

## Versuchsdesign für Untersuchungen an Pflanzenblättern mit der Methode der Empfindlichen Kristallisation

*Beatrix Waldburger, Haijo Knijpenga*

### *Zusammenfassung*

Bei vergleichenden Untersuchungen von Pflanzen mit der Methode der Empfindlichen Kristallisation müssen Wachstumsbedingungen und Entwicklungsstadien der Pflanzen berücksichtigt werden, weil diese Faktoren die Morphologie der Kristallisationsbilder entscheidend mitbestimmen. Das hier vorgestellte Versuchsdesign möchte dieser Aufgabe gerecht werden.

Die Untersuchungen sind Teil des Projektes «Qualitative Untersuchungen an transgenen Pflanzen mit ganzheitlichen Methoden» und wurden mit wässrigen Extrakten von Blättern von Tomatenpflanzen durchgeführt.

Das Ergebnis zeigt, dass verschiedene transgene Linien im Vergleich zueinander und zur Kontrollpflanze – unter den kontrollierten Bedingungen eines randomisierten Blockversuchs im Glashaus – unterschiedlich auf Veränderungen in der Umgebung (Temperatur und Feuchte) reagieren und dass die Unterschiede außerdem vom Entwicklungsstadium der Blätter abhängig sind.

### *Summary*

Comparative investigations of plants with the method of sensitive crystallisation need to take into consideration the growth conditions and developmental stages of the plants, as these factors markedly codetermine the morphology of the crystallisation pictures. The experimental design presented here attempts to meet this requirement.

The investigations are part of a research project entitled ‘Qualitative investigations on transgenic plants using holistic methods’ and are performed on aqueous extracts of tomato plant leaves.

The results show that transgenic lines, compared with each other and with control plants under the controlled conditions of a randomised block trial in a greenhouse, react differently to changes in environmental conditions (temperature and humidity) and that the differences are dependent on the developmental stage of the leaves.

### *Einleitung*

Die Methode der Empfindlichen Kristallisation wurde von *Pfeiffer* (1930) entwickelt. Bringt man eine Kupferchloridlösung mit einem Lösungsgenossen (Zusatz), z.B. einem wässrigen Extrakt von Pflanzenblättern, in einer flachen Schale durch Verdunsten des Wassers zum Auskristallisieren, entsteht unter geeigneten Bedingungen ein dendritisch verzweigtes Kristallmuster, das Zusatzspezifisch ist. Der Kristallisationsprozess reagiert empfindlich auf Veränderungen des Zusatzes. Darauf beruht die Anwendung der Methode bei Qualitätsuntersuchungen.

Im Rahmen des Versuchsprojektes «Qualitative Untersuchungen an transgenen Pflanzen mit ganzheitlichen Methoden»<sup>1</sup> werden Tomatenpflanzen verschiedener nicht transgener Sorten und transgener Linien untersucht.

Kristallisationsbilder (KB) werden aus wässrigen Blattextrakten hergestellt und miteinander verglichen. Weil erwartet werden kann, dass die Versuchspflanzen unterschiedlich auf Veränderungen der Wachstumsbedingungen reagieren und in diesem Kontext auch das Alter der Blätter eine wichtige Rolle spielt, wurde ein Versuchsdesign entworfen, das die unterschiedlichen Reaktionsfähigkeiten der Pflanzen sichtbar machen kann.

Im Rahmen der versuchstechnischen Möglichkeiten des Labors standen zwei Optionen zur Auswahl:

1. Eine gleichzeitige Probenahme bei allen Versuchspflanzen und die Herstellung von KB mit der für die Statistik erforderlichen Anzahl Wiederholungen.
2. Ein breit gefächertes Programm, in dem verschiedene versuchstechnische Parameter und pflanzenphysiologische Aspekte berücksichtigt werden.

Es wurde die zweite Option ausgewählt. Sie entspricht eher dem Lebendigen und kann die Reaktionsfähigkeit der Pflanzen mehrfach zum Ausdruck bringen, sodass sich die Ergebnisse gegenseitig ergänzen und bestätigen. Der Nachteil dieser Option besteht in der laborbedingten Beschränkung auf wenige Wiederholungen pro Probe. Folgende Fragestellungen wurden bearbeitet:

1. Können Unterschiede zwischen transgenen Pflanzen und der Kontrolle einerseits und zwischen den einzelnen transgenen Linien andererseits sichtbar gemacht werden?
2. In welchem Verhältnis stehen diese Unterschiede zu den Sortenunterschieden?
3. Welche Bedeutung haben die experimentellen Bedingungen technischer und pflanzenphysiologischer Art für das Differenzierungsvermögen der Methode?

### *Material und Probenvorbereitung*

Für die Versuche standen folgende Sorten und transgene Linien zur Verfügung:

Berner Rose (BR)	alte, samenfeste Sorte
Sweet (F1)	Cherry Tomate, Hybride bzw. Nachkommen
GCR WT	samenfeste Sorte, Wildtyp und Kontrolle
GCR 114.1	mit Fremdgen und mit Expression des Fremdeiweißes
GCR 101.2	mit Fremdgen, aber ohne Expression des Fremdeiweißes (gene silenced)
GCR 101.3	ohne Fremdgen und somit ohne Expression des Fremdeiweißes (theoretisch eine regenerierte Kontrolle)

Die Samen von GCR WT und ihre transgenen Varianten wurden von M. Haring von der Universität Amsterdam zur Verfügung gestellt. Das exprimierte Fremd-

---

<sup>1</sup> Dieses Projekt läuft am Forschungsinstitut am Goetheanum seit 2000 unter der Verantwortung von J. Wirz, R. Richter, H. Knijpenga und B. Waldburger.