.

Drei bis vier Tage später hob sich die verdickte Spitze von der übrigen, nicht verdickten Spitze deutlich in Form einer Keule ab. In 0,60 mg/ccm Alpha-Isomer und in den niedrigeren Konzentrationen des Delta- und Gamma-Isomeres schollen die Wurzelspitzen weniger stark an und zeigten Keulenbildung erst zwischen dem achten und fünfzehnten Tag. In den Reihen mit Beta-Isomer traten keine Verdickungen oder Keulen auf. Die histologische Untersuchung zeigte, daß die Keulen nicht durch Vermehrung, sondern ausschließlich durch Vergrößerung der Zellen in der Streckungszone entstanden waren. Bei leichter Anschwellung der Wurzelspitzen waren nur die Zellen der Wurzelhaube und des Rindengewebes vergrößert, bei stärkerer Keulenbildung griff die Vergrößerung der Zellen auch auf das Protohadrom über.

Die Bestimmung des osmotischen Wertes vergrößerter Rindenzellen ergab geringere Werte als die in HCH-behandelten, aber nicht vergrößerten, oder in unbehandelten Wurzelrindenzellen. Ein toxischer Effekt des HCH war an den aufgetriebenen Zellen mit geringeren osmotischen Werten nicht festzustellen.

In den Wurzelrindenzellen der Küchenzwiebel, bei der die Bestimmung einfacher ist als bei der Kiefer, betrug die osmotischen Werte in Mol/l KNO<sub>3</sub> nach zehntägigem Wachstum in 0,60 mg/ccm HCH 0,20—0,21 bei technischem HCH, Gamma- und Delta-Isomer (stärkere Keulen), 0,28 bei Alpha-Isomer (starke Verdickung), 0,30 bei Beta-Isomer (schwache Anschwellung) und 0,30 in der Kontrolle.

Obwohl die Keulenbildung einer Polyploidisierung kausal vorangehen oder nachfolgen kann, ist die hier beobachtete Keulenbildung eine Folge der Wirkung des HCH auf das Wachstum der Zellen, die von der polyploidisierenden Wirkung des HCH unabhängig ist, wie durch den folgenden Versuch bewiesen wird.

## Versuch 2

Humus-, ton- und schluffreicher Boden wurde mit Forstviton-Streumittel in Dosierungen von 0,007 bis 0,30 mg/ccm HCH begiftet und mit gut keimendem Kiefern Samen besät. Nach acht Wochen wurden die Pflanzen entnommen und nach der Karminessigsäure-Methode und der Paraffin-Alaunhämatoxylin-Methode histologisch untersucht. Außerdem wurden vier Wochen alte Kiefern sämlinge aus demselben Saatgut in denselben, mit den gleichen HCH-Konzentrationen begifteten Boden gepflanzt, nach fünf Tagen entnommen und wie o. a. untersucht.

Die gesäten Kiefern hatten in 0,03 mg/ccm HCH Keulen mit diploiden Kernen gebildet. Ab 0,09 mg/ccm HCH waren die Keulen der gesäten Kiefern polyploid. Die gepflanzten Kiefern waren ab 0,20 mg/ccm HCH polyploid, ohne daß Keulen gebildet worden waren. Einige Tage später kam es auch bei den gepflanzten Kiefern zur Keulenbildung, in den höheren HCH-Konzentrationen zuerst.

Da auch im Verlauf des normalen Wachstums, ohne Zusatz von HCH, Keulenbildungen durch Zellvergrößerungen und Zellvermehrungen bei ungestörter Mitose auftraten, ist anzunehmen, daß die Keulenbildung eine Wachstumsreaktion der Pflanze ist, die auf die verschiedensten, die Wachstumsfunktionen der Zelle störenden physikalischen und chemischen exogenen Reize erfolgt.

Von der fünften Woche ab traten an den Keulen der gesäten Kiefern Regenerationserscheinungen auf. Ohne daß die HCH-Konzentration des Mediums nachgelassen hatte, wurden die polyploiden Keulen von einer neuen Wurzelspitze mit normalen diploiden, z. T. auch tetra-

ploiden Mitosen durchbrochen. Die Größe und Anordnung der Zellen in den neuen Wurzelspitzen war mehr oder weniger normal, je nach der Konzentration des HCH und damit der Stärke der vorangegangenen Schädigung der Wurzel. Durch sehr hohe, toxische Konzentrationen des HCH wurden die Zellen des Rindengewebes und der Wurzelhaube, nach einer gewissen Zeit auch der Vegetationszone, unter Braunfärbung abgetötet. Eine Regeneration war dann natürlich unmöglich. Die Bildung neuer Wurzelspitzen, wie auch die in anderen Untersuchungen beobachtete Bildung mehr oder weniger normaler Nebenwurzeln dicht oberhalb der HCH-Keulen, kann nur durch eine Adaption der Pflanze an das HCH erklärt werden, über deren Natur wir kaum etwas wissen.

### Versuch 3

Die beobachteten, durch das HCH hervorgerufenen Anomalitäten der Mitose und des Streckungswachstums: multipolare Spindelfiguren, Spindelzusammenbruch, Kontraktion, Liquefaktion und Verkleben der Chromosomen, in späteren Untersuchungen unter gewissen Voraussetzungen beobachtete Stimulation des Längenwachstums, Anschwellung der Wurzelspitzen und Keulenbildung, wurden gleichartig auch an colchicinierten Kiefernwurzeln beobachtet und werden ebenfalls in der Literatur als Folge der Behandlung mit c-mitotischen Substanzen beschrieben. Auf eine Besprechung dieser Literatur muß wegen ihrer Fülle verzichtet werden. Es sei jedoch auf die Arbeiten von FERGUSON, LEVAN und ÖSTERGREN, insbesondere auf die Narkosetheorie c-mitotischer Substanzen von ÖSTERGREN, hingewiesen (FERGUSON 1939, LEVAN 1943, ÖSTERGREN 1944, ÖSTERGREN and LEVAN 1943).

Nach FERGUSON wird der reziproke Wert der Konzentrationsschwelle einer c-mitotischen Substanz in wäßriger Lösung, an der eine sichtbare biologische Wirkung beginnt, die Aktivität dieser Substanz genannt. Die Lage dieses Schwellenwertes zur maximalen Wasserlöslichkeit ergibt den Bereich der wirksamen Konzentrationen in wäßriger Lösung. Das Verhältnis Aktivitätsschwelle zur maximalen Löslichkeit ist der Maßstab für die thermodynamische Aktivität einer Substanz. Die thermodynamische Aktivität steht in Beziehung zur biologischen Wirksamkeit von Narkotika, Giften, Insektiziden, Bakteriziden und Fungiziden. Durch Berechnung der thermodynamischen Aktivität zahlreicher organischer Verbindungen fand FERGUSON zwei Gruppen biologisch wirksamer organischer Substanzen:

1. Die Wirksamkeit der Substanzen ist direkt korreliert mit ihren physikalischen Eigenschaften. Aktivitätsschwelle selten unter 0,1 der maximalen Wasserlöslichkeit. Die Werte für die thermodynamische Aktivität streuen daher wenig.
2. Gut lösliche Substanzen mit relativ niedriger Aktivitätsschwelle und einer thermodynamischen Aktivität unter 0,1.

Für c-mitotische Stoffe der Gruppe 1 wird vorwiegend eine indifferente, reversible physikalische Wirkung angenommen, für die der Gruppe 2 (Colchicin, Chloroform) vorwiegend eine spezifische chemische Wirkung auf das Atraktoplasma direkt oder auf das direkt oder indirekt an der Spindelsynthese beteiligte Fermentsystem (LEVAN 1939). OVERTON unterschied in seiner Narkosetheorie indifferente und basische Narkotika. Die indifferenten beeinflussen Lipide, die basischen bilden Verbindungen mit den Proteinen. Zwischen beiden Gruppen bestehen Übergänge. Beide Gruppen haben die gleiche Wirkung — Kontraktion

— trotz verschiedener Ansatzpunkte (ÖSTERGREN 1944). Nach ÖSTERGREN faltet sich das Alphaprotein bei Zusatz einer lipophilen Substanz genügend hoher Konzentration zur Betaform. Dieser Vorgang ist eine Art reversibler, intramolekularer Ausfällung durch die zwischen c-mitotischer Substanz und den lipophilen Seitenketten der Proteine bestehenden Anziehungskräfte. Äußerlich läßt sich eine Liquefaktion des Proteins erkennen. Durch diese intramolekulare Ausfällung werden die fibriformen Mizellen der Spindel korpuskular, und die Spindel löst sich auf. Die Chromosomen werden durch den gleichen Vorgang kontrahiert (ÖSTERGREN 1944).

Um einen Anhalt für die Art der Wirkung des HCH zu bekommen, wurden die Aktivitätsschwelle und, soweit möglich, die übrigen Schwellenwerte für Kiefernwurzeln festgestellt. Da die Löslichkeit der Isomeren in destilliertem Wasser sehr gering ist und auch die Schwellenwerte der wenig wirksamen Alpha- und Beta-Isomeren festgestellt werden sollten, wurde das Polyoxyäthylen-Derivat des Sorbitan-Monooleats Tween 80 als Lösungsvermittler verwendet, um die hydrophoben Gruppen des HCH abzusichern. Zwischen dem HCH und dem Tween 80 tritt eine Assoziationsverbindung ein, die sich bei der Anlagerung des HCH an Lipide löst und das HCH unverändert zur Wirkung kommen läßt.

Für die Konzentrationen bis zur maximalen Wasserlöslichkeit wurden 0,2 g jedes Isomeres zerpulvert in je 0,5 l aqua dest. gegeben. Nach acht Wochen war bei allen Isomeren eine erkennbare Abnahme des HCH nicht eingetreten, die Lösungen zwar gesättigt, die Konzentrationen jedoch sehr schwach. Für die höheren Konzentrationen wurden 5 g Tween 80 in einem Liter aqua dest. gelöst und  $500 \times 10^{-6}$  Mol. HCH jedes Isomeres (= 145 mg) je Liter in Aceton gelöst zugegeben. Das Aceton wurde durch Erwärmen im Becherglas wieder ausgetrieben. Das Gamma- und das Delta-Isomer blieben völlig gelöst, bei Alpha trat eine kaum erkennbare, bei Beta eine schwache Ausfällung des HCH ein. Eine Einwirkung des Tween 80 in der angegebenen Konzentration auf das Wachstum von Kiefern sämlingswurzeln war nicht festzustellen.

Von jedem Isomer wurden dann in Reagenzgläsern folgende Konzentrationen hergestellt: 500, 100, 50 und  $20 \times 10^{-6}$  Mol./l HCH mit Tween 80 gelöst und gesättigt,  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{10}$ ,  $\frac{1}{50}$  und  $\frac{1}{100}$  gesättigt in aqua dest. ohne Tween 80. Je Konzentration und Isomer wurden zehn etwa 5 cm lange Kiefernkeimlinge mit einem perforierten Papierscheibchen so befestigt, daß die Wurzeln völlig in die Lösung eintauchten.

In den ersten fünf Tagen waren die Mitosen wenig zahlreich. Daher wurden die Pflanzen erst nach elf Tagen entnommen und nach der Karminessigsäure-Methode auf c-Mitosen untersucht. Mit Hilfe der gefundenen ungefähren Schwellenwerte, die aus Tab. 2 entnommen werden können, läßt sich die thermodynamische Aktivität hinreichend genau berechnen. Die thermodynamische Aktivität ist hiernach für alle HCH-Isomeren über 0,1. Das bedeutet nach FERGUSON, daß die Wirkung des HCH vorwiegend eine indifferente physikalische ist.

In den letzten Tagen des Versuchs war eine leichte Anschwellung der Wurzelstreckungszone und beginnende Keulenbildung in allen Konzentrationen mit zwei oder mehr Kreuzen in Tab. 2 zu beobachten. Das späte Auftreten von Keulen hat wahrscheinlich seinen Grund in den veränderten Wachstumsbedingungen der Wasserkultur. Bei anderen, länger andauernden Versuchen in gesättigten Isomerenlösungen bildeten sich auch in Gamma und Delta

nach fünfzehn Tagen Keulen. Ein toxischer Effekt des HCH war auch in der stärksten Konzentration nicht festzustellen.

Tabelle 2  
Die c-mitotische Wirkung von HCH in wäßriger Lösung auf Kiefernkeimlingswurzeln

Konzentration	Alpha	Beta	Gamma	Delta	Forstviton-Streumittel
500 · 10 <sup>-6</sup>	++	+	+++	++++	++++
100 "	+	+-	+++	++++	++++
50 "	+	-	++	++	++
20 "	+-	-	++	++	++
gesättigt	-	-	+	+	+
1/2 · 10 <sup>-6</sup>	-	-	+-	+	+
1/10 "	-	-	-	+-	+-
1/50 "	-	-	-	-	(+)-
1/100 "	-	-	-	-	-
Thermodyn. Aktivität	1-2	ca. 100	0,5	0,1-0,5	0,1-0,05

- = normal  
+ = gestörte Spindel, schwache Chromosomenkontraktion  
++ = Mixoploidie, mittlere Chromosomenkontraktion  
+++ = vorwiegend polyploid, starke Chromosomenkontraktion  
++++ = alles polyploid, starke Chromosomenkontraktion

Es ist also anzunehmen, daß das HCH eine vorwiegend physikalische, narkotisierende Wirkung im Sinne ÖSTERGREN'S durch Eingehen einer Assoziationsverbindung mit den lipophilen Proteinseitenketten der Spindel und der Chromosomen und durch Lösung in den Zelllipoiden ausübt, die sich grundsätzlich von der spezifischen insektiziden Wirkung einzelner Isomere, insbesondere des Gamma-Isomeres, unterscheidet. Daneben ist eine Wirkung auf die Zellbausteine oder Zellenzyme denkbar, die mehr chemischer Natur ist und die oben angenommene indifferente physikalische Wirkung nicht notwendigerweise ausschließt. Für eine derartige Nebenwirkung spricht die Herabsetzung des osmotischen Wertes der durch HCH-Behandlung vergrößerten Zellen, die als Folge einer direkten oder indirekten Wirkung des HCH auf enzymatische Prozesse angesehen werden kann. Für andere c-mitotische und insektizide Substanzen wurden in der Literatur spezifische Wirkungen auf Enzyme verschiedentlich nachgewiesen (BAUCH 1948, DARLINGTON 1935, LANG und SIEBERT 1951, LETTRÉ 1951, PENNINGTON 1948).

Die an Kiefernwurzeln nach Behandlung mit HCH beobachteten Erscheinungen wurden in späteren Untersuchungen ebenfalls bei Douglasie, Fichte und Lärche gefunden. Die untersuchten vier Holzarten zeigten eine unterschiedliche Empfindlichkeit gegen HCH in folgender Reihenfolge zunehmender Empfindlichkeit: Kiefer, Douglasie, Lärche, Fichte. Unterschiede qualitativer Art wurden nicht beobachtet.

#### Zusammenfassung

1. Durch Untersuchung der Wirkung der Reinisomeren des HCH, des Isomerengemisches und des technischen HCH auf das Wachstum der Wurzelspitzen von *Pinus sylvestris*, *Pseudotsuga taxifolia* v. v., *Larix leptolepis* und *Picea Abies* wurde festgestellt, daß das HCH eine ähnliche Wirkung auf pflanzliche Wachstumsvorgänge ausübt wie Colchicin und andere c-mitotische Substanzen. Qualitative Unterschiede der Wirkung der Reinisomeren, der Isomerengemische und des technischen HCH wurden nicht beobachtet.

2. Die Schwellenwerte für eine beginnende biologische Wirkung der HCH-Isomeren in wäßriger Lösung wurden

an Kiefernwurzelspitzen bestimmt. Aus den gefundenen Werten wurde die thermodynamische Aktivität der HCH-Isomeren berechnet. Die Werte für die thermodynamische Aktivität lagen bei allen Isomeren über 0,1. Entsprechend wurde nach FERGUSON und ÖSTERGREN für das HCH eine vorwiegend indifferente, physikalische, narkotisierende Wirkung auf das Pflanzenwachstum angenommen, die sich grundsätzlich von der insektiziden Wirkung einzelner HCH-Isomeren unterscheidet.

#### Summary

Title of the paper: *Investigations on the effect of benzene hexachloride on the growth of root tips of some conifers.* —

1. By investigations on the effect of the pure isomeres of BHC, of the mixtures of isomeres and the crude BHC on the growth of root tips of *Pinus sylvestris*, *Pseudotsuga taxifolia* v. v., *Larix leptolepis* and *Picea abies* it was ascertained that the BHC affects the growth of plants in a similar way as Colchicin and other c-mitotic substances. Differences in quality between the effect of pure isomeres, of the mixtures and of the crude BHC have not been observed.

2. The range of efficient concentrations of BHC isomeres in aqueous solutions applied on root tips of *Pinus sylvestris* was determined. From the values obtained the thermodynamic activity of BHC isomeres was calculated. The figures representing the thermodynamic activity were over 0.1 in respect of all isomeres. A prevailing indifferent physical narcotic effect on plant growth according to FERGUSON and ÖSTERGREN was therefore assumed which fundamentally differs from the insecticidal effect of individual BHC isomeres.

#### Literatur

BAUCH, R.: Selektive Speicherung von Typaflavin durch die Nucleoproteide der Chromosomen. Biol. Zentralblatt 68, 113 (1948). — DARLINGTON, C. D.: Chromosome chemistry and gene action. Nature 149, 66 (1935). — FERGUSON, J.: The use of chemical potentials as indices of toxicity. Proc. Roy. Soc., London, Ser. B, 127, 387-404 (1939). — GAMBRELL and STRICKLAND: Control of White Grubs in nursery plantings. Journ. econ. Ent. 43, 550-552 (1950). — HEIDENREICH, E.: Das Gamma-HCH im Forst. Zeitschr. angew. Ent. 33, 321-328 (1951). — HOCKING, B.: On the effect of crude benzene hexachloride on cereal seedlings. Sci. agric. 30, 183-193 (1950). — KISSER, J.: Leitfaden der botanischen Mikrotechnik. Jena: Fischer. 1926. — KOSTOFF, D.: Induction of cytogenetic changes and atypical growth by HCH. Science 109, 467-468 (1949). — LANG, K., und SIEBERT, G.: Untersuchungen über Stoffwechselfvorgänge an isolierten Kernen. Biochem. Zeitschr. 322, 196-204 (1951). — LETTRÉ, H.: Über die Abhängigkeit der Colchicinwirkung von der Adenosin-triphosphorsäure. Naturwiss. 38, 547 (1951). — LEVAN, A.: Cytological phenomena connected with the root swelling caused by growth substances. Hereditas 25, 87-96 (1939). — LEVAN, A.: Studies on the camphor reaction of yeast. Hereditas 33, 457-514 (1947). — LEVAN, A., and ÖSTERGREN, G.: The mechanism of c-mitotic action. Hereditas 29, 381-443 (1943). — LEVAN, A., and STEINEGGER, E.: The cytological effect of chloroform and colchicin on *Allium*. Hereditas 33, 515-525 (1947). — MAYER, A.: Wachstumsbeeinflussungen durch die Reinisomeren des HCH. Mitt. biol. Zentralanst. Land- u. Forstw. 70, 98-103 (1951). — MÜNCHBERG, P.: Über das HCH und dessen vermeintliche Nachteile als Wirkstoffe von Pflanzenschutzmitteln. Nachr.-Blatt biol. Zentralanst., Braunschw. 1, 52 bis 56 (1949). — NYBOM, N., and KNUTSSON, B.: Investigations on c-mitosis in *Allium cepa*. Hereditas 33, 220-234 (1947). — ÖSTERGREN, G.: Colchicin mitosis, chromosome contraction, narcosis and protein chain folding. Hereditas 30, 429-467 (1944). — ÖSTERGREN, G., and LEVAN, A.: The connection between c-mitotic activity and water solubility in some monocyclic compounds. Hereditas 29, 496-498 (1943). — PENNINGTON, D.: Use of certain growth-inhibitors as tools in metabolic investigations. Nature 162, 661 (1948). — RIEMSCHEIDER, R.: Zur Kenntnis der Kontaktinsektizide. II. Pharmazie, 1. Erg. Bd., 9. Beih., 649-800 (1950). — SCHÖPFER, W. H., und BEIN, M.: Wir-

kung von isomeren HCH auf das Wachstum von Pisumwurzeln. *Experientia* 4, 147—149 (1948). — SCHWERTFEGER, F.: Die Anwendung von Hexamitteln zur Engerlingsbekämpfung. *Forstarchiv* 21, 56 bis 61 (1950). — SCHWERTFEGER, F.: Neue Untersuchungen zur Engerlingsbekämpfung. *Zeitschr. Pflanzenkrankh. u. Pflanzensch.* 57, 344—350 (1950). — STELLWAAG, F.: Gibt es Hexachlorpräparate ohne

Geruch und Geschmack? *Zeitschr. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz* 56, 27—31 (1949). — STITT and EIDE: New insecticides for Cabbage Maggot Control in Western Washington. *Journ. econ. Ent.* 41, 865—869 (1948). — WELLENSTEIN, G., BOMBOSCH, S., und RUPPERT, K.: Erfolgreiche Großbekämpfung des Engerlings. *Holz-zentralblatt* 80, Sonderdruck (1949).

(Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung —  
ERWIN-BAUR-Institut —, Institut für Bastfaserforschung, Niedermarsberg i. Westf.)

## Über somatische Rückmutationen bei einer schmalblättrigen Pflanze von *Ilex Aquifolium* L.

Von F. SCHWANITZ

(Eingegangen am 4. 7. 1953)

Von Herrn Studienrat Pirz in Niedermarsberg erhielten wir im Sommer 1952 einige Zweige von *Ilex Aquifolium* L., die alle Übergänge von kleinen schmalen lanzettförmigen Blättern mit glattem Rand und wenigen oder überhaupt keinen Stacheln bis zu den typischen Laubblättern der *f. vulgaris* dieser Art zeigten (Abb. 1—3).



Abb. 1. — Teil eines Chimärenzweiges von *Ilex Aquifolium* L. mit Übergängen von der für den beschriebenen Baum charakteristischen schmalen stachellosen Blattform bis zu der typischen Blattform der *f. vulgaris*.

Wie Herr Pirz uns freundlicherweise mitteilte, stammen diese Zweige von einer Pflanze von *Ilex Aquifolium* aus einem Garten in der Walburger Straße in Soest (Garten Dr. WEISSPFENNIG). Es handelt sich hier nach den Angaben von Herrn Pirz um einen ca. 80 bis 100 Jahre alten Baum, der eine Höhe von etwa 5 bis 6 m und in 1 m Höhe einen Stammumfang von 80 cm hat.

Der Baum ist an und für sich schmalblättrig, es findet sich an ihm jedoch eine größere Anzahl von (ca. 30 bis 50) Zweigen mit Rückschlägen zur Normalform.

Die Blätter dieser Rückschlagszweige zeigen, wie bereits gesagt, alle Übergänge von der für diesen Baum typischen

Form mit langen, schmalen, nicht oder nur schwach mit Stacheln besetzten Blättern bis zu der Normalform. Hierbei finden sich nicht selten Blätter, deren eine Längshälfte beträchtlich größer ist als die andere (Abb. 3). Für diese Blätter ist es charakteristisch, daß, ähnlich wie dies bei den schmalen Blättern der Fall ist, auf der schwächer entwickelten Blatthälfte die Seitennerven völlig fehlen oder doch sehr schwach entwickelt sind.

An den uns zur Verfügung stehenden Zweigen befanden sich reife Früchte. Hierbei konnten wir feststellen, daß Früchte normaler Größe und mit normal entwickelten keimfähigen Samen nur an solchen Zweigen zu finden waren, deren Blätter der Normalform von *Ilex Aquifolium* entsprachen. An Zweigen, deren Blätter in Form und Größe etwa in der Mitte zwischen der für diesen Baum charakteristischen schmalen Blattform und dem Blatt der Normalform von *Ilex Aquifolium* lagen, saßen wesentlich kleinere Früchte mit kleinen tauben Samen. An den Zweigen mit den für diesen Baum typischen schmalen Blättern waren keine Früchte vorhanden.



Abb. 2. — Drei verschiedene Blätter von einem Chimärenzweig. — Links: schmales stachelloses Blatt, — in der Mitte: intermediäre Blattform, — rechts: typische Blattform der *f. vulgaris*. — Obere Reihe: Früchte von einem Zweig mit intermediären Blättern (Mitte) und von einem Zweig mit Blättern, die der *f. vulgaris* entsprechen (rechts).