

Pflanzenneurobiologie

# Intelligente Pflanzen oder dumme Untersuchungen?



Mooshirn

■ Ein in *PNAS* erschienener Artikel bringt Fachleute zum Kopfschütteln und Hobbygärtner zum Jubilieren: Er „beweist“, Pflanzen sind intelligent. Wurde die Bedeutung von Baum-schulen bisher unterschätzt?

Im März 2009 erschien in den *Proceedings of the National Academy of Science USA* ein Artikel mit dem unverdächtigen Titel „Spatiotemporal dynamics of the electrical network activity in the root apex“ (*PNAS* 2009, 106(10):4048-53). Die Autoren Elisa Masi *et al.* schreiben von Messungen elektrischer Signale der Wurzelspitzen von Mais mit einer 60-Kanal-Elektroden-Anordnung. Sie wollen damit sowohl spontane elektrische Aktivitäten als auch künstlich ausgelöste elektrische Signale (*spikes*) beobachtet haben, die sich lokal fortpflanzten.

Masi *et al.* schließen aus ihren Befunden, dass in Pflanzen wandernde elektrische Wellen auftraten, die denen in nervösen elektrogenen Geweben von Tieren ähnelten. Die Autoren schlagen vor, dass die Wurzelspitzenzellen interne und externe Signale integrieren, um sich der Umwelt anzupassen.

Laut Diskussion: „Our finding that cells in the transition zone show synchronized oscillation agrees with other data suggesting that this region of the growing root apex is some kind of sensory zone specialized for integration of diverse sensory input formation that enable the growing apex to continuously monitor diverse environmental parameters and to mount appropriate adaptive output responses.“



Fotos ©: AG Ralf Reski, Uni Freiburg

**Wenigstens bei Moosen gibt es helle Hirne:** Der japanische Künstler Jun Takita fertigte seine Skulptur „Light, only light“ am Lehrstuhl für Pflanzenbiotechnologie der Uni Freiburg bei Ralf Reski an. Er bepflanzte ein Kunststoffmodell, das nach einer 1,5-fach vergrößerten CT-Aufnahme seines eigenen Gehirns erstellt wurde, mit transgenen *Physcomitrella patens*, dem Kleinen Blasenmützenmoos. Die Luciferase-exprimierenden Pflänzchen bringen das Gehirn zum Leuchten.

Das ist eine allgemeine Definition der Hirnfunktion. Mit anderen Worten: Pflanzen haben ein Gehirn und dieses Gehirn besteht aus Wurzelspitzenzellen.

Als Sponsor für diese sensationelle Entdeckung – wenn es denn eine ist – diente der Hirnforscher Emilio Bizzi vom MIT, seit 2006 Präsident der amerikanischen Akademie für Wissenschaft und Kunst. Federführender Autor von Masi *et al.* ist Stefano Mancuso von der Universität Florenz. Gezeichnet hat die Publikation auch Frantisek Baluska vom Institut

für Zelluläre und Molekulare Botanik der Universität Bonn. Mancuso und Baluska sind Mitglieder des „steering committees“ der Gesellschaft für Plant Neurobiology.

*Laborjournal* hat über Baluskas und Mancusos Ideen schon 2005 (*LJ* 10/2005, ab Seite 22) berichtet. Baluska versicherte damals, dass Pflanzen wie Tiere Synapsen hätten, in denen Auxin als Neurotransmitter arbeite und er vermute in den Wurzelspitzen dem tierischen Gehirn ähnliche Strukturen. Schon damals stießen diese Thesen auf Ablehnung. „Das ist völliger

# www.laborjournal.de

Wenn Ihnen die Zeit bis zum nächsten Laborjournal zu lang wird, besuchen Sie doch einfach unsere Homepage. Unter „www.laborjournal.de“ finden Sie ständig neue Artikel und Kommentare von Laborjournal-Autoren, einen Stellenmarkt mit attraktiven Jobangeboten und einen umfangreichen Veranstaltungskalender mit Kongressen, Kursen, Vorträgen. Aber auch das Archiv mit den nützlichen Rubriken (Rankings, Produktübersichten, Methoden) und den unterhaltsamen Comics (Lab-Files, Forscher Ernst, Laborkatastrophen) sei empfohlen. Und seit kurzem hat Laborjournal auch einen Blog: Homepage aufrufen, Blog anklicken, Beiträge lesen, Meinung bilden, mitdebattieren und Spaß haben...

Mumpitz“, sagte der Darmstädter Membranbiophysiker Gerhard Thiel zur *Laborjournal*-Reporterin.

Als es Mancuso und Baluska gelang, 2009 ihre Thesen im angesehenen *PNAS* zu veröffentlichen, machte das wenig Eindruck in den sonst für Sensationen so empfindlichen Journalistenseelen. Vermutlich des biedereren Titels wegen, sprangen nicht einmal *Der Spiegel* oder *Die Zeit* darauf an. Nur in *Bild der Wissenschaft* (11/2009, Seite 30) erschien der Artikel „Das obskure Gehirn der Pflanzen“ von Bernhard Epping, in dem auch auf die Versuche von Baluska und Mancuso eingegangen wird. Epping scheint jedoch seine Zweifel gehabt zu haben und ließ eine Gegenstimme zu Wort kommen, den altgedienten Pflanzelektrophysiologen Dietrich Gradmann.

### Ungebührliche Interpretation

Auch Gradmann, der im Frühjahr 2009 von Epping telefonisch aus seinem Ruhestand gerissen wurde, um die Meinung eines Elektrophysiologen zum Thema „Plant Neurobiology“ einzuholen, kannte das Werk Mancusos nicht. Nach der Lektüre kam Gradmann jedoch zu dem Schluss, dass Mancuso seine Ergebnisse ungebührlich interpretiere und – schlimmer – es sich um Artefakte handele. Ersteres brachte Epping in seinem Artikel zum Ausdruck, auf Letzteres ging er nicht ein.

Zwar bezeichnet Mancuso Epping gegenüber den Begriff „Pflanzengehirn“ als Metapher – „Natürlich haben Pflanzen weder Gehirn noch Nerven“, sagt er, doch schon die Metapher geht Gradmann zu weit. Die Qualität von Mancusos Experimenten schließlich ließ Gradmann an den Editor der *PNAS* schreiben:

„Dear Editors,

*as an experienced plant electrophysiologist I'm horrified about the above article and its unprofessional reviewing. My blunt interpretation of the mysterious 'signals': The electrical contacts between the growing root tip and the rigid electrode array is frequently interrupted discontinuously and reformed continuously within some 10 ms.*

*Sincerely, Dietrich Gradmann“*

Die Antwort kam am gleichen Tag:

„Dear Dr. Gradmann,

*Thank you for your comments. If you wish to contact the authors directly to discuss any questions you might have, please feel free to do so. You can find the corresponding author's email address with the article.*

*Sincerely,*

*Megan Miller, PNAS Editorial Office“*

Gradmann antwortete:

„Dear Megan Miller,

*I did contact the corresponding author. However, my message was equally addressed to editor and reviewers of this article. Please confirm, my message reached these persons.*

*Sincerely, Dietrich Gradmann“*

Am 5.11.2009 wurde er folgendermaßen abgebürstet:

„Dr. Gradmann,

*Thank you for your feedback. We encourage you to contact the co-authors of the paper in addition to the corresponding author. Unfortunately we cannot reveal the review process of the paper.*

*Ryan Conley, PNAS Editorial Office“*

Man muss zugeben, es ging wenigstens schnell. Andere Zeitschriften brauchen in ähnlichen Fällen Wochen bis Monate und wiederholtes Nachhaken, bis sie sich zu einer Antwort bequemen. Kritik an publizierten Artikeln kommt bei Editoren eben schlecht an. ▶

# His60

## Ni Resin for his-tagged protein purification

- 60 mg/ml Binding Capacity
- Better Purity
- Native or Denatured
- Economical

Highest  
Yield

Get your  
free sample!

[www.clontech-europe.com/his60](http://www.clontech-europe.com/his60)

Protein  
Labeling

Immunization

Animal  
studies

More info at  
[www.clontech.com/histag](http://www.clontech.com/histag)

**Clontech Laboratories**  
**A Takara Bio Company**

[www.clontech.com](http://www.clontech.com)

[orders@clontech-europe.com](mailto:orders@clontech-europe.com) •

[tech@clontech-europe.com](mailto:tech@clontech-europe.com)

Europe : +33.(0)1 3904 6880 • Austria :

0800 296 141 • Germany : 0800 182 5178 •

Switzerland : 0800 563 629 •

United Kingdom : 0808 234 8063



Clontech

Ihr Sponsorsystem sollte die Zeitschrift *PNAS* jedoch überdenken. Anscheinend können dort einflussreiche Sponsoren zweifelhafte Manuskripte ohne Konsultation kompetenter Gutachter durchdrücken.

Dietrich Gradmann wollte sich nicht damit abfinden, dass eine Arbeit wie die Mancusos unwidersprochen in die *Annalen der Wissenschaft* eingeht: Wenn halbwissenschaftliche Machwerke in einer angesehenen Zeitschrift publiziert werden, meint er, könne die Fehlinformation virulent werden und Ressourcen auf unfruchtbare Felder leiten.

Nachfolgend erklärt Dietrich Gradmann, was er an Mancusos *PNAS*-Paper auszusetzen hat:

„Schon die 1992 erschienene Arbeit von David C. Wildon *et al.* „Electrical signalling and systemic proteinase inhibitor induction in the wounded plant“ (*Nature* 360:62-5), die in die gleiche Kerbe schlägt wie die Arbeit von Mancuso, wurde von Fachfremden gefeiert, aber von Fachleuten nie bestätigt. Drei Dutzend Fachleute haben sich aber in dem Artikel von Amedeo Alpi *et al.* „Plant neurobiology: no brain, no gain?“ (*Trends Plant Sci.* 2007, 12:135-6) von dem Begriff Pflanzenneurobiologie (*plant neurobiology*) distanziert.

Die Autoren der obigen *PNAS*-Arbeit scheint diese Kritik nur insofern beeindruckt zu haben, als sie im aktuellen, phytoelektrophysiologischen Zusammenhang die Schlüsselwörter Synapse, Nerv und Hirn nicht mehr buchstäblich verwenden wie vorher (siehe *Trends Plant Sci.* 2005, 10(3)). Allerdings schreiben Mancuso *et al.* in *PNAS* über ihre Befunde: „This behavior is well known in cortical structures of animals...“ (Seite 4052, Absatz „Spatiotemporal Dynamics...“, Zeilen 6 und 7).

**Sind Worte wirklich Schall und Rauch?**

Nun könnte man mit Schiller sagen: Worte sind Schall und Rauch. Doch das Gefährliche ist, dass aus Begriffen Zusammenhänge abgeleitet werden. Für das nächtliche Absinken der Blätter (nastische Bewegung) verwendet Mancuso beispielsweise das Wort Schlafen und schließt daraus, dass man durch das Studium der Schlafbewegung von Pflanzen die Schlafprobleme von Menschen lösen könne.

Die mit den unscharfen Begriffen nahegelegten Zusammenhänge werden mit miserablen Experimenten belegt. Beim Studium des *PNAS*-Artikels (106:4048) drängt sich der Eindruck auf, dass den Autoren die Fähigkeit fehlt, Signale und Artefakte auseinander zu halten. Im Detail:

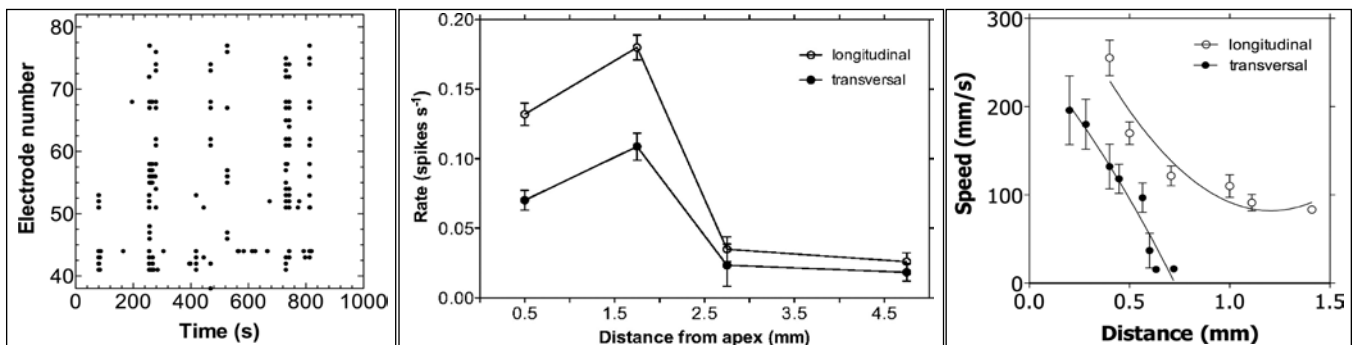
1. Die Methoden sind unzureichend beschrieben. Für eine elektrophysiologische Studie müssen Impedanz, Filterung und Polarisierbarkeit der Eingangsstromkreise numerisch benannt werden. Davon erfährt der Leser aber nichts. So bleibt es offen, ob die gezeigten Beobachtungen der Apparatur oder dem Objekt zuzuordnen sind. Außerdem gibt es zu den „repräsentativen“ Ergebnissen (siehe unten die *PNAS*-Abbildung „Elektrische Aktivität“) keine statistische Unterstützung; es wird nicht einmal die Anzahl der Versuche für dieses Beispiel genannt. Das lässt argwöhnen, die Autoren zeigten nur dasjenige Beispiel, das ihrem vorgefassten Konzept am besten entspricht.

**Bessere Ergebnisse mit Nähnadeln**

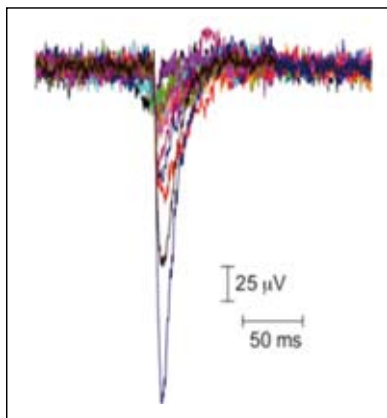
2. Das in der *PNAS*-Fig.1H (Abbildung rechts, „Multi-Elektroden-Array“) gezeigte Elementarereignis spiegelt keinesfalls ein Aktionspotenzial wider. Das Elementarereignis besteht in einer abrupten Hyperpolarisierung (vom vorgegebenen Signal/Rausch-Minimum 20  $\mu$ V bis etwa 200  $\mu$ V), die mit Zeitkonstanten von einigen 10 Millisekunden monoexponentiell zum Ausgangsniveau fällt. Mit gewöhnlichen Nähnadeln lassen sich von Gefäßpflanzen extrazellulär Aktionspotenziale im Sekundenbereich von mehr als 100 mV Amplitude ableiten. Mancusos Aufzeichnungen zeigen dagegen nur eine kleine Amplitude. Das wäre allerdings gar nicht soo entscheidend; denn wir erfahren hier ja nichts über die Widerstände des Objekts und des Verstärkereingangs. Entscheidend ist der zeitliche Verlauf: Aktionspotenziale springen nicht abrupt vom Ausgangsniveau zum Gipfel sondern in einer charakteristischen, weichen Kurve, die eine zeitlich zunehmende Leitfähigkeit widerspiegelt.

Ferner laufen pflanzliche Aktionspotenziale im Bereich von >1 Sekunde ab und nicht 100 mal schneller wie bei Mancuso (siehe Abbildung rechts). Zudem zeigen alle bekannten Aktionspotenziale ein Überschwingen, bevor das Ausgangsniveau wieder erreicht ist. Dieses Überschwingen fehlt bei den gezeigten Elementarereignissen im *PNAS*-Artikel.

Diese Elementarereignisse erklären sich aber einfach als plötzliche Unterbrechungen des Kontakts zwischen Elektroden und dem Präparat und anschließendem Wiederaufbau dieses Kontakts in einigen 10 Millisekunden; denn bei unterbrochenem Kontakt geht die Ausgangsspannung von üblichen Elektrometern gegen ihren Sättigungswert. Die Amplitude dieser Ereignisse hängt von der Vollständigkeit der Unterbrechung ab. Hier scheint sie exponentiell von seltenen großen Amplituden zu häufigen kleinen Amplituden abzunehmen.



**Elektrische Aktivität in Maiswurzelzellen.** links: Ein Gewebeschnitt aus der Wurzelspitze von Mais wurde auf die Multi-Elektrodenanordnung gelegt, um die spontane Aktivität in den Maiswurzelzellen zu erfassen. Jeder Punkt des Rasterplots soll die spontane Aktivität eines Messpunktes (in Mancusos Hoffnung eine Zelle) zu einem bestimmten Zeitpunkt wiedergeben (Fig. 2 aus *PNAS* 2009, 106(10):4048-53). Räumliche Lokalisation der elektrischen Aktivität (Mitte, Fig. 7 aus *PNAS* 106:4048) und Geschwindigkeit sich ausbreitender elektrischer Ereignisse (rechts, Fig. 5 aus *PNAS* 106:4048) in longitudinalen und transversalen Schnitten der Wurzelspitze zeigen, dass mit zunehmender Distanz vom Ausgangspunkt das Aktionspotenzial immer schwächer wird.



**MultiElectroden-Array (MEA):** Fünfzehn Spuren spontaner Spikes wurden übereinandergelagert, um deren typische Form und Größe zu illustrieren (Fig. 1H aus *PNAS* 2009, 106(10):4048-53).

3. Wichtigster Punkt: Die gezeigten Muster an Einzelergebnissen (zum Beispiel *PNAS* Fig. 2, linke Seite unten, linke Abbildung) spiegeln nicht eine mysteriöse Intelligenz der Wurzel wieder, sondern den Wackelkontakt zwischen der starren Folie mit den Elektroden und der veränderlichen Oberfläche des Wurzelpräparats. Wenn die Versuchsanordnung genauer beschrieben wäre, könnte man sagen, ob sich diese Oberfläche im Laufe der Beobachtungszeit durch Welken verkleinert oder durch anhaltendes Längenwachstum vergrößert. Ich vermute Letzteres, weil Gifte das Wachstum zum Erliegen bringen (wie in Mancusos Paper, *PNAS* 106:4048-53, in Fig. 6 gezeigt wird), nicht aber die Verdunstung.

Das vorwiegende Muster in *PNAS* Fig. 2 besteht aus kurzen Episoden mit nahezu gleichzeitigen Elementarereignissen und

längeren Pausen. Das ist zu erwarten, wenn sich Elektrodenfolie und Oberfläche des Präparats nicht kontinuierlich (gut geschmiert) gegeneinander bewegen sondern ‚stotternd‘. Dabei lösen sich bei Überschreitung der Haftreibung einzelne Kontakte, wodurch die benachbarten Kontaktpunkte jeweils noch stärker belastet werden, was zu fortschreitender Lösung aller Kontakte führt. Dann können sich Elektrodenfolie und Oberfläche des Präparats leicht gegeneinander entspannen, und die Kontakte können sich wieder ausbilden. Die halten dann so lange, bis der nächste „burst“ an „synchronized activity“ eintritt.

Somit ist leicht zu verstehen, dass die Koppelung zwischen benachbarten Kontakten mit deren Entfernung abnimmt, und dass die Kontakte in Wachstumsrichtung häufiger abreißen als quer dazu (siehe Abbildung „Elektrische Aktivität“ linke Seite unten, mittleres und rechtes Bild).

### Großzügig ignoriert

Nachdem ich Herrn Mancuso am 4.11.2009 auf diese Probleme hingewiesen habe, hat er mir am selben Tag generös geantwortet: „Please, feel free to find all the evidences supporting your interpretation.“ Anscheinend schert sich Herr Mancuso nicht um die Regeln der Beweislastverteilung. Darf so schlechte Arbeit so viel Erfolg haben? Kein verantwortungsvoller Autor, Gutachter oder Editor einer naturwissenschaftlichen Fachzeitschrift hätte diese Arbeit durchlassen dürfen. Das *PNAS*-Paper (106:4048) muss zurückgezogen werden.

HUBERT REHM und DIETRICH GRADMANN

**Größenausschluss-Chromatographie (Gelfiltration) in besonderer Qualität**  
Entsalzung, Pufferwechsel, Nukleinsäure- / Protein-Reinigung

# DextraSEC

saubere Peaks  
hohe Auflösung  
einfache Handhabung  
hohe chemische Stabilität

## über 90 % Ausbeute



# AppliChem

Darmstadt hat eine weitere Topadresse:

AppliChem GmbH Ottoweg 4 64291 Darmstadt Fon 0049 6151/93 57-0 Fax 0049 6151/93 57-11 service@applichem.com www.applichem.com