

Internationale Monatszeitschrift für angewandte Atomenergie in Technik, Industrie, Naturwissenschaften, Medizin einschließlich Biophysik und Strahlenschutz unter besonderer Berücksichtigung der Raumfahrtforschung und -technik

Hauptschriftleiter: Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. E. H. Graul, 355 Marburg/Lahn, Lahnstraße 4 a

Verlag G. Braun, 75 Karlsruhe 1, Karl-Friedrich-Straße 14—18 · Postfach 1709 · Telefon: ★26951 · Telex: 7826 904 vgb d

Wirkung ionisierender Strahlen auf den Atmungsstoffwechsel keimender Samen

Von A. Amberger und A. Süß

Aus der Bayerischen Landesanstalt für Bodenkultur, Pflanzenbau und Pflanzenschutz München (Direktor: Dr. H. R. Mayer) und dem Institut für Pflanzenernährung Weihenstephan der TH München (Direktor: Prof. Dr. A. Amberger)

Auf Grund zahlreicher Versuchsergebnisse zeigen Körner nach Bestrahlung mit geringen Dosen ionisierender Strahlen neben negativen Wirkungen auch Wachstumsförderungen, die selbst in der frühen Anfangsentwicklung der Sprosse z. T. noch deutlich erhalten bleiben [1, 2, 3]. In der Literatur vorliegende, teilweise recht unterschiedliche Daten deuten auf Schwierigkeiten in der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse hin. Physiologische Veränderungen im ruhenden bzw. keimenden Korn werden als primäre und sekundäre Folgeerscheinungen eines strahlenbiologisch

wirksamen Elementaraktes oder -treffers in den Zellen ausgelöst. Die physiologischen Probleme der Bestrahlung liegen daher zunächst auf Zellebene [4]. Reine Enzyme sind z. T. außerordentlich strahlenresistent und können daher in vitro nur durch eine hohe Strahlendosis beeinflusst werden [5], dagegen werden verschiedene Atmungsenzyme in Pflanzen schon durch geringere Dosen deutlich beeinflusst [6, 7, 8]. Es wird eine Wirkung der Bestrahlung über bestimmte Redoxsysteme und Wachstumsregulatoren auf das Pflanzenwachstum vermutet [7].

In unseren Versuchen wurde die Wirkung radioaktiver Strahlen im Dosisbereich von 1–100 R auf Keimung und Anfangsentwicklung sowie auf Vorgänge im Atmungsstoffwechsel von keimenden Gerstenkörnern untersucht.

Versuchsanstellung und Methodik

Sorgfältig ausgesiebes Gerstensaatzgut (Sorte Union) wurde 5 Minuten in 0,1% iger Formalinlösung gekeimt, nach dem Trocknen in Polyäthylenbeutel eingeschweißt und einer Caesiumquelle (Dosisleistung 72,4 R/min) ausgesetzt. Unmittelbar nach der Bestrahlung wurden je 100 Körner in Quarzsand in Kunststoffschalen mit 6 Parallelen ausgelegt und in der Klimakammer bei 10° C und 70% relativer Luftfeuchtigkeit gehalten. Nach dem Aufgang der Keimpflanzen wurden pro Schale 0,5 g N, 0,5 g P₂O₅ und 1,0 g K₂O als Nährlösung verabreicht. Die physiologischen Untersuchungen wurden nach 6 bzw. 10 Tagen vorgenommen. In dieser Zeit erreichten die Keimlinge eine Länge von 5 bzw. 20 mm.

Bezüglich der Aufbereitung des Pflanzenmaterials für die biochemischen Untersuchungen darf auf die vorausgegangenen Arbeiten von A. Amberger und Mohamed M. El-Fouly [9] hingewiesen werden. Die SH-Gruppen wurden nach der Methode von R. Grunert und P. H. Phillips [10] durch Extraktion mit Sulfosalicylsäure, Anfärbung mit Nitroprussidnatrium und Messung im Spektralphotometer bei 520 m μ bestimmt. Diese Methode besitzt eine hohe Spezifität für SH-Gruppen. Die Bestimmung der Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure erfolgte nach W. Franke [11], die Aktivität der Ascorbinsäureoxidase wurde manometrisch im Warburgapparat ermittelt.

Ergebnisse

1. Keimung und Anfangsentwicklung der Sprosse

H. Glubrecht und A. Süß [2] konnten an Sommergerstensamen eine Förderung des Keimungsbeginnes je nach Höhe der Strahlendosis beobachten. Im Durchschnitt von drei Versuchsjahren erfolgte das Durchbrechen der Primärwurzeln am raschesten bei einer Dosis von 10 R (Tabelle 1).

Die Keimbeschleunigung durch 1 R und 10 R ist mit $p = 0,01$ (F-Wert = 7,61) statistisch gesichert. Mit Zunahme der Keimdauer konnte ferner eine Abnahme der Strahlenwirkung (gemessen am Durchbrechen der Primärwurzeln) beobachtet werden; das heißt, der anfänglich festgestellte Stimulationseffekt wurde zunehmend geringer.

Die Beschleunigung des Keimprozesses ergibt für den Keimling einen gewissen Entwicklungsvorsprung, der im Anfangswachstum, insbesondere an der Trockensubstanzbildung ($p = 0,5$; F-Wert = 2,86) deutlich erkennbar ist (Tabelle 2).

Das Ausmaß der strahleninduzierten Förderung nimmt im weiteren Verlauf des Wachstums ab. Diese Abnahme ist am deutlichsten bei 10 R und am geringsten bei 100 R.

2. System Glutathion|Ascorbinsäure|Ascorbinsäureoxidase

O. James und Mitarbeiter [12] haben in den Wurzeln junger Gerstenpflanzen, L. W. Mapson [13] in Erbsenkeimlingen und anderen jungen Pflanzen ein Atmungssystem nachgewiesen, in

Tabelle 1. Durchbrechen der Primärwurzel nach 43 Stunden Keimdauer in Abhängigkeit von der Strahlendosis (Kontrolle: nicht bestrahlt $\hat{=}$ 100)

Strahlendosis		
1 R	10 R	100 R
108	114	104

Anzahl der Körner mit Primärwurzeln in der Kontrolle: 53

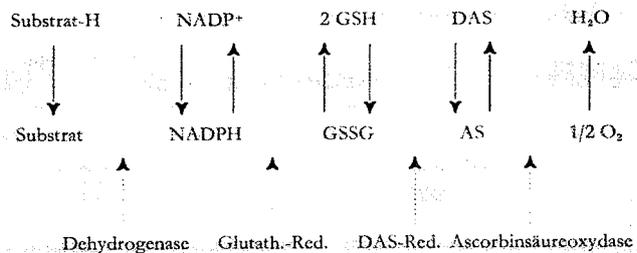


Abbildung 1 NADP = Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat; GSH, GSSG = red. bzw. oxyd. Glutathion; DAS = Dehydroascorbinsäure; AS = Ascorbinsäure

dem Glutathion und Ascorbinsäure sowie eine Reihe von Enzymen mit der Ascorbinsäureoxidase als Endoxidase beteiligt sind (Abbildung 1).

Der Substratwasserstoff wird durch eine Dehydrogenase auf NADP übertragen und dieses dabei reduziert. Von hier aus wandern die Elektronen auf das oxidierte Glutathion, das unter Mitwirkung der Glutathionreduktase reduziert wird. Nun übernimmt die Dehydroascorbinsäure (DAS) den Wasserstoff und wird zu AS reduziert. Durch die ASO wird schließlich der Wasserstoff am Sauerstoff der Luft unter Bildung von Wasser verbrannt.

Unsere Untersuchungen erstreckten sich auf Sulfhydrylgehalt, System Ascorbinsäure/Dehydroascorbinsäure (AS/DAS) sowie auf die Aktivität der Ascorbinsäureoxydase (ASO) im ruhenden bzw. keimenden Korn (nach 3, 6 und 10 Tagen).

a) System Glutathion|Ascorbinsäure während der Keimung: Der Gehalt an löslichen Thiolen liegt in ungekeimten Körnern bei etwa 18 γ SH/10 Körner (entsprechend 0,4 μ m SH- bzw. 180 γ -Glutathion) und steigt bis zum 10. Tage auf mehr als das Dreifache an. Vom 6. Tag der Keimung an (wenn die Primärwurzeln bereits entwickelt sind) nimmt der Gehalt an SH-Gruppen sprunghaft zu. Auf Grund der Arbeiten von F. G. Hopkins und F. E. Morgan [14] in verschiedenem Pflanzenmaterial macht das Tripeptid Glutathion bei weitem den größten Teil in diesem Pool der löslichen SH-gruppenhaltigen Konstituenten aus. Im ungekeimten Korn liegt die reduzierte Form AS etwa in gleicher Menge vor wie die SH-Gruppen, die oxidierte Form ist dagegen etwas niedriger. Im Verlauf der Keimung nimmt die AS in ähnlichem Maße zu wie die Thiole, die DAS dagegen wesentlich langsamer; damit verschiebt sich der Quotient AS/DAS stark zu Gunsten der reduzierten Form. Die ASO-Aktivität beträgt im ungekeimten Korn 51 μ l O₂/10 Körner, nach 10 Tagen dagegen 126.

b) Eine einmalige Bestrahlung lufttrockener Gerstenkörner wirkt sich auf den Gehalt der Samen an löslichen Thiolen sehr empfindlich aus (Tabelle 3). Schon eine Dosis von 1 R drückt den Gehalt auf 79% gegenüber der unbehandelten Kontrolle, 10 R auf 48% und 100 R sogar auf 39% herab. — Verfolgen wir nun den SH-Gruppengehalt nach einer einmaligen Bestrahlung im Verlaufe der ersten 10 Tage, dann zeigt sich, daß die Auswirkung der Bestrahlung zwar im ganzen Untersuchungszeitraum erhalten bleibt, die Unterschiede sich aber mit zunehmender Keimlingsentwicklung erheblich verringern. Während nämlich in ungekeimtem Zustand die durch Bestrahlung verursachte Depression 21, 52 bzw. 61% betrug, hat sich die Wirkung einer höheren Strahlendosis (10 R und 100 R) nach 6 Tagen bereits um 18 bzw. 9% abgeschwächt. Nach 10 Tagen betrug die Depression schließ-

Tabelle 2. Anfangsentwicklung der Sprosse 14 Tage nach Versuchsbeginn (Kontrolle: nicht bestrahlt $\hat{=}$ 100)

Strahlendosis		
1 R	10 R	100 R
105	104	104
106	105	104

Kontrollpflanzen: Frischgewicht 26,71 g; Trockengewicht 2,48 g

Tabelle 3. SH-Gruppengehalt von bestrahlten Gerstenkörnern

Entwicklungsstadium	Strahlendosis			
	0	1 R	10 R	100 R
I) nicht bestrahlt $\hat{=}$ 100 (Kontrolle)				
ungekeimt	100	79	48	39
Keime 5 mm	100	78	66	48
Keime 20 mm	100	90	74	72
II) ungekeimt (bei verschiedener Bestrahlung) $\hat{=}$ 100 (Kontrolle)				
ungekeimt	100	100	100	100
Keime 5 mm	142	139	194	176
Keime 20 mm	331	374	510	613

Tabelle 4. Gesamtvitamin-C-Gehalt von bestrahlten Gerstenkörnern (Kontrolle: nicht bestrahlt $\hat{=}$ 100)

Entwicklungsstadium	Strahlendosis		
	1 R	10 R	100 R
ungekeimt	92	85	75
Keime 5 mm	95	94	88
Keime 20 mm	100	93	94

lich nur mehr 10%, 26% bzw. 28%. Der Gehalt an Thiolen nimmt also in den bestrahlten Gruppen mit zunehmender Entwicklung der Keime bis zu 10 Tagen erheblich stärker zu als in der Kontrolle, erreicht allerdings deren absolute Werte in diesem Zeitraum nicht. — Die durch den Bestrahlungsvorgang mehr oder minder stark geschädigten Thiolverbindungen regenerieren sich in der Folgezeit offenbar entweder in gewissem Umfang, oder aber es kommt in der Zeit nach der Bestrahlung zu einer vermehrten Neubildung sulfhydrylhaltiger Stoffe.

c) System AS/DAS (Tabelle 4): Je nach Höhe der Strahlendosis verringert sich der Gehalt an Vitamin-C-wirksamen Substanzen des ruhenden Kornes auf 92, 85 bzw. 75%. Die Werte für die bestrahlten Körner kommen nach 6 Tagen schon nahe an die Kontrollgruppe heran, bei der letzten Untersuchung (nach 10 Tagen) liegen sie entweder auf gleicher Höhe oder nur noch um 7 bzw. 6% darunter. Der durch die Bestrahlung verursachte Rückgang an Vitamin-C-wirksamen Substanzen wird mit fortschreitender Keimung also relativ rasch und ziemlich vollständig behoben. Wesentlich wichtiger als der Gesamtvitamin-C-Gehalt ist aber im Sinne der eingangs geäußerten Überlegungen, in welchem Ausmaß die reduzierte bzw. oxidierte Form der Ascorbinsäure durch die Bestrahlung beeinflusst werden kann (Tabelle 5). — Der AS-Gehalt wird mit der Höhe der Bestrahlungsdosis nur um 7 bis 14% vermindert. Nach 6 Tagen hat es den Anschein, als wäre die Strahlenwirkung noch etwas verstärkt. Bei der nächsten Untersuchung nach 10 Tagen finden wir in der Gruppe 1 R aber bereits eine kleine Erhöhung gegenüber der Kontrolle, bei den

Tabelle 5. Gehalt an reduzierter bzw. oxidiertem Ascorbinsäure in bestrahlten Gerstenkörnern (Kontrolle: nicht bestrahlt $\hat{=}$ 100)

Entwicklungsstadium	Strahlendosis		
	1 R	10 R	100 G
Reduzierte Ascorbinsäure			
ungekeimt	93	90	86
gekeimt 5 mm	92	82	78
gekeimt 20 mm	106	92	89
Oxidierte Ascorbinsäure			
ungekeimt	90	79	60
gekeimt 5 mm	99	108	100
gekeimt 20 mm	102	109	125

anderen Gruppen ein allmähliches Angleichen der Werte an die Kontrolle. Der DAS-Gehalt wird dagegen durch die Bestrahlung zunächst wesentlich stärker beeinträchtigt; schon nach 6 Tagen liegen die Werte aber praktisch auf gleicher Höhe mit der Kontrolle, nach 10 Tagen, insbesondere bei höherer Strahlendosis, sogar deutlich darüber. Eine Bestrahlung beeinträchtigt also den DAS-Gehalt zunächst wesentlich stärker als den AS-Gehalt, die DAS-Kontrollwerte werden aber auch rascher erreicht bzw. sogar überschritten. Dagegen liegt der AS-Gehalt in den mit größerer Strahlendosis behandelten Keimpflanzen nach 10 Tagen noch um 8 bzw. 11% darunter.

d) Die Ascorbinsäureoxidase (Tabelle 6) wurde durch eine einmalige Bestrahlung stark geschädigt (79 bis 36% gegenüber der Kontrolle). Nach 6 Tagen erfolgt aber insbesondere in den Gruppen mit höherer Strahlendosis eine deutliche Regenerierung, bei der letzten Untersuchung ist bei 10 R und 100 R die Aktivität nur mehr um 20 bis 14% geringer als die der Kontrollgruppe.

Tabelle 6. Ascorbinsäureoxidaseaktivität in bestrahlten Gerstenkörnern (Kontrolle: nicht bestrahlt $\hat{=}$ 100)

Entwicklungsstadium	Strahlendosis		
	1 R	10 R	100 R
ungekeimt	79	62	36
Keime 5 mm	82	71	74
Keime 20 mm	100	80	86

Vergleichen wir zusammenfassend das Ausmaß der Wirkung einer einmaligen Bestrahlung mit verschiedener Dosis auf die untersuchten Glieder des oben skizzierten Atmungssystems, dann ergibt sich folgendes Bild:

Im ungekeimten Korn werden die Thiole durch die Bestrahlung sehr empfindlich getroffen (21 bis 61% Schädigung); in ähnlichem Ausmaß wird die ASO-Aktivität beeinträchtigt (21 bis 64% Depression). Die Regenerierung der ASO erfolgt innerhalb von 10 Tagen wesentlich schneller als die der Thiole. Der Gehalt an oxidiertem Ascorbinsäure wird durch die Bestrahlung zwar zunächst stärker vermindert als der der AS, am Ende des Untersuchungszeitraumes liegen aber sämtliche DAS-Werte deutlich über den Kontrollwerten, während die AS-Werte z. T. noch um 7 bis 11% darunter liegen.

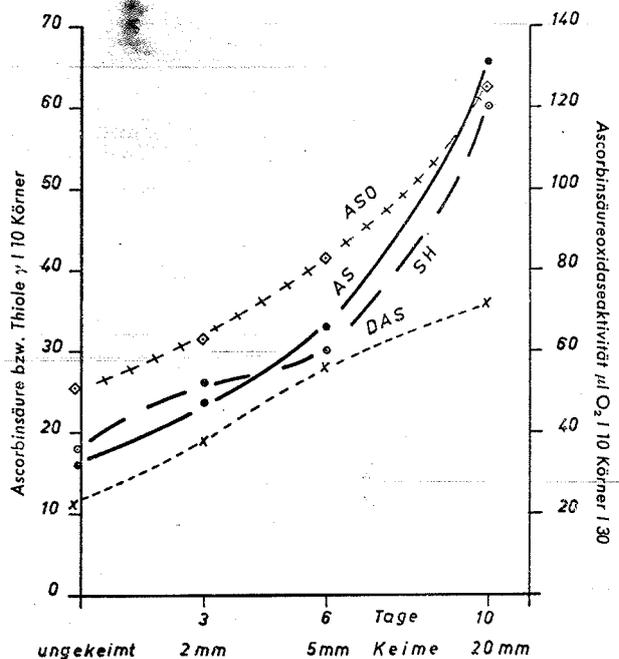


Abbildung 2. System Glutathion-Ascorbinsäure während der Keimung

Diskussion

Versuchen wir nun unsere Ergebnisse in das vorher aufgezeigte Atmungsschema (Abbildung 1) einzuordnen:

Auf Grund der Arbeiten von J. Weiss [15], D. E. Lea [16], E. S. Barron [17] u. a. werden unter dem Einfluß ionisierender Strahlen primäre Oxidationsvorgänge ausgelöst, die zu einer Ionisation des Wassers, zur Bildung freier sehr reaktionsfähiger Radikale bzw. zur Bildung von H_2O_2 in der Zelle führen. Diese Substanzen bewirken eine irreversible Oxidation der besonders strahlenempfindlichen SH-gruppenhaltigen Redoxkörper bzw. eine Schädigung bestimmter SH-haltiger oder SH-abhängiger Enzyme.

Es ist bekannt, daß in physiologisch aktivem Gewebe die Übertragung des Wasserstoffs von GSH auf DAS stets schneller verläuft als die Oxidation der AS \rightarrow DAS. Daher ist normalerweise auch mehr AS als DAS in der Pflanzenzelle vorhanden. Wird nun die erste Reaktion durch den Bestrahlungsvorgang gestört oder verlangsamt (z. B. durch teilweise Zerstörung des Glutathions als H-Akzeptor oder vielleicht durch direkte Hemmung der DAS-Reduktase), dann verengt sich der Quotient AS/DAS (in unserem Falle von 2,0 in der Kontrolle auf 1,3 bei 100 R in ungekeimten Körnern).

Im weiteren Verlaufe der Keimung konnten wir eine schnellere Regenerierung bzw. Neubildung der ASO beobachten. Damit normalisiert sich die Reaktion AS \rightarrow DAS, während der H-Ionentransport über das Glutathion noch stärker und längere Zeit inhibiert bleibt. Auf diese Weise wird die DAS als H-Akzeptor nicht voll in Anspruch genommen und daher in merklichem Umfang angehäuft.

Schließlich verdienen in diesem Zusammenhang auch noch die Untersuchungen von M. Giacomelli und T. Cervigni [7] Beachtung, die in *vicia sativa* im Gamma-Feld einen höheren DAS-Gehalt gefunden haben und die Dehydroascorbinsäure als Antiauxin mit den beobachteten Wachstumsstörungen ursächlich in Zusammenhang bringen. Nach den Vorstellungen von W. Simonis [4] wäre auch an eine Beeinflussung der RNS-Synthese und eine Inaktivierung der messenger-RNS zu denken, die wiederum durch Wachstoffsstoffe erfolgen kann. Durch Bestrahlung könnte der Wachstoffsstoffgehalt verändert und auf diese Weise die Keimung bzw. das Anfangswachstum reguliert werden.

Wirkung ionisierender Strahlen auf den Atmungsstoffwechsel keimender Samen

Action des rayons ionisants sur le métabolisme respiratoire des graines en cours de germination

The Effect of Ionizing Radiation on the Respiratory Metabolism of Sprouting Seeds

Durch eine einmalige Bestrahlung von Gerstenkörnern mit geringen Dosen (1 bis 100 R) ionisierender Strahlen wurde eine gewisse Beschleunigung der Keimung und Anfangsentwicklung der Sprosse erzielt. In dem System Glutathion/Ascorbinsäure/Ascorbinsäureoxidase erwiesen sich die SH-Gruppen sowie das Enzym Ascorbinsäureoxidase als besonders strahlenempfindlich. Der Gehalt an Dehydroascorbinsäure nahm unter dem Einfluß einer Bestrahlung stärker ab als der an Ascorbinsäure. Im Verlaufe des Untersuchungszeitraumes (10 Tage) erfolgte eine unterschiedliche Regenerierung der einzelnen Substanzen.

Une irradiation unique de grains d'orge à faible dose (1–100 R) par rayonnement ionisant a permis d'obtenir une certaine accélération de la germination et du développement initial de la germe. Dans le système glutathion/acide ascorbique/oxydase d'acide ascorbique, les groupes SH ainsi que l'enzyme oxydase d'acide ascorbique se sont révélés particulièrement sensibles aux radiations. La teneur en acide déhydroascorbique a diminué plus fortement sous l'effet des radiations que la teneur en acide ascorbique. Au cours de la période d'observation (10 jours), les diverses substances se sont régénérées dans des proportions inégales.

A single irradiation of grains of barley with slight doses (1–100 R) of ionizing radiation caused a certain acceleration in sprouting and in the initial development of the sprouts. In the glutathione/ascorbic acid-ascorbic acid oxidase system, the SH groups and the enzyme ascorbic acid oxidase proved to be particularly sensitive to radiation. The amount of dehydroascorbic acid decreased more under the influence of radiation than did that of ascorbic acid. In the course of the experiment (10 days), the individual substances regenerated in varying manner.

Wengleich unsere Untersuchungsergebnisse in sich ein einigermaßen geschlossenes Bild über die Wirkung einer einmaligen Bestrahlung mit geringer Strahlendosis auf das System Glutathion/AS/ASO vermitteln, so reichen diese nicht aus, die eingangs aufgezeigten Ergebnisse über eine Beschleunigung der Keimung und Anfangsentwicklung des Sprosses unmittelbar zu erklären.

- [1] Kuzin A. M.: „Vorsaatliche Samenbehandlung landwirtschaftlicher Kulturen“, Verlag: Akademie der Wissenschaften der USSR, Moskau (1963)
- [2] Glubrecht H. und Süß A.: Bayer. Landwirtschaftliches Jahrbuch, SH 1 (1965)
- [3] „Effect of Low Doses of Ionizing Radiation on Plant Growth and Yield“, IAEA Technical Reports Series Nr. 64, Wien (1966)
- [4] Simonis W.: IAEA Technical Reports Series Nr. 64, Wien (1966)
- [5] Pauly H. und Rajewsky B.: Jahrbuch der Max-Planck-Gesellschaft, (1958), S. 127
- [6] Gillet C.: Radiation Botany 3, 155 (1963)
- [7] Giacomelli M. und Cervigni T.: Radiation Botany 4, 395 (1964)
- [8] Magdon E.: Radiation Botany 4, 71 (1964)
- [9] Amberger A. und El-Fouly M. M.: Z. f. Pflanzenernährung, Düngg., BK. 105, 37 (1964) und 106, 218 (1964)
- [10] Grunert R. R. und Phillips P. H.: Arch. Biochem. 30, 217 (1951)
- [11] Franke W.: „Phenoloxidasen und Ascorbinsäureoxidase“ im Handbuch der Pflanzenphysiologie, herausgegeben von W. Ruhland, Bd. XII/1, Springer-Verlag, (1960), S. 401
- [12] James O.: Endeavour, July (1954), S. 155
- [13] Mapson L. W.: Vit. a. Horm. 11, 1 (1953)
- [14] Hopkins F. G. und Morgan F. E.: Nature (London) 152, 288 (1943)
- [15] Weiss J.: Brit. J. Radiology, Suppl. 1, 56 (1947)
- [16] Lea D. E.: „Actions of Radiations on Living Cells“, Cambridge (1946)
- [17] Barron E. S. and Flood V.: J. Gen. Physiol. 33, 229 (1950)

Anschrift der Verfasser: Prof. Dr. A. Amberger, Institut für Pflanzenernährung, Weihenstephan/München, u. Dr. A. Süß, Bayr. Landesanstalt für Bodenkultur, Pflanzenbau u. Pflanzenschutz, München