Zeitschrift: Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse

Herausgeber: Schweizerische Botanische Gesellschaft

Band: 66 (1956)

Artikel: Über den Stoffwechsel und die Auxinabhängigkeit der Nektarsekretion

Autor: Matile, Philippe

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-46617

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 02.10.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Über den Stoffwechsel und die Auxinabhängigkeit der Nektarsekretion

Von *Philippe Matile*

Inhaltsverzeichnis

Seite
I. Einleitung 237
II. Methoden 239
1. Zuckerbestimmungen 239
2. Papierchromatographie 240
3. Ascorbinsäurebestimmung 240
III. Nektarienkultur 240
1. Versuchspflanzen 241
2. Präparation der Nektarien 241
3. Kultursubstrat 243
IV. Versuche über den Nektarienstoffwechsel 244
1. Transformation verschiedener Zucker 244
2. Intermediärformen der Zucker im Nektarium 246
3. Atmungsabhängigkeit der Nektarsekretion 249
V. Versuche zur Auxinempfindlichkeit der Nektarsekretion 252
1. Einfluß des Heteroauxins 252
2. Rolle der Ascorbinsäure in der Nektarsekretion 258
VI. Diskussion 260
1. Bedeutung der Auxinempfindlichkeit der Nektarsekretion 260
2. Mechanik der Nektarsekretion 262
VII. Zusammenfassung 263
VIII. Literaturverzeichnis 264

I. Einleitung

Im Lichte der pflanzenphysiologischen Erkenntnisse ist die Nektarsekretion als Elimination überschüssiger Kohlehydrate gedeutet worden. Um so merkwürdiger nimmt sich demgegenüber die Tatsache aus, daß die Zuckerausscheidung der Blütennektarien entomophiler und ornithophiler Arten eine blütenbiologisch so wichtige Funktion erlangt hat.

An extrafloralen Nektarien, von denen sich die floralen Drüsen phylogenetisch ableiten lassen, konnte eindrücklich gezeigt werden, daß Nektar überschüssigen, nach Abschluß der Organentwicklung nicht mehr benötigten Phloemsaft darstellt, der infolge mangelhafter Korrelation zwischen mobilisierenden und konsumierenden Geweben anfällt (25). In der Tat liegen extraflorale und florale Nektarien stets an der Basis von Blättern oder Trieben, und ihr Sekretionsbeginn fällt gewöhnlich mit dem Wachstumsabschluß der Trägerorgane zusammen. Nektar ist ausgeschiedener Phloemsaft (27), wobei physiologisch (1, 86) und

anatomisch (1, 23, 26) die Verbindung der Drüsen mit Blattleitbündeln durch Phloemelemente demonstriert werden konnte. Diese Tatsachen erklären, weshalb die Zuckerausscheidung allen denkbaren Umweltseinflüssen und Dispositionen der Pflanze unterworfen ist. Nicht zu Unrecht hat man die Nektarien als Saftventile bezeichnet.

Trotz alledem weisen verschiedene Untersuchungen, vor allem an Blütennektarien, darauf hin, daß die Saftventiltheorie in ihrer einfachen Form den vollen Sachverhalt nicht trifft. Es soll deshalb einleitend versucht werden, anhand der neueren Literatur über Nektarienphysiologie neue Problemstellungen zu gewinnen.

Von ökologisch interessierten Imkerkreisen sind eine Anzahl Untersuchungen über die Beeinflussung der Nektartracht durch Düngung durchgeführt worden. Ihre Resultate geben einen ersten Anlaß, die Tätigkeit von Blütennektarien in einem neuen Lichte zu sehen.

Düngung verschiedener Pflanzen mit K, Mg, B, P und N ergab für die Einzelblüten unveränderte Nektarerträge, obwohl sich die Pflanzen im allgemeinen besser entwickelten (16, 31, 32, 59). Lediglich Veränderungen im Blütenansatz ergaben gesteigerte Trachten. Die Einzelblüten der gedüngten Kulturen sowie der Mangelkulturen schieden im allgemeinen die gleiche Menge Nektar aus wie die Kontrollpflanzen. Diese Tatsachen erlauben, die Sekretion der Blütennektarien nicht mehr ausschließlich vom Standpunkt des überschüssigen Bildungssaftes her zu sehen, sondern den Drüsen selbst eine sekretionssteuernde Funktion zuzumessen. Es scheint aber, daß diese Fähigkeit nicht immer zum Ausdruck kommen kann, da sie sich mit Einflüssen des physiologischen Zustandes der Pflanze überlagert. So ist in einigen Fällen bei K-Mangel (32) oder -Überschuß (16) verminderte Ausscheidung festgestellt worden. Shuel (61) konnte zeigen, daß hohe Sekretionsraten von kohlehydratreichen, nicht im Wachstum begriffenen Pflanzen erwartet werden dürfen. Zur oben erwähnten scheinbaren Unabhängigkeit der Drüsenleistung muß offenbar die Forderung beigesellt werden, daß Ausscheidung nur möglich ist, wenn Kohlehydratüberschüsse in irgendeiner Form in der Pflanze zur Verfügung stehen (19, 81, 83).

In der eingehenden Untersuchung von Boëtius (9) über die Nektarabscheidung verschiedener Pflanzen im Freien wird ein zweiter Hinweis auf die Wirkungsweise der Blütennektarien gegeben. Aus dem unübersichtlichen, durch Luftfeuchtigkeit, Temperatur, Insolation usw. mitbestimmten Sekretionsverlauf konnte er bestimmte Ausscheidungsrhythmen herausschälen. Nebst einem durch wechselweise wirksame Sekretions- und Resorptionsvorgänge bedingten Tagesrhythmus zeigen gewisse Nektarien einen merkwürdigen Altersrhythmus, der in der Ausscheidung großer Mengen dünnflüssigen Nektars im Spätstadium der Blüte besteht. Isolierte Blüten resorbieren dieses Sekret schießlich total, während stete Entfernung durch Insekten seine Sekretion anzuregen

scheint. Ein ähnlicher Effekt ist durch Nachahmung des Insektenrüssels mittels Glaskapillaren erreicht worden (55). Bereits Bonnier (11) vermutete einen Zusammenhang zwischen Insektenbesuch und Drüsenaktivität. Es scheint, daß die Tätigkeit der Nektarien nicht allein durch Kohlehydratüberschüsse der Pflanze, sondern außerdem durch weitere eigenständige, unbekannte Faktoren bestimmt wird.

Bonnier (11), später Wolff (80) und Frey-Wyssling (25) erkannten die enge Korrelation zwischen dem Wachstum des drüsentragenden Organs und der Zuckerausscheidung. Es ist versucht worden, die Sekretion mechanistisch als kompensierte Saftstauung zu interpretieren. Ganz allgemein unterstehen nun aber Wachstumsvorgänge und damit auch der Bildungssaftstrom hormonaler Kontrolle. Es ist also durchaus nicht abwegig, daran zu denken, daß auch die Nektardrüsen dem Wuchstoffhaushalt ihrer Trägerorgane unterstehen. Eine letzte Gruppe von Arbeiten mag diesen Verdacht erhärten, indem sie zeigen, daß die Honigdrüsen einen eigenständigen, komplizierten Stoffwechsel aufweisen.

Verschiedene Autoren konnten Nektarsekretion an abgeschnittenen Blüten (54, 62, 83) oder Nektarien (1, 11, 86) demonstrieren. Dies bedingt eine aktive Zuckeraufnahme und -abscheidung durch die Drüsen. Aus einer Arbeit Frey-Wysslings et al. (28) geht sehr eindrücklich hervor, daß Nektarien zu komplizierten Zuckertransformationen befähigt sind. Schließlich hat Ziegler (84) indirekt die Abhängigkeit der Nektarsekretion von der Atmung nachgewiesen.

Ganz klar folgt aus diesen Angaben, daß der Drüsenstoffwechsel niemals nur zur Sekretion irgendwelcher überschüssiger Stoffe eingesetzt wird; vielmehr muß angenommen werden, daß unbekannte Regulatoren die internen physiologischen Abläufe mitbestimmen, wie dies wohl allgemein für lebende Zellen zutrifft.

Als neue Aufgaben in der Abklärung der Nektarienphysiologie ergeben sich hiermit eine Vertiefung der Kenntnisse des Stoffwechsels und eine erste Untersuchung einer Beeinflussung durch pflanzliche Stoffwechselregulatoren, z. B. durch das Heteroauxin. Eine besonders gute Untersuchungsmöglichkeit derartiger Probleme bot sich in der Kultur isolierter Nektarien auf Zuckerlösungen.

Die vorliegende Arbeit wurde im Institut für allgemeine Botanik der ETH auf Anregung und unter Leitung von Prof. Dr. A. Frey-Wyssling durchgeführt.

II. Methoden

1. Zuckerbestimmungen

Volumetrisch-refraktometrisch: Der Nektar wurde mittels geeichter Kapillarpipette aufgenommen, seine Steighöhe gemessen und schließlich sein Brechungsindex mit dem Zeiß-Zuckerrefraktometer bestimmt. Das Instrument ist in Zuckerprozent,

d. h. Prozent Saccharose, geeicht. Bei Bestimmungen an Sekreten, die Zuckergemische darstellen, ergibt sich also stets ein unberücksichtigter Fehler. Die Methode ist zweckmäßig für Objekte mit großen Nektarmengen.

Kolorimetrisch: Kleine Nektarquantitäten wurden kolorimetrisch nach der Methode von Somogyi (66) und Nelson (47) auf ihren Zuckergehalt hin verarbeitet. Saccharose muß vor der Analyse invertiert werden. (1 Tropfen Invertasekonzentrat/5 ml Lösung mit 5—400 γ Zucker, 8 h.) Die Extinktionsmessungen erfolgten im Pulfrich-Photometer bei 494 mμ.

2. Papierchromatographie

Qualitative Trennung. Das Trennungsgemisch *n*-Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 5) besitzt die günstigsten Eigenschaften in der Verteilung der Nektarzucker Saccharose, Glucose und Fructose wie auch der Pentosen (49). Partielle Veresterung des Butanols mit Essigsäure durch etwa 2stündiges Kochen des Gemisches am Rückflußkühler und Aufnahme des dabei ausgefallenen Wassers mit wenig Essigsäure vermag die Qualität des Gemisches wesentlich zu steigern. Glucose und Galactose sowie Fructose und Sorbose wurden einwandfrei nur in Phenolwasser getrennt (86). Für die Trennung phosphorylierter Zucker wurde neben dem Gemisch Aceton-35-%-Ameisensäure 3 : 2 (14) vor allem Propanol-Ammoniak-Wasser 6 : 3 : 1 (30) verwendet.

Folgende vier Sprühreagenzien fanden Anwendung: Anilin-Oxalsäure (50) als Universalentwickler von Aldo- und Ketohexosen, Oligosacchariden, Pentosen und Ascorbinsäure; Benzidin-Trichloressigsäure (4), ebenfalls Universalentwickler, aber besonders intensiv mit Ketosen reagierend; Triphenyltetrazoliumchlorid (75) zur Entwicklung von reduzierenden Zuckern und Resorcin-Salzsäure (88) als reines Ketosenreagens. Zuckerphosphate sprechen auf die gleichen Reagenzien an wie die freien Zucker, mit dem Unterschied, daß ihre minimal erfaßbaren Quantitäten etwa 50 % höher liegen. Auch die Reaktion der Phosphatgruppen mit dem Molybdatreagens (30) ist wenig empfindlich [1].

Quantitative Auswertung von Chromatogrammen. Als grobes Maß für die Zuckermengen dienten ihre Fleckengrößen in Chromatogrammen. Obwohl mit einem Fehler von über 10 % behaftet, liefert dieses Vorgehen in bestimmten Fällen aufschlußreiche Resultate.

Genauere Bestimmungen konnten mit einer Modifikation der kolorimetrischen Methode von Wallenfels (76) erzielt werden. Reduzierende Zucker bilden aus Triphenyltetrazoliumchlorid rotes Formazan, welches aus dem Papier eluiert und kolorimetriert wird. Saccharose muß vor der Entwicklung auf dem Papier durch aufgesprühte verdünnte Invertaselösung hydrolysiert werden.

3. Ascorbinsäurebestimmung

Nach den Angaben Frankes (22) wurde Ascorbinsäure durch Zerreiben frischen Materials in Perchlorsäure stabilisiert und extrahiert, schließlich im aufbereiteten Auszug mit Dichlorphenolindophenol titriert.

III. Die Nektarienkultur

Die denkbar einfache Kultur isolierter Blüten oder Nektarien in vitro auf Zuckerlösungen, eine recht alte (11, 54), in neuerer Zeit wieder häufig angewandte Methode (1, 28, 62, 84, 86), eignete sich vorzüglich für unsere Zwecke, da die Leistungen der Drüsen unter Ausschluß der

[1] Proben von Zuckerphosphaten stellte uns das physiologisch-chemische Institut der Universität Zürich, Prof. F. Leuthardt, in verdankenswerter Weise zur Verfügung.

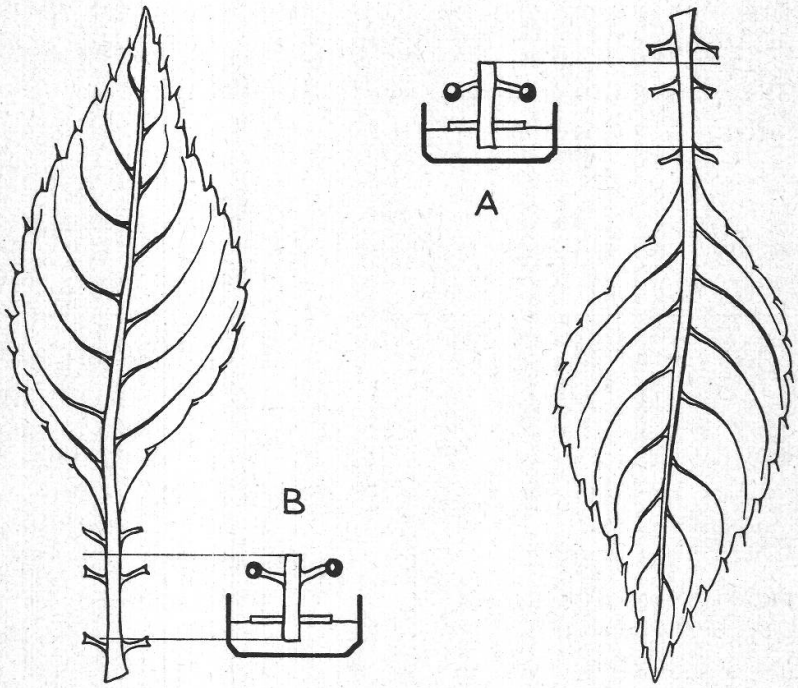
Einflüsse von der Pflanze her studiert werden können. Bei leichter Kontrolle der Sekretionsintensität kann ferner ihre Reaktion auf Stoffwechselregulatoren oder -gifte, die dem Zuckersubstrat zugegeben werden, untersucht werden.

1. Versuchspflanzen

Untersuchungen an isolierten Nektarien erheischen Versuchspflanzen mit großen, intensiv sezernierenden Drüsen, die in einfacher Präparation separiert werden können. Die Wahl fiel auf die Blattstielnektarien von *Impatiens Holstii* und die zwei ebenfalls extrafloralen, ihrer physiologischen Bedeutung nach jedoch floralen Nektarien von *Abutilon striatum* (Kelchblatt) und *Euphorbia pulcherrima* (Cyathium).

2. Präparation der Nektarien

Impatiens Holstii: Die Blattstiele tragen 3 bis 5 Paare stäbchenförmiger Nektarien, deren Folge längs des Spreitenrandes in eine Serie von



Figur 1
Impatiens Holstii. Präparation der Blattstielnektarien zur Kultur auf Zuckerlösungen. A = distales, B = proximales Ende des Stielfragments im Substrat

Hydathoden übergeht (1). Versorgt man ein nektarientragendes Blattstielfragment an einer Schnittfläche mit Zuckerlösung, scheiden die Drüsen in einer feuchten Kammer während mehrerer Tage Nektar aus. Die Blattstielstücke werden in eine gelochte, paraffinierte Korkscheibe

gesteckt und schwimmen auf dem Substrat. Wie aus Figur 1 hervorgeht, können sie dabei entweder mit ihrem distalen *(A)* oder proximalen Ende *(B)* in Kontakt mit der Lösung gebracht werden. Durchwegs fand das Alter der Versuchsobjekte Beachtung, indem stets eben ausgewachsene Blätter aus der Knospenregion verwendet wurden.

Abutilon striatum: Die fünf miteinander verwachsenen Kelchblätter tragen an der Basis der Innenseite je eine große Drüse, deren Polsterform durch die für die Reihe der *Columniferales* typischen Trichomhaare verursacht wird (23). Ihre Präparation für den Schwimmversuch geht aus Figur 2 *C—E* hervor. Die beiden Präparationsarten sind in Kultur auf Zuckerlösungen gleichwertig. Das Gelingen von Auxinversuchen hingegen ist davon abhängig, ob zwischen Substrat und Sekretionsgewebe ein direkter Kontakt besteht.

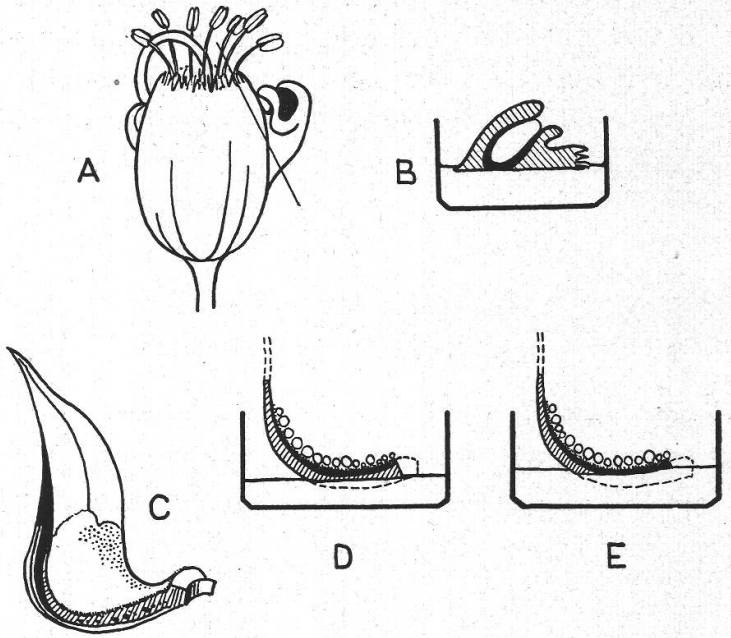
Allgemein ist die Tätigkeit von Nektarien weitgehend abhängig vom physiologischen Alter der Blüte (9, 21). Deshalb wurde an *Abutilon* versucht, bestimmte Stadien der Blütenentwicklung festzuhalten, damit stets Nektarien definierten Alters gewonnen werden konnten. In Tabelle 1 sind die Daten zusammengestellt. Unter anderem üben Belichtung und Temperatur großen Einfluß auf die Blütenentwicklung aus. Die Zeitangaben besitzen deshalb relativen Wert. Zur Kultur fanden meist Nektarien aus Stadium 5 Verwendung.

Tabelle 1

Abutilon striatum. Übersicht der zeitlichen Entwicklung der Blüte. Die Periode der Nektarsekretion ist durch einen fetten Strich bezeichnet

Blütenstadium	Zustand	Zeit Stunden	Blütenstadium	Zustand	Zeit Stunden
1	Knospe	—	5	Entfaltungsbeginn der Krone	42
2	Krone sprengt den Kelch	0	6	Krone entfaltet, Staubbeutel geschlossen	46
3	Kronblätter auf halbe Länge entwickelt	24	7	Staubbeutel geöffnet	52–124
4	Krone ausgewachsen	40	8	Kronblätter welk	148

Euphorbia pulcherrima. Die am Cyathium sitzende Honigtasche läßt sich leicht durch einen Schnitt abtrennen, dessen Fläche so groß ist, daß sich das Nektarium auf Zuckerlösungen schwimmend aufrechtzuhalten vermag (Figur 2 *A*). In der Regel wird dabei das Drüsengewebe angeschnitten, so daß bei diesem Objekt wie bei *Abutilon* die Zucker direkt von Sekretionszellen aufgenommen werden (Figur 2 *B*). Der günstigste Zeitpunkt zur Isolation dieser Honigdrüsen zur Kultur ist durch das erste Auftreten von Nektar im Grunde der Grube gegeben.



Figur 2
Euphorbia pulcherrima. Präparation des Nektariums zur Kultur auf Zuckerlösungen. A = Cyathium mit Honigtasche; der Strich bezeichnet die Schnittrichtung bei der Isolation. B = Schnitt durch ein schwimmendes Nektarium. Sekretionsgewebe schwarz. *Abutilon striatum.* Präparation des Kelchblattnektariums. C = isoliertes Kelchblatt mit Drüse. D und E = schwimmende Nektarien. Sekretionsgewebe (schwarz) nicht resp. in Kontakt mit dem Substrat

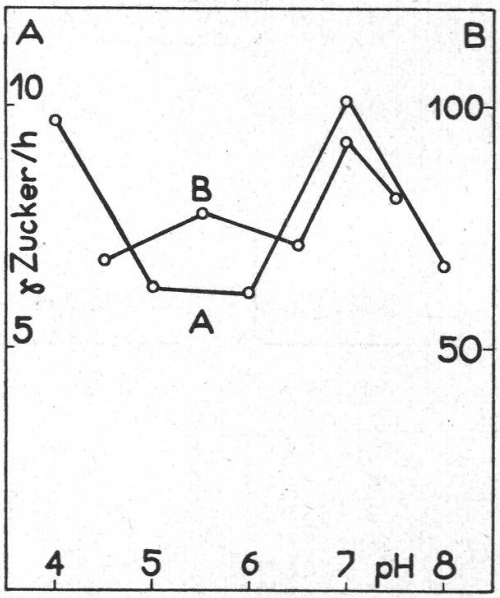
3. Das Kultursubstrat

Zuckerkonzentration. Nach Agthe (1), Wykes (83) und Shuel (62) gleicht sich die Nektarkonzentration kultivierter Drüsen der Zuckerkonzentration des gebotenen Substrats an. Frühere Untersuchungen an Nektarien von *Euphorbia pulcherrima* haben gezeigt, daß die Sekretion am ausgiebigsten auf verdünnten, z. B. 5-%-Zuckerlösungen, erfolgt (1, 28). Diese Konzentration wurde für alle Versuche eingehalten.

Schwimmende Kelchblattnektarien von *Abutilon striatum* scheiden auf 5-%-Glucoselösungen auch nach langer Versuchszeit stets konzentrierteren Nektar aus. Der Zuckergehalt des Sekrets liegt zu Beginn bei 12—14 % und fällt in 50 Stunden auf 6—7 %. Diese Drüsen sind offenbar befähigt, Konzentrationsarbeit zu leisten.

Wasserstoffionenkonzentration. Die Pufferung der Substrate durch m/30 Phosphatpuffer wirkte sich auf die Sekretion der Nektarien von *Euphorbia pulcherrima* und *Impatiens Holstii* ungünstig aus, wogegen diejenige von *Abutilon striatum* normal funktionierte. Der *p*H-Einfluß auf Zuckeraufnahme und -ausscheidung durch die Nektarien von *Euphorbia* wurde deshalb an ungepufferten Substraten geprüft. Bestimmte *p*H-Werte wurden mit KOH und H_2SO_4 eingestellt. Um eventuelle störende Ausscheidungen der Nektarien in die Lösung vernachlässigen zu dürfen, fand die Kultur auf einem Substratüberschuß statt (10 ml/Nektarium). In Figur 3 *A* sind die gemittelten stündlichen Ausscheidungsraten von je drei Nektarien über 22 Std. Versuchsdauer eingetragen. Der analoge Versuch an Drüsen von *Abutilon* gelangte auf gepufferten Substraten (m/30 Phosphatpuffer) zur Durchführung (Figur 3 *B*).

Für die Tätigkeit beider Nektarien in vitro resultierte ein Optimum bei *p*H 7. *Euphorbia pulcherrima* scheint dazu ein zweites Optimum im sauren Bereich zu besitzen. Für alle Versuche wurden fortan ungepufferte Substrate mit Lauge auf *p*H 7 eingestellt.



Figur 3
*p*H-Abhängigkeit der Sekretion kultivierter Nektarien von A *Euphorbia pulcherrima* und B *Abutilon striatum*. Substrat: 5-%-Glucose

Als *konstante Versuchsbedingung* wurde ferner festgelegt, daß alle Kulturen in feuchter Kammer, bei Zimmertemperatur und im Dunkeln zur Durchführung gelangten.

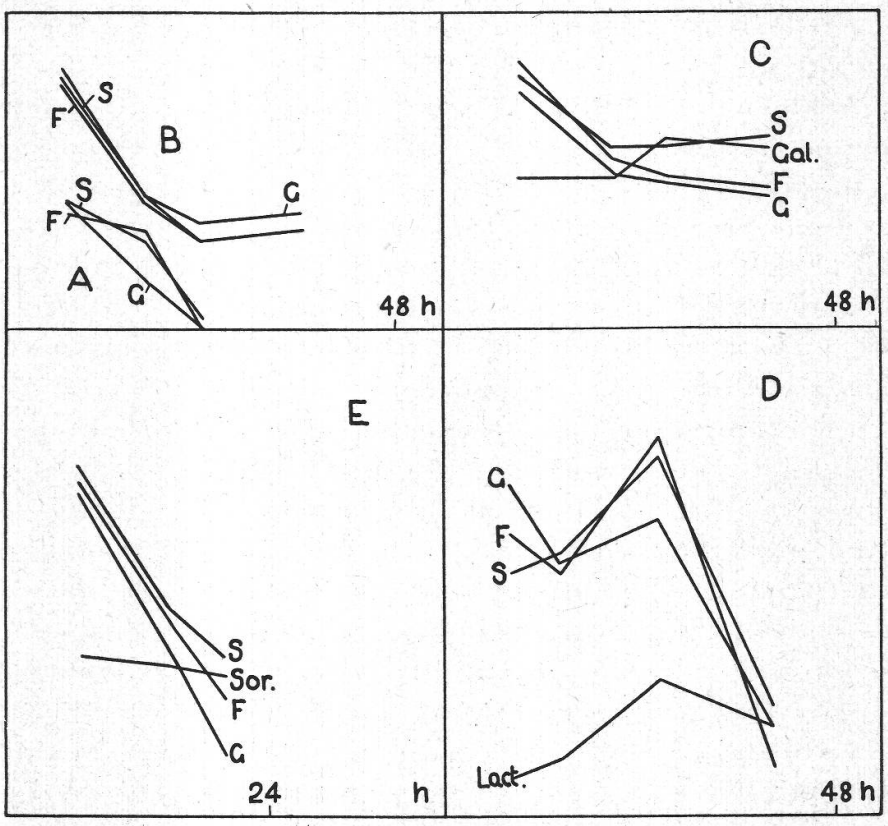
IV. Versuche über den Nektarienstoffwechsel

1. Transformation verschiedener Zucker

Die Tätigkeit kultivierter Nektarien besteht nicht nur in einer aktiven Absorption und unveränderten Ausscheidung des angebotenen Zuckers. Frey-Wyssling et al. (28) konnten sich indirekt durch papierchromatographische Analysen der Sekrete bei Fütterung verschiedener Zucker (Glucose, Fructose, Saccharose) und direkt durch Einführung radioaktiver Glucose überzeugen, daß sich im Drüsengewebe ein intensiver Zuckerumbau abspielt. So fand sich die Radioaktivität der Glucose in allen Nektarzuckern wieder. Saccharosesynthese durch das Nektarium von *Euphorbia pulcherrima* ist aus angebotener Glucose und Fructose, nicht aber aus Ribose möglich.

Um das Bild der Zuckertransformationen durch das genannte Nektarium zu ergänzen, wurde der Sekretionsablauf bei Fütterung nektarfremder Zucker untersucht: Galactose, Mannose, Maltose, Raffinose, Lactose, Cellobiose und Sorbose. Die Sekrete wurden periodisch abpipettiert und papierchromatographisch in ihre Komponenten aufgetrennt. Die Mengen der einzelnen Zucker wurden durch die Flächen ihrer Flecken ausgedrückt. Zur Kontrolle sezernierten Drüsen auf Wasser und

auf Glucose. In Figur 4 sind die Ergebnisse für jene Substratzucker dargestellt, die eine normale Tätigkeit der Nektarien zuließen, also für Galactose *(C)*, Lactose *(D)* und Sorbose *(E)*. Vergleicht man diese drei Kurvenbilder mit den Kontrollkurven *(A, B)*, kommt man zum Schluß, daß Galactose und Lactose, möglicherweise auch Sorbose, in den Drüsenstoffwechsel einbezogen, d. h. teilweise transformiert, teilweise unverändert ausgeschieden werden. Alle übrigen getesteten Zucker wirken mehr oder weniger toxisch oder werden nicht aufgenommen; die Nek-



Figur 4
Euphorbia pulcherrima. Nektarienkultur auf A Wasser, B Glucose, C Galactose, D Lactose und E Sorbose. Abszisse: Zeit in h. Ordinate: Mengen der sezernierten Zucker als Planimeter-Flächenwerte aufgetragen

tarien scheiden entweder nur geringe Nektarmengen aus oder sterben rasch ab. Dies trifft auch für die Kultur auf Mannit und Galacturonsäure zu.

Dieser Sachverhalt ist in zweifacher Hinsicht bemerkenswert. Einmal erstaunt die Transformation von Galactose und Lactose. An Mikroorganismen und tierischen Objekten ist in neuerer Zeit die enzymatische Verknüpfung von Galactose und Glucose, die in höheren Pflanzen ähnlich verlaufen mag, aufgeklärt worden (39). Offenbar sind die Nektarien im Besitze aller Fermente des Galactosestoffwechsels, insbesondere der Galactowaldenase, welche Uridindiphosphogalactose in das entspre-

chende Glucosederivat, eine Vorstufe zur Saccharosesynthese (15, 40), isomerisiert. Ferner erscheint es merkwürdig, daß der Saccharoseabkömmling Raffinose und Maltose nicht aufgenommen werden. Shuel (62) hat die Wirkung verschiedener Zucker auf Entwicklung und Nektarsekretion in vitro kultivierter Blüten von *Antirrhinum* untersucht. Auch von diesem Objekt werden Galactose und Lactose umgebaut, jedoch auch Raffinose, Maltose und Mannose. Diese und andere Unstimmigkeiten zu den vorliegenden Ergebnissen begründen sich wahrscheinlich in den verschiedenen Versuchsanordnungen. Die Zuckertransformationen isolierter Nektarien von *Euphorbia pulcherrima* stellen ausschließlich Leistungen des Sekretionsgewebes dar.

Die Nektarien von *Abutilon striatum* verhalten sich gegenüber den Zuckern Saccharose, Glucose, Fructose und Ribose genau gleich wie diejenigen von *Euphorbia.* Auf Lösungen der drei ersten schwimmend, scheiden die Drüsen auch nach fünfzig Stunden alle drei Zuckerkomponenten in vergleichbarer Quantität aus. Bei Versorgung mit Wasser oder Ribose ist der Zuckervorrat des Nektariums nach zwanzig Stunden erschöpft; es werden ansehnliche Mengen der Pentose ausgeschieden.

Impatiens Holstii: Als Besonderheit enthält der Nektar von Impatiensarten Saccharose als einzigen Zucker (20). Die Ausnahme, daß kein invertierendes Ferment zusammen mit dem Rohrzucker zur Abscheidung gelangt, wie dies für alle anderen Nektarien zutrifft (44, 87), läßt sich, wie Zimmermann (86) gezeigt hat, durch experimentelle Eingriffe aufheben. Es zeigte sich, daß dies durch Kultur isolierter Blattstiele nicht der Fall ist. Fütterung mit Saccharose, Glucose und Fructose führt zu unentwegter, vom fünften Tag an allerdings stark nachlassender Rohrzuckerabscheidung während zehn Tagen. Pentosesekretion fand nur während zweier Tage statt; auch auf Wasser stellten die Nektarien nach dieser Zeit ihre Tätigkeit ein. Es ist zu vermuten, daß die Zuckeraufnahme der Blattstiele Substrat zu einer Saccharosesynthese in den Leitbündeln und Einführung des Rohrzuckers in die Siebröhren liefert, Vorgänge, die an der Zuckerrübe eingehend studiert worden sind (51).

2. Intermediärformen der Zucker im Nektarium

Die Sekretionsgewebe intensiv tätiger Honigdrüsen, z. B. von *Euphorbia pulcherrima,* müssen Orte großer Zuckerverschiebungen sein. Über die Bewegung von Zuckern in Parenchymen ist wenig Gesichertes bekannt; vor allem fehlen Anhaltspunkte über die Natur der verfrachteten Zucker. Nektarien bieten nun als extreme Transportgewebe für Zucker die Möglichkeit einer Untersuchung extrafaszikulär bewegter Zuckerverbindungen.

Cyathien von *Euphorbia pulcherrima* wurden abgeschnitten, wenn die Drüsen in voller Sekretion standen, die Honigtaschen isoliert und in siedendes 80-%-Äthanol geworfen. Auf diese Weise wurden 300 Nektarien

abgetötet, hernach im «Blendor» zerschlagen, und der Brei wurde dreimal 15 Minuten lang mit 80-%-Äthanol extrahiert. Eiweißausfällung im Extrakt erfolgte durch Zugabe von Bleiacetat, Farbstoffe wurden an wenig Aktivkohle adsorbiert. Durch Einleiten von H_2S wurden hierauf die überschüssigen Bleiionen entfernt; schließlich wurde der Extrakt durch ein Celitfilter genutscht und i. V. bei 50° C zur Trockene gebracht. In wenig Wasser aufgenommen, gelangte der Rückstand zur Chromatographie.

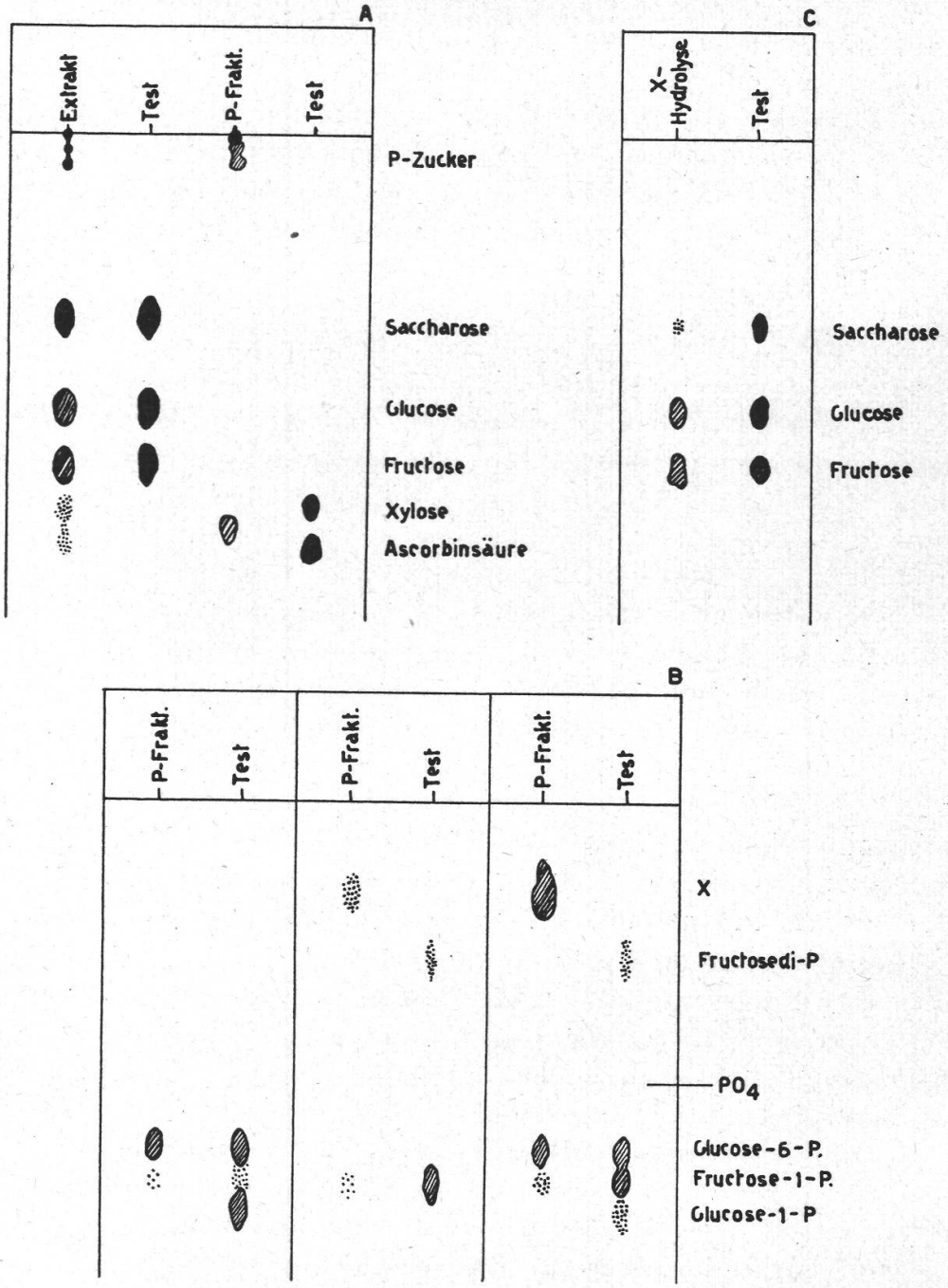
Das Übersichtschromatogramm zeigte, daß ein Großteil der Zucker im Nektarium in freier Form vorliegt, vornehmlich als Saccharose, etwas weniger als Glucose und Fructose, ferner in untergeordneter Quantität als Xylose und als unbekannte Substanz mit etwas größerem R_F-Wert als letztere. In der Gegend des Startpunktes reagierten eine Reihe unbekannter Stoffe mit Anilin-Oxalsäure, zum Teil auch mit Resorcin. In Figur 5 *A* ist der mit *n*-Butanol-Eisessig-Wasser aufgetrennte Extrakt dargestellt.

Es lag auf der Hand, daß die stark hydrophilen Körper in der Nähe des Startpunkts phosphorylierte Zucker darstellen. Ihre Identifikation im Extrakt erwies sich der kleinen Konzentration wegen als unmöglich. Es mußte ein Anreicherungsverfahren gesucht werden, welches in der Absorption der Phosphationen an Anionenaustauscher-Harz gefunden wurde.

An einer kleinen Säule (5×1,5 cm) von Dowex-X-8-Harz in der Formiatform wurde der Extrakt seiner Anionen entledigt, die freien Zucker hierauf mit *n*/1000 Ammoniak ausgewaschen. Alle Zuckerphosphate konnten in einer Fraktion (P-Fraktion) durch 2 *n* Ameisensäure desorbiert werden. Nach Befreiung von der flüchtigen Säure i. V. bei 60° C gelangten sie zur papierchromatographischen Identifikation. Figur 5 *A* zeigt, daß neben den Phosphatzuckern eine Form von Ascorbinsäure in der P-Fraktion angereichert vorlag.

In Propanol-Ammoniak-Wasser wandern zwei Zucker der P-Fraktion in den Bereich der Monosenphosphate. Sie konnten anhand ihrer Reaktionen und ihres R_P-Wertes (relative Laufstrecke bezogen auf diejenige von Orthophosphat) als Glucose-6-Phosphat und ein Fructosephosphat, Fructose-1- oder -6-Phosphat identifiziert werden (Figur 5 *B*). Auf Chromatogrammen, die mit Benzidin behandelt wurden, trat ein kräftiger Fleck mit einem R_P-Wert von 0,36 auf, der schwächer auch mit Resorcin reagierte. Anhand seiner Laufstrecke beurteilt, konnte das hydrophilste Phosphat der Testzucker, Hexosediphosphat (R_P=0,57), nicht in Betracht kommen. Eine Säurehydrolyse mußte Klarheit über die Zuckerkomponente dieses Körpers schaffen.

Längs einer ganzen Startlinie wurde auf ein Chromatogramm P-Fraktion aufgetragen, in Propanol-Ammoniak-Wasser aufgetrennt und die Lage des unbekannten Flecks durch Entwicklung der Randstreifen



Figur 5

Euphorbia pulcherrima. Extrakt aus sezernierenden Nektarien. Papierchromatogramme:

A Laufmittel *n*-Butanol-Essigsäure-Wasser, 60 h. Entwickelt mit Anilin-Oxalsäure.

B Laufmittel Propanol-Ammoniak-Wasser, 40 h. Die Streifen v. l. n. r. mit Anilin-Oxalsäure, Resorcin-Salzsäure und Benzidin-Trichloressigsäure entwickelt.

C Laufmittel *n*-Butanol-Essigsäure-Wasser, 60 h. Doppelentwicklung mit Anilin-Oxalsäure und Resorcin-Salzsäure.

festgelegt. Das wäßrige Eluat der nichtentwickelten Partie wurde mit dem gleichen Volumen 2 n-H_2SO_4 versetzt und während 30 Minuten in verschlossenem Gefäß auf Siedetemperatur gehalten. Hernach fanden Neutralisation mit $BaCO_3$, Zentrifugation des Niederschlags und Konzentration des Hydrolysats statt. Die Chromatographie in Butanol-Essigsäure-Wasser ergab Glucose und Fructose zu ungefähr gleichen Teilen nebst einer Spur Saccharose (Figur 5 *C*). Im Hydrolysat konnte ferner mit der Molybdänblaureaktion (2) Phosphorsäure nachgewiesen werden. Das Ergebnis zeigt, daß das unbekannte Zuckerderivat wohl mit einem Saccharosephosphat identisch ist.

Die Frage nach der quantitativen Verteilung der Phosphatzucker im Extrakt kann nur approximativ beantwortet werden. Es geht aus Fleckengrößen und Farbintensitäten hervor, daß dem Saccharosephosphat die höchste Konzentration zukommt, während unter den Monosederivaten der Glucoseester dominiert.

Phosphorylierte Saccharose ist gewöhnlich in Parenchymen in so kleiner Konzentration vorhanden, daß ihre Entdeckung erst im Verlaufe der Erforschung der CO_2-Assimilation von Zuckerrübenblättern als radioaktiver Körper gelang (13). Sie stellt eine Vorstufe in der Saccharosesynthese dar (40). Der Umstand, daß die Isolierung an Nektarien gelang, mag kaum mit der Saccharosesynthese zusammenhängen, da ihnen in dieser Eigenschaft die Zuckerrübenblätter wohl nicht nachstehen; vielmehr wird Saccharosephosphat mit dem aktiven Zuckertransport durch die Drüse in Zusammenhang stehen. Die gefundenen Monosenester stehen vermutlich in Beziehung zu Dissimilationsvorgängen und zur Saccharosebildung.

Die Verteilung zwischen freien und phosphorylierten Zuckern im Extrakt darf nicht als Spiegel des wahren Zustandes in der Drüse betrachtet werden. Die in Nektarien überaus aktiven Phosphatasen (84) vermögen sehr wohl einen Teil der Ester während der Präparation und zu Beginn der Extraktion zu spalten.

3. Die Atmungsabhängigkeit der Nektarsekretion

Nach Ziegler (84) weisen kultivierte Drüsen von *Abutilon striatum* eine erhöhte Atmungsintensität gegenüber dem umliegenden Kelchblattgewebe auf. Merkwürdigerweise findet er die stärkste Steigerung an Nektarien aus welken Blüten. Nach unseren Erfahrungen findet durch Drüsen dieses Alters keine Ausscheidung mehr statt (vgl. Tabelle 3). Da die Zuckeraufnahme aus dem Substrat einen Teilprozeß der Sekretion darstellt, muß nach den Resultaten verschiedener Autoren (12, 41, 57, 58) über die Zuckerabsorption anderer Gewebe ihre Atmungsabhängigkeit auch für Nektarien zutreffen. Im wesentlichen besteht der Vorgang der Zuckeraufnahme in einer Veresterung der Hexosen mit Phosphorsäure, welche aus energiereichen Phosphaten stammt.

Eine Möglichkeit zum Nachweis der Atmungsabhängigkeit der Nektarsekretion bot die Anwendung von Stoffwechselinhibitoren, d. h. Sekretionsmessungen auf Substraten, welche Atmungsgifte enthalten. Bereits Radtcke (54) führte primitive Narkoseversuche an Nektarien durch. Seither ist die Methode der Blockierung von Enzymsystemen sehr verfeinert worden, und die Auswahl der Hemmstoffe ist in Anbetracht ihrer Vielzahl entsprechend schwierig. Im wesentlichen stützte ich mich dabei auf die Übersicht von James (36). Die verwendeten Inhibitoren sind die folgenden:

Natriumazid: } blockieren Terminaloxydasen, z. B. das Cytochrom-
Kaliumcyanid: } oxydasesystem

Natriumarsenit: interferiert mit Thiolgruppen und Dehydrogenasen

2,4-Dinitrophenol: hemmt Transphosphorylierungen und Bildung von ATP. In kleinen Konzentrationen aktiviert es oft die Sauerstoffaufnahme

Natriumfluorid: hemmt saure Phosphatase (24), ohne Glykolyse und Atmung wesentlich zu stören (18).

In den ungepufferten Medien schloß sich die Verwendung von Malonsäure aus. Auch Cyanidhemmung ließ sich nur im Falle von *Abutilon* erreichen, vermutlich durch Ansäuerung des Substrats vom Nektarium aus; dagegen war im neutralen Substrat bei Versuchen an *Impatiens* die offenbar flüchtige Blausäure wirkungslos.

Die kritischen, möglichst tiefen Konzentrationen der Stoffwechselgifte wurden in Vorversuchen ermittelt und sind in die Legenden der graphischen Darstellungen der Resultate eingetragen.

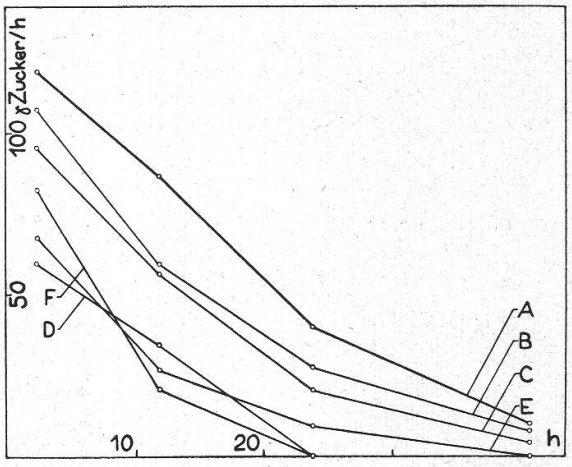
Abutilon striatum. Zur Bestimmung der Hemmwirkung jedes Inhibitors sezernierten von den fünf Drüsen eines Perigonkreises drei auf 5-%-Glucose mit, zwei ohne Gift als Kontrollen. Die gemittelten Sekretionsraten sämtlicher Kontrollen ergaben eine Ausscheidungskurve für inhibitorfreie Kultur. Die prozentualen Abweichungen der Werte gehemmter Drüsen von den entsprechenden Kontrollwerten wurden auf die mittleren Kontrolldaten umgerechnet. In Figur 6 sind die Ergebnisse dargestellt. Wie vergleichende Versuche zeigten, spielt die Präparationsweise der Nektarien für die Einführung von Inhibitoren keine Rolle.

Die Resultate zeigen, daß Aufnahme und Sekretion von Zuckern durch das Nektarium von *Abutilon striatum* aerobe Vorgänge sind und demnach von Atmungsgiften, wie Azid, Cyanid und Arsenit, beeinträchtigt werden. Ferner erhellt aus den Hemmungen durch Dinitrophenol und Fluorid, daß Phosphorylierungen und Phosphataseaktivität in den Ausscheidungablauf einbezogen sind. Während die Atmungsinhibitoren die Sekretion bald gänzlich unterdrücken (Figur 6 *D—F*), vermutlich durch Blockierung der Synthese energiereicher Phosphate, die zur meta-

bolischen Zuckeraufnahme und Saccharosesynthese (45) unerläßlich sind, verursachen die Phosphataseinhibitoren nur eine Hemmung.

Impatiens Holstii. In analoger Weise erfolgte die Abklärung des Effekts einer Auswahl von Giften auf den Zuckerstoffwechsel kultivierter Blattstiele von *Impatiens.* Die Objekte sezernierten zuerst zur Bestimmung ihrer Ausscheidungsleistung während 24 Stunden auf giftfreier Glucoselösung, worauf sie dann auf inhibitorhaltige Substrate übertragen wurden. Die Sekrete wurden fortlaufend chromatographiert und die Chromatogramme quantitativ ausgewertet. Die Chromatogramme wiesen nie einen andern Zucker als Saccharose auf. In Figur 7 sind die gemessenen Sekretionsraten eingetragen.

Vorab sind die Hemmwirkungen an Blattstielen als Störungen der Zuckeraufnahme zu betrachten; mit fortgeschrittener Versuchsdauer mögen die Gifte dann bis zum Sekretionsort vordringen. So färbte sich



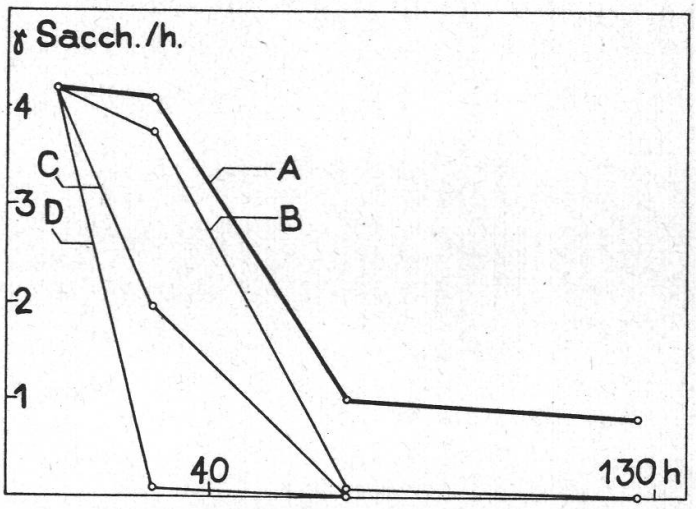
Figur 6
Abutilon striatum: Wirkung verschiedener Stoffwechselgifte auf die Nektarsekretion bei Kultur auf 5-%-Glucose. A = Kontrolle, B = 2,4-Dinitrophenol, 10^{-4} Mol/l, C = Fluorid, 5.10^{-3} Mol/l, D = Arsenit, 5.10^{-4} Mol/l, E = Cyanid 10^{-3} Mol/l, F = Azid 10^{-3} Mol/l

nach etwa 90 Stunden der Nektar durch das aufgenommene Dinitrophenol gelb. Am Beispiel der Blattstielnektarien läßt sich somit sehr schön demonstrieren, daß die Nektarsekretion nur bei ungestörtem Zuckernachschub optimal funktioniert.

Andere Wirkungen von Inhibitoren. Im folgenden sollen zwei auffällige Effekte der verwendeten Stoffwechselgifte auf die Nektarien von *Abutilon* erwähnt werden.

Die Konzentration des Nektars in Kulturen auf 5-%-Glucose liegt stets wesentlich höher als die Substratkonzentration, anfangs auf 12 bis 14 %, gegen Versuchsende auf 6 bis 7 %. Diese Konzentrationsarbeit scheint durch den Einfluß gewisser Zellgifte gestört zu werden. Trotz starker Streuung der Resultate zeichneten sich folgende Tendenzen deutlich ab: Die beiden Inhibitoren des Phosphatumsatzes erwirkten Senkung, Arsenit eine deutliche Erhöhung der Nektarkonzentration. Cyanid blieb ohne Einfluß. Die Resultate sind indessen zu unvollständig, als daß sie einen Beitrag in der Frage aktiver Wasserbewegung durch die Zellen leisten könnten.

Eine weitere Beobachtung betrifft das Verhältnis von Glucose zu Fructose (G/F) im Nektar. Dieser Quotient beträgt nie Eins und verändert sich während der Sekretionszeit stark. Er betrug bei Kultur auf Glucose zuerst 2,4, sank dann auf 0,92 und schließlich auf 0,49. Oligosaccharide, welche oft die eine oder andere Hexose angereichert enthalten (44, 86, 87), traten nie auf. Die untersuchten Inhibitoren beeinflussen zum Teil den Quotienten G/F: Dinitrophenol und Azid verschieben den Wert zugunsten der Glucose, während ihn Arsenit sogar in der Gegend seines Anfangswertes über 2 zu halten vermag. Nach unsern Erfahrungen mit nektarfremden Zuckern, welche zum Teil unverändert sezerniert werden, ließe sich Ähnliches auch für nektareigene Hexosen vermuten, daß



Figur 7
Impatiens Hostii. Reaktion der Blattstielnektarien auf Stoffwechselgifte. Kultur auf 5-%-Glucose. A = Kontrolle, B = 2,4-Dinitrophenol, 10^{-4} Mol/l, C = Arsenit, 10^{-4} Mol/l, D = Azid, 10^{-3} Mol/l

nämlich nicht nur Saccharose, sondern auch der angebotene Zucker ausgeschieden würde. Indessen kann dies leicht widerlegt werden, indem Fütterung von Fructose eine ganz ähnliche Veränderung des Quotienten wie Glucose erwirkt. Vermutlich steht diese Erscheinung in Zusammenhang mit Resorptionsvorgängen während der Sekretion. Dabei werden vielleicht die Hexosen des Nektars verschieden leicht von den Drüsenzellen wieder aufgenommen (vgl. S. 262).

V. Versuche zur Auxinempfindlichkeit der Nektarsekretion

1. Der Einfluß des Heteroauxins

Von allen nativen pflanzlichen Hormonen ist das *Heteroauxin, β-Indolylessigsäure (IES),* wohl am besten untersucht, sehr vielseitig wirksam und am weitesten verbreitet. Es war also durchaus nicht abwegig,

wenn zur Untersuchung der Auxinempfindlichkeit kultivierter Nektarien dieser Wuchsstoff gewählt wurde. In allen Versuchen fand das Handelspräparat von Merck Anwendung.

Euphorbia pulcherrima. Je drei Nektarien wurden auf Glucose in Wasser oder IES-Lösungen fallender Konzentration (10^{-3} bis 10^{-7} Mol/l) aufgelegt und die Sekrete periodisch wegpipettiert. Ihr Zuckergehalt wurde nach Inversion kolorimetrisch bestimmt. Die Werte in der graphischen Darstellung des Ergebnisses (Figur 8 *A*) wurden ermittelt, indem die prozentuale Veränderung der Ausscheidungsintensität zwischen erster (19 h) und zweiter Messung (39 h) für jede Auxinkonzentration ausgerechnet wurde. Die Differenz zur Intensitätsänderung der Kontrollnektarien ließ dann, basierend auf der Stundenleistung auxinfrei kultivierter Drüsen, die stündlich ausgeschiedenen Zuckermengen berechnen. Dieser Rechnungsmodus drängte sich auf, weil die einzelnen Nektarien, obwohl an Alter und Gestalt durchaus gleichwertig, sehr unterschiedliche Werte erreichten. Immerhin kann auch aus den bloßen Mittelwerten der ausgeschiedenen Zuckermengen die Auxinwirkung deutlich herausgelesen werden. Tabelle 2 zeigt dies für die IES-Konzentration von 10^{-7} Mol/l.

Tabelle 2

Euphorbia pulcherrima. Veränderung der Sekretionsleistung von Nektarien unter Einwirkung von 10^{-7} Mol/l IES in 5-%-Glucose. Mittel aus zwei Versuchsreihen

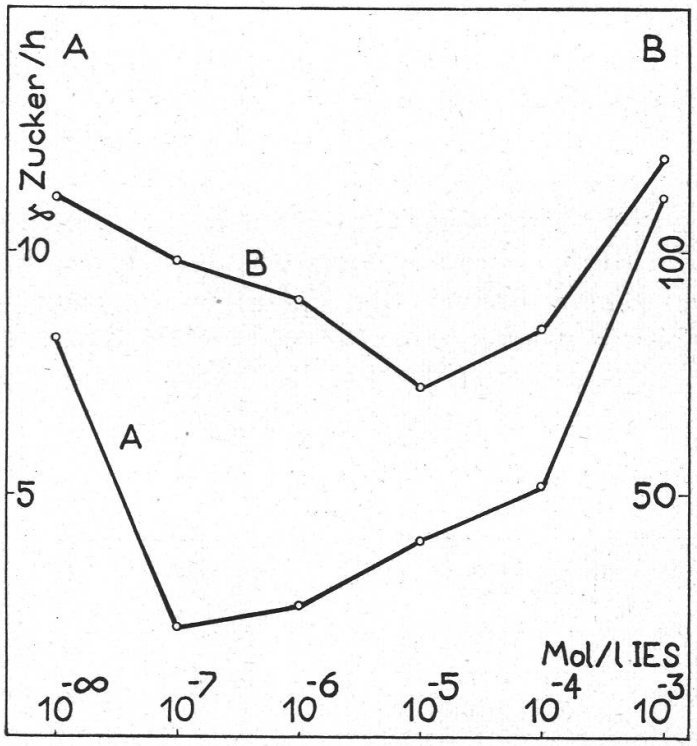
Sekretion nach h	γ Zucker/h auf Glucose + IES	γ Zucker/h Kontrolle	% Hemmung
10	21	27	22,2
22	0,85	5,5	84,5

Als Resultat stellen wir eine überraschende Hemmwirkung physiologisch kleiner IES-Konzentrationen fest. Mit steigendem Auxingehalt erfährt die Sekretion der Nektarien eine Schwächung, die schließlich von einer Aktivierung abgelöst wird. Aus der Art der Drüsenpräparation geht hervor, daß angeschnittenes Sekretionsgewebe in direktem Kontakt mit dem Hormon stand. Der beobachtete Effekt stellt somit eine Reaktion der Drüse dar, wohingegen nicht entschieden werden kann, ob Zuckeraufnahme aus dem Substrat oder ihre Ausscheidung gestört werden. Sehr launisch stellen übrigens stets in ganzen Versuchsreihen die Nektarien ihre Sekretion gemeinsam ein, manchmal schon nach 20, manchmal erst nach 40 Stunden.

Impatiens Holstii. Unsere Versuchsanordnung zeigt, daß Hormoneinwirkung auf dieses Nektarium nur möglich ist, wenn der Wuchsstoff zur Drüse hin wandern kann. Nach den Erfahrungen der Wuchsstoffforschung (65, 69) wickeln sich Auxinbewegungen der meisten untersuchten Objekte in einer bestimmten Richtung ab. Dieser möglichen

Polarität wurde Rechnung getragen, indem in zwei Versuchsreihen die Blattstielfragmente entweder mit ihrer proximalen (Figur 1 *B*) oder distalen Schnittfläche (Figur 1 *A*) ins Substrat getaucht wurden.

Das Blattmaterial wurde hinsichtlich Alter und Anordnung der Drüsen am Blattstiel sehr sorgfältig ausgewählt. Zur Bestimmung der Ausscheidungsleistungen der Nektarien sezernierten zuerst alle Objekte auf wässeriger 5-%-Saccharose. Nach 24 Stunden wurden sie auf auxinhaltige Substrate übertragen, nach weiteren 40 Stunden ihre Ausscheidungs-



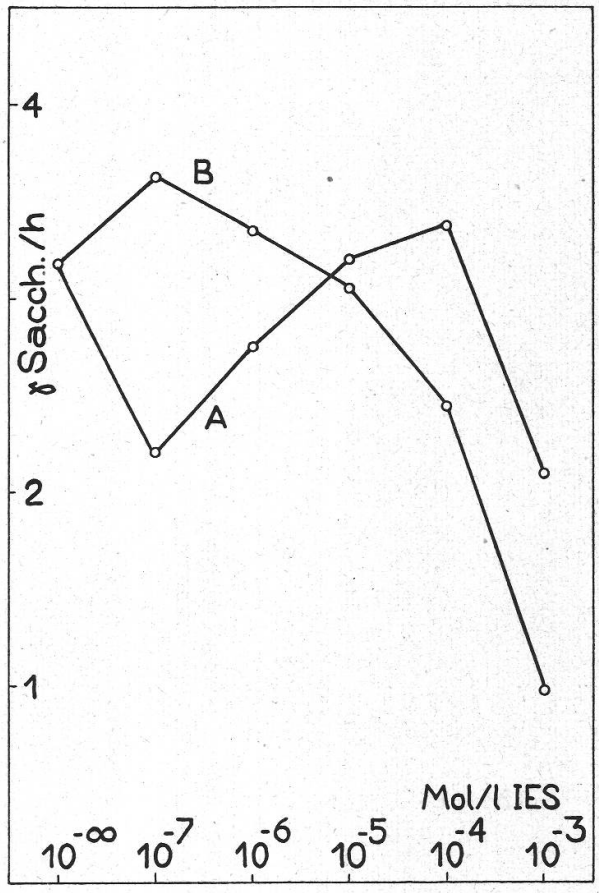
Figur 8
Konzentrationsabhängigkeit des Heteroauxineinflusses auf die Sekretion der Nektarien von A = *Euphorbia pulcherrima* und B = *Abutilon striatum*. Kultur auf 5-%-Glucose. Sekretionsgewebe bei Abutilon in Kontakt mit dem Substrat

raten unter Wuchsstoffeinfluß gemessen. Pro IES-Konzentration standen vier Blattstiele in Kultur. Die stündlich ausgeschiedenen Zuckermengen wurden nach dem oben für *Euphorbia* beschriebenen Modus ausgerechnet. In Figur 9 ist das Ergebnis graphisch dargestellt.

Ein Vergleich der beiden Kurven für die Applikation der IES von der Spreitenseite *(A)* und von der proximalen Stielseite her *(B)* überzeugt sofort von der Ungleichwertigkeit der beiden Richtungen. Dringt IES von der distalen Seite her ein, vermag es in kleiner Konzentration von 10^{-7} Mol/l die Zuckerausscheidung zu verringern; höhere Konzentrationen sind weniger oder gegenteilig wirksam. Umgekehrt ruft die Auxin-

applikation an der proximalen Schnittfläche eine aktivierte Sekretion bei 10^{-7} Mol/l hervor, steigende Konzentrationen hingegen stetig zunehmende Hemmung.

Dieser Tatbestand läßt sich unter den Annahmen deuten, daß eine gerichtete Wanderung des Auxins von der Blattspreite zum Trieb stattfindet und daß physiologische IES-Mengen die Sekretion hemmen, sofern sie bis ins Drüsengewebe vorzustoßen vermögen. Diese Hypothese forderte eine Wiederholung des Versuchs unter spezieller Berücksichtigung



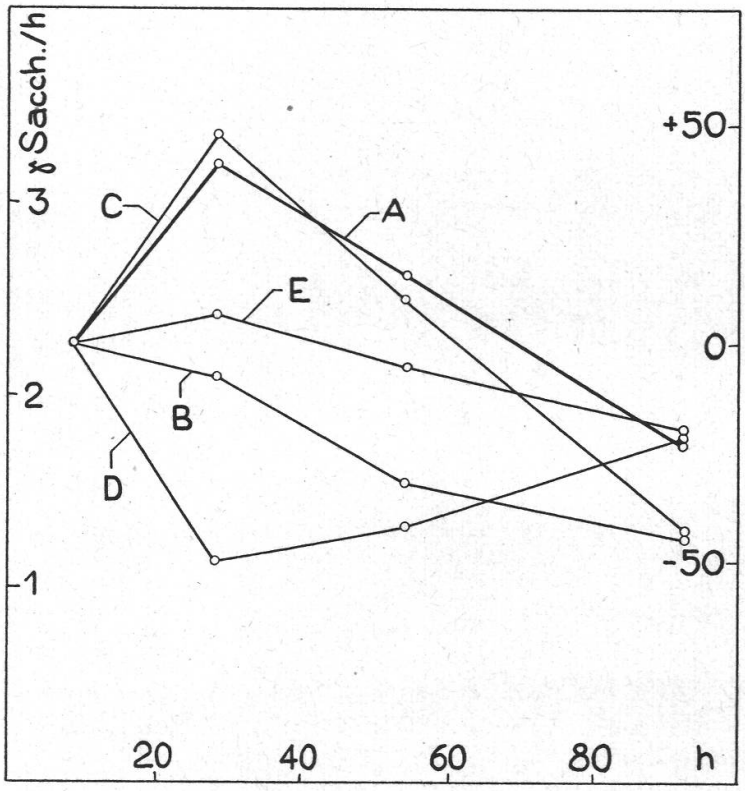
Figur 9
Impatiens Holstii. Wirkung von Heteroauxin verschiedener Konzentration auf die Nektarsekretion in vitro. A = distales, B = proximales Ende der Blattstiele im Substrat (5-%-Saccharose). Sekretionszeit 40 h

der zeitlichen Entwicklung der Wuchsstoffwirkung. Infolge räumlicher Trennung der Orte von Zuckeraufnahme und -abscheidung versprach dieses Objekt eine Antwort auf die bei *Euphorbia pulcherrima* aufgetauchte Frage nach der Natur der Auxineinwirkung.

Der Versuch wurde so modifiziert, daß die Blattstiellängen vor der Übertragung auf die Auxinsubstrate mit einer Schublehre genau gemessen wurden. Eine zweite Längenmessung erfolgte am Ende des Versuchs. Es mußte nämlich mit der Möglichkeit einer auxininduzierten Streckung der Blattstiele gerechnet werden; leicht hätte ein damit verbundener Zuckerkonsum eine reduzierte Nektarsekretion vortäuschen können. Ein Vergleich der Längenänderungen nach 116 Stunden zeigte jedoch geringe

Unterschiede bzw. Zuwachse der Kontrollen (5 %) und der mit Auxin behandelten (6 % distal, 3 % proximal appliziert) Objekte. Die IES-Konzentration betrug 10^{-7} Mol/l.

Der Zuckertransport im Blattstiel ist apolar. In Kulturen von Kontrollnektarien beider Orientierungen betrugen die Abweichungen ihrer Sekretionsraten nur etwa 3 %. In der graphischen Darstellung des Versuchsresultates wurden die Kontrollwerte deshalb in eine Kurve zusammengefaßt (Figur 10 *A*). Die Kurven *B* und *C* zeigen den Sekretionsverlauf auxinbehandelter Nektarien. Tritt das Hormon von der Spreitenseite ins Objekt ein, erfolgt zuerst eine massive Sekretionshemmung, die mit



Figur 10
Impatiens Holstii. Wirkung von 10^{-7} Mol/l Heteroauxin auf die Sekretion in Funktion der Zeit.
Substrat 5-%-Saccharose.
A = Kontrolle, B = distales und C = proximales Ende des Blattstiels im Substrat.
Der zeitliche Reaktionsverlauf ist aus den Kurven D = B-A und E = C-A ersichtlich.
(Ordinate: % Beeinflussung)

fortschreitender Versuchszeit allmählich abklingt. Bei umgekehrter Orientierung des Blattstiels erscheint die Ausscheidung zuerst leicht aktiviert, später mehr und mehr gedämpft. Bei Versuchsabbruch hatten sich die Aktivitäten beider Gruppen stark angeglichen.

Ganz offensichtlich verläuft die Richtung der Hormonverschiebung distal-proximal. Dies läßt sich indirekt aus dem Ergebnis ableiten: Bei beiden Orientierungen wirkt das Auxin auf die Zuckeraufnahme ein, und zwar nicht hemmend, da sonst niemals eine aktivierte Sekretion zu beobachten wäre. Dämpfung der Ausscheidung ist deshalb nur möglich, wenn das Nektarium unter Auxineinfluß gerät, womit die Zuckerpassage erschwert wird. Auf diese Weise läßt sich auch die aktivierte Drüsentätigkeit bei verhinderter Hormonwanderung verstehen.

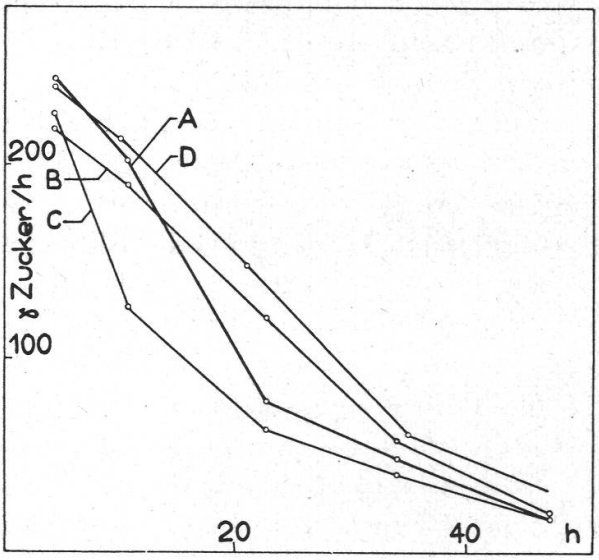
Die Polarität des Blattstiels ist aber offenbar nicht absolut; vielmehr kann nach und nach auch in distaler Richtung Auxin zur Drüse vordringen und Hemmung verursachen, so daß es schließlich zur erwähnten Angleichung nach 116 Stunden kommt. Nach Thimann (69) basiert rasche polare Wuchsstoffwanderung auf einem aktiven Lebensprozeß. Die Bewegung in der Gegenrichtung ist dagegen passiver Natur und erfolgt im Xylem mit dem Transpirationswasser oder als Diffusion bei Anwendung unphysiologisch hoher Auxinkonzentrationen (vgl. Wirkung von 10^{-3}molarer IES). Obwohl unsere Blattstiele kein Transpirationswasser führen, ist eine geringe Wasserverschiebung im Xylem durchaus denkbar, wenn wir uns erinnern, daß die Wasserversorgung der Siebröhren durch das Xylem besorgt wird (19). Wuchsstofftransport in beiden Richtungen, aber mit verschiedenen Geschwindigkeiten, fanden auch Beal (7) und Jacobs (35). An Kulturen von Bohnentrieben beobachtete Beal ferner, in Übereinstimmung mit unserem Befund an Blattstielen, eine durch Auxin aktivierbare Zuckeraufnahme.

Die räumliche Trennung der zuckeraufnehmenden und -abscheidenden Gewebe an Blattstielen von *Impatiens Holstii* gestattete uns also in der Tat, die Auxinwirkung auf beide Vorgänge getrennt zu verfolgen: Die Zuckerabsorption aus dem Medium wird durch physiologisch kleine IES-Gaben schwach gesteigert, die Sekretion ziemlich stark gehemmt.

Abutilon striatum. Nachdem die merkwürdige Hemmwirkung der IES auf die Drüsenaktivität sichergestellt schien, bereiteten Vorversuche an Nektarien von *Abutilon* eine Enttäuschung. Die Wirkung äußerte sich hier besonders bei Anwendung mittlerer und hoher Konzentrationen stets in einem mitunter kräftigen Sekretionsüberschuß gegenüber den Kontrollnektarien. Diese Resultate wurden an Präparaten beobachtet, deren Sekretionsgewebe nicht in Kontakt mit dem Substrat lag. Dabei rollten sich die Kelchblattfragmente unter Wuchsstoffeinfluß meist ein. Daraus wurde geschlossen, daß das Auxin gar nicht zum Drüsengewebe vordrang, sondern an der Außenseite des Blattes Streckungswachstum induzierte. Die Richtigkeit dieses Schlusses mußte sich an Drüsen erweisen, deren Sekretionsgewebe durch geeignete Präparation direkt auf das Substrat zu liegen kam. Da das Ausscheidungsgewebe außer den Trichomhaaren nur wenige Zellschichten umfaßt, erheischt seine Bloßlegung einige Sorgfalt. Gegenüber dick geschnittenen Objekten sind Sekretionsrate und -zeit etwas herabgesetzt; auch kommen gelegentlich Versagerserien vor.

Unter den veränderten Versuchsbedingungen wird die Sekretion tatsächlich durch IES-Einwirkung gehemmt. Analog zu den Untersuchungen an *Euphorbia pulcherrima* fand die Bestimmung der Konzentrationsabhängigkeit statt, wobei für eine Konzentration IES drei der fünf Drüsen einer Blüte auf dem Auxin, zwei auf Wasser kultiviert wurden. Die Nektarien stammten stets aus Blüten des frühen Stadiums 5. Das Ergebnis ist in

Figur 8 *B* dargestellt. Stärkste Hemmwirkung verzeichnete die Auxinkonzentration 10^{-5} Mol/l; die Empfindlichkeit ist also gegenüber *Euphorbia-* und *Impatiens*-Nektarien geringer. In Figur 11 ist der Sekretionsablauf für diese Konzentration demjenigen der Kontrolle gegenübergestellt. Es ist bemerkenswert, daß Nektarien von *Abutilon* nur vorübergehend starke Hemmsymptome aufweisen. In kleinerem Ausmaß war dies auch bei *Impatiens* der Fall. Dies mag in der Auxinzerstörung an den Schnittflächen, wie sie häufig beobachtet wird (67), begründet sein. Kurve *B* in Figur 11 zeigt zum Vergleich die Reaktion dick geschnittener Nektarien auf 10^{-5} Mol/l IES. Die gesteigerte Zuckerausscheidung rührt wahrscheinlich von einer aktivierten Aufnahme her. Interessanterweise kann man oft an alten Drüsen aus Blütenstadium 7 diese Erschei-



Figur 11
Abutilon striatum. Sekretionsablauf auf 5-%-Glucose kultivierter Nektarien unter Einfluß von B = 10^{-5} Mol/l Heteroauxin, Sekretionsgewebe nicht in Kontakt, C wie B, aber Sekretionsgewebe in Kontakt mit dem Substrat, D = 5.10^{-4} Mol/l Ascorbat; A = Kontrolle

nung nicht mehr feststellen. Meist zeigen sie starke Hemmung, obwohl ihr Sekretionsgewebe vom Wuchsstoff nicht bestrichen wird.

2. Zur Rolle der Ascorbinsäure in der Nektarsekretion

Im Extrakt von *Euphorbia*-Nektarien wurde ein nicht genauer untersuchtes Ascorbinsäurederivat gefunden. Es ist bekannt, daß viele Gewebe mit sehr aktivem Stoffwechsel, insbesondere sezernierende Zellen von Droserablättern, reich an Ascorbinsäure (AS) sind (79). Die Riesennektarien von *Abutilon striatum* ermöglichten eine quantitative Untersuchung des AS-Gehaltes von Honigdrüsen während der Sekretion.

Nektarien aller Blütenstadien wurden isoliert und zum Teil zur Ascorbinsäuretitration, zum Teil zur Ermittlung ihrer Ausscheidungsintensität in vitro verwendet. Pro Stadium wurden drei Blüten verarbeitet. Die oxydierte Form der AS fand keine Berücksichtigung. In Tabelle 3 sind die ermittelten Daten registriert.

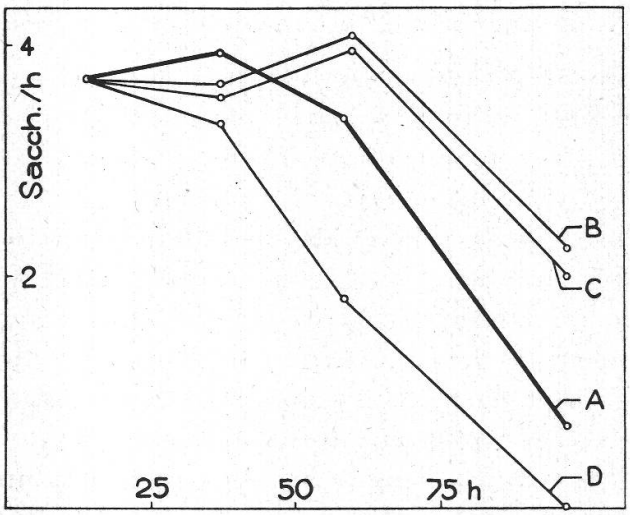
Der AS-Gehalt der Drüsen spiegelt ganz offensichtlich die Intensität ihres Stoffwechsels wieder. Er ist am höchsten während des raschen Wachstums der Kelchblätter (Stadien 2 und 3), sinkt kurz vor dem Sekretionsbeginn ab, um die einsetzende Drüsentätigkeit durch erneutes Ansteigen anzuzeigen. Schließlich sinkt er mit den fallenden Sekretionsraten älterer Nektarien ebenfalls ab. Die angegebenen Zuckerausscheidungen beziehen sich auf die ersten drei Stunden der Kultur. Drüsen der Stadien 2 und 3 gelangen nach 4- bis 5stündiger Untätigkeit auf Zuckerlösungen ebenfalls zur Sekretion. Offenbar ist diese erst möglich, wenn ein ganz bestimmter physiologischer Zustand erreicht worden ist.

Tabelle 3

Abutilon striatum. Ascorbinsäuregehalt und Sekretionstätigkeit kultivierter Nektarien in Abhängigkeit vom Blütenalter. Substrat 5-%-Glucose

Blütenstadium	mg AS pro g Frischgewicht	γ Zucker pro h	Blütenstadium	mg AS pro g Frischgewicht	γ Zucker pro h
1	—	0	5	0,165	143
2	0,220	0	6	0,178	157
3	0,205	0	7 52 h	0,126	32
			7 124 h	0,073	2
4	0,110	38	8	0,027	0

Die Bildung der AS stellt im pflanzlichen Stoffwechsel eine Nebenreaktion der direkten Glucoseoxydation dar (48, 63). Ihre Bedeutung scheint komplexer Natur zu sein. Gesichert ist ihre Rolle als Reduktionsmittel für die weit verbreitete Ascorbinsäureoxydase (8, 17, 42). Dabei



Figur 12

Impatiens Holstii. Kultur von Blattstielnektarien auf 5-%-Saccharose (A) mit Zusatz von 5.10^{-7} Mol/l (B), 5.10^{-5} Mol/l (C) oder 5.10^{-3} Mol/l Ascorbat (D)

hat sich herausgestellt, daß IES hemmend in dieses Terminaloxydasesystem eingreift (72) und dazu auch die AS-Synthese beeinflußt (3, 72). Tonzig et al. (73) sind nach eingehenden Untersuchungen zur Auffassung gelangt, daß sich aus AS, ihrer oxydierten Form und IES ein System von Antagonisten ergibt, unter dessen Kontrolle verschiedene Redoxsysteme (72, 73) und Teile des Wasserhaushalts (71) und vermutlich auch des Streckungswachstums (53) stehen. Es drängte sich angesichts dieser Tatsachen die Frage auf, ob die während der Sekretion gefundenen Veränderungen im AS-Gehalt Ursache oder Wirkung des Ausscheidungsstoffwechsels darstellen. Als Grundlage einer Beantwortung wurde an *Abutilon* und *Impatiens* die Reaktion der Nektarien auf zusätzliche AS-Gaben geprüft. In Figur 11 *D* ist das Ergebnis für die Wirkung von 5.10^{-4} Mol/l K-Ascorbat (vgl. S. 244) auf Nektarien von *Abutilon,* in Figur 12 für verschiedene Ascorbatgaben an Blattstielnektarien von *Impatiens* dargestellt. In beiden Fällen bewirkte die AS nach vorübergehender Hemmung (der Zuckeraufnahme?) eine deutliche Steigerung der Nektarsekretion. Hohe Konzentrationen wirken offenbar auf die Blattstiele von *Impatiens* toxisch. Über den Transport der AS zu den Nektarien können ähnliche Überlegungen wie über die apolare Auxinbewegung angestellt werden.

Diese vorläufigen Ergebnisse zeigen, daß der Ascorbinsäuregehalt tätiger Drüsen nicht lediglich als Folgeerscheinung ihres Stoffwechsels aufzufassen ist. Vermutlich besitzt die Säure sekretionssteuernde Funktion, möglicherweise im Verein mit einem Auxin. In eingehenderen Studien wäre auch die Dehydroascorbinsäure zu berücksichtigen.

VI. Diskussion

1. Zur Bedeutung der Auxinempfindlichkeit der Nektarsekretion

Wir haben uns die Frage zu stellen, inwiefern die Auxinempfindlichkeit der Nektarsekretion in vitro zur Drüsentätigkeit in vivo in Beziehung stehe. Dazu müssen vorerst die Kenntnisse über den Wuchsstoffhaushalt der drüsentragenden Organe herangezogen werden.

Nach Söding (64) gelingt es, aus den Blattstielen wachsender Blätter Wuchsstoff abzufangen. Dagegen geben ausgewachsene Objekte nur noch Spuren ab. Dieser Auxinstrom aus dem wachsenden Gewebe erklärt sich aus ihrem Bedarf an Aufbaustoffen, deren Mobilisation durch den abgesonderten Wuchsstoff im basalen Gebiete induziert wird (6, 46). Blattstielnektarien von *Impatiens* und *Passiflora* sind häufig an wachsenden Blättern schon voll ausgebildet, ohne indessen zu sezernieren. Die alte Erklärung dieser Beobachtung lautete auf fehlenden Zuckerüberschuß im Phloem, da das sich entwickelnde Blatt über den gesamten Bildungssaft verfügen müsse. Wir dürfen, gestützt auf die vorliegenden Resultate, hinzufügen, daß der Auxinstrom von der Spreite her wahr-

scheinlich die Drüsentätigkeit hemme und erst durch sein Versiegen zur Zeit der Blattmaturität volle Sekretion erlaube. Die Beobachtung, daß Stecklinge von *Impatiens* oft durch die Hydathoden junger Blättchen Zucker ausscheiden, während die Nektarien trocken bleiben, gibt einen Hinweis in dieser Richtung.

Der Auxinstoffwechsel von Blüten und Blütenteilen ist sehr kompliziert. Es ist wahrscheinlich, daß die Wachstumssteuerung von Laub- und Blütenblättern analog vor sich geht, was sich in einem basipetalen Wuchsstoffstrom in Stielen wachsender Blüten äußert (64). Die Vorgänge in der reifen Blüte, Befruchtung der Eizelle, Embryo- und Samenentwicklung, unterstehen ebenfalls hormonalen Gesetzen. So kann bekanntlich der durch bestäubende Pollenkörner ausgelöste Wuchsstoffreiz auf die Eizelle durch Applikation synthetischer Auxine nachgeahmt und zur Erzeugung künstlicher Parthenokarpie verwendet werden (29, 43, 56). Ferner ist eine Diffusion von Wuchsstoffen aus befruchteten Eizellen und aus Endospermien auf den Kohlehydratstoffwechsel der Blüte wirksam (70). Möglicherweise steht ein erneutes Wachstum des Blütenstiels nach der Befruchtung in Zusammenhang mit diesen Vorgängen (64).

Die beginnende Sekretion der Blütennektarien nach dem Wachstumsabschluß der Blütenblätter ist mit dem Ende einer Wuchsstoffeinwirkung zu erklären. Es hat sich ja bei *Abutilon* gezeigt, daß Nektarien wachsender Blüten bereits sekretionsfähig sind, durch irgendeinen Faktor aber in der Zuckerausscheidung gehindert werden. Nach den Erkenntnissen über den Auxinstoffwechsel reifer Blüten erscheint es fragwürdig, ob die Ausscheidungsdauer lediglich durch Kohlehydratüberschüsse bedingt ist. Es ist zu bedenken, daß eine erneute Hemmung, die sich aus der Diffusion von Auxinen in die Drüsen in Zusammenhang mit Bestäubung und Befruchtung ergibt, für die Bedürfnisse der Blüte bedeutungsvoll sein kann, da große Mengen von Kohlehydraten beim Wachstum der Früchte verbraucht werden. Klare Vorstellungen der Zusammenhänge lassen sich indessen erst nach eingehender Untersuchung der Verhältnisse an den Blüten selbst gewinnen.

Es muß daran erinnert werden, daß alle Auxinwirkungen auf Nektarien mit einem synthetischen Hormon erzielt wurden. Heteroauxin ist wohl in den Pflanzen weit verbreitet; jedoch steuert es nicht alle Reaktionen, die es im Experiment verursacht, selbst, sondern steht in Wechselwirkung zu andern noch unbekannten Hormonen. Für die Beurteilung des Werts unserer Experimente muß die Einschränkung gemacht werden, daß die Nektarien an ihrem natürlichen Standort eventuell unter dem Einfluß anderer Wirkstoffe stehen.

Sollte sich die Auxinbeeinflussung der Nektarsekretion auch an der Pflanze nachweisen lassen, würde die alte Bezeichnung als Saftventil die Funktionen der Nektarien sehr zutreffend zum Ausdruck bringen;

versteht man doch in der Technik unter einem Ventil eine gesteuerte Vorrichtung.

2. Zur Mechanik der Nektarsekretion

Das einzige Kohlehydrat im Siebröhrensaft ist nach Wanner (77) und andern Autoren (37, 85) Saccharose. Durch die Phloeminnervation wird dieser Zucker somit den Nektarien zugeführt. Dabei ist allerdings die Einschränkung hinzuzufügen, daß Saccharose den Wanderzucker vakuolisierter Siebröhren darstellt. Da die Nektarien hingegen durch Protophloemelemente (23) versorgt werden, kann auch eine andere Transportform der Zucker, zum Beispiel ein Phosphatester, in Frage kommen. Nach Ziegler (84) steht die hohe Phosphataseaktivität der Phloemenden und Sekretionszellen im Drüsenbezirk von *Abutilon* mit dem Saccharoseübertritt aus dem Phloem ins Nektarium in Zusammenhang. Der Autor stützt sich dabei auf die Vorstellungen über analoge Vorgänge in den Leitbündeln, wonach die Rohrzuckerentnahme aus den Siebröhren unter Rohrzuckerinversion und Phosphorylierung der Hexosen geschieht (78). Ziegler vermutet metabolische Bewegung der Monosenphosphate durch das Drüsengewebe und schreibt der im Nektar scheinbar universell verbreiteten Transhexosidase (44, 87) die Neubildung von Saccharose vor der Ausscheidung zu.

Es fehlen indessen jegliche Anhaltspunkte für eine solche Annahme, denn es wurde in Nektarien von *Euphorbia pulcherrima* hauptsächlich Saccharosephosphat gefunden, während die Hexosephosphate zurücktreten. Möglicherweise wird die Saccharose als ganzes Molekül beim Eintritt ins Sekretionsgewebe phosphoryliert (oder bereits als Ester zugeführt). Ihre Wanderung durch die Drüse und die Ausscheidung unter Abspaltung der Phosphorsäure ist, wie die Hemmversuche zeigten, mit Atmung und Phosphatstoffwechsel gekoppelt. Ein Teil der aufgenommenen Saccharose wird natürlich im internen Stoffwechsel der Sekretionszellen verbraucht.

Zimmermann (87) hat aus dem zeitlichen Verlauf des Saccharosezerfalls im Nektar die Einwirkungsdauer der Invertase in der Drüse auf vier Tage extrapoliert. So lange wird nun aber der Zucker niemals im Nektarium bleiben, weshalb richtiger geschlossen werden muß, daß die Hydrolyse im Drüsengewebe wesentlich rascher verlaufen muß als im Sekret. Die Invertase ist in den Zellen anderer Objekte an der Oberfläche des Cytoplasmas lokalisiert (41, 57, 58) und kann Saccharose extrazellulär spalten. Übertragen auf Nektarien heißt dies, daß die ausgeschiedene Saccharose offenbar ein bestimmtes Wegstück extrazellulär zurücklegt und dabei rasch durch solche Invertasen gespalten wird. Die von Zimmermann im Nektar nachgewiesene Invertase kann vielleicht auf durch den Nektarstrom weggerissene Enzymmakromoleküle zurückgeführt werden. Extrazellulär in der Drüse vorliegender Nektar trägt zu

einem besseren Verständnis von Resorptionsvorgängen während oder nach der Sekretion bei.

Interessant ist die Reaktion der Bienen auf die Nektarbeschaffenheit. Ihr Geschmacksorgan ist auf die Invertierung der Saccharose eingespielt; aus einer Auswahl von Lösungen der einzelnen Nektarzucker und deren natürlichem Gemisch vermögen sie letzteres wahrzunehmen und zu bevorzugen (82).

Huber (34) vergleicht die Geleitzellen von Siebröhren, denen er die treibende Kraft der Massenbewegung von Saccharose in den Siebröhren beimißt, mit den Sekretionszellen von Nektarien. In der Tat besitzen sie nebst cytologischen Ähnlichkeiten gemeinsam eine hohe Phosphataseaktivität (78) und die Fähigkeit zur Saccharosesynthese (51). Setzen wir voraus, daß sich die Ähnlichkeit auch über Zuckersekretion und Zuckerresorption erstrecke, ergibt sich eine interessante Konzeption des Phloemtransports: Nicht irgendwelche Saugspannungspotentiale (5) lösen danach einen Saftstrom in den Siebröhren aus, sondern die Sekretions- resp. Resorptionsaktivität der Geleitzellen am Produktions- resp. Verbrauchsort des Zuckers. Diese Anschauung trägt nicht allen berechtigten Einwänden gegen den Konvektionsstrom in den Siebröhren Rechnung, erklärt hingegen Atmungs- (38) und Temperaturabhängigkeit (10, 68) sowie die Saccharosebewegung gegen einen Gradienten (37). Die Vorstellung Schumachers (60), daß sich die aktive Zuckerbewegung im Siebröhrenplasma abspiele, läßt sich anhand der metabolisch bedingten Transportgeschwindigkeiten durch die Nektarien diskutieren; sie beträgt dort ungefähr 10^{-2} bis 10^{-3} cm/h, liegt also um Zehnerpotenzen unter den Transportgeschwindigkeiten in Siebröhren. Verschiebung phosphorylierter Zucker im Plasma speziell von jungen Siebröhren ist aber sicher möglich.

VII. Zusammenfassung

1. Das Nektarium von *Euphorbia pulcherrima* vermag in vitro nebst Glucose und Fructose auch Galactose, Lactose und möglicherweise Sorbose zur Saccharosesynthese zu verwenden. Vom Stoffwechsel nicht erfaßt wurden Mannose, Maltose, Cellobiose, Raffinose, Mannit und Galacturonsäure. Nektarien von *Abutilon striatum* synthetisieren Saccharose aus Glucose und Fructose, nicht aber aus Ribose. Blattstielnektarien von *Impatiens Holstii* scheiden in Kultur sowohl auf Saccharose als auch auf Glucose und Fructose stets nur Saccharose aus.
2. Aus Nektarien von *Euphorbia pulcherrima* konnten phosphorylierte Saccharose, Glucose-6-Phosphat und ein Fructosemonophosphat nachgewiesen werden. An freien Zuckern wurden Saccharose,

Glucose, Fructose sowie Xylose und ein Ascorbinsäurederivat gefunden.

3. Zuckeraufnahme und -ausscheidung durch Nektarien von *Abutilon striatum* ist hemmbar durch die Stoffwechselgifte Azid, Cyanid, 2,4-Dinitrophenol, Fluorid und Arsenit, jene der Blattstielnektarien von *Impatiens Holstii* durch Azid, Arsenit und 2,4-Dinitrophenol.
4. Physiologische Konzentrationen von β-Indolylessigsäure hemmen die Nektarsekretion bei *Euphorbia* stark, schwächer bei *Abutilon,* und nur wenn das Sekretionsgewebe mit dem Auxin in Kontakt steht.
5. Blattstiele von *Impatiens* zeigen einen polaren Auxintransport von der Spreite gegen den Trieb. Die Hormonwirkung auf die Nektarsekretion in vitro konnte an diesem Objekt in Ausscheidungshemmung und Aktivierung der Zuckeraufnahme zerlegt werden.
6. Das Sekretionsmaß der Nektarien von *Abutilon* in vitro und ihr Ascorbinsäuregehalt entwickeln sich im Verlauf der Blütezeit gleichsinnig. Zusatz von Ascorbat physiologischer Konzentration zu Kulturen der Drüsen von *Abutilon* und *Impatiens* steigert die Sekretionsrate.

VIII. Literaturverzeichnis

1. Agthe, C. (1951). Ber. Schweiz. Bot. Ges., **61,** 240.
2. Allen, R. J. L. (1940). Biochem. J., **34,** 858.
3. Asselbergs, E. A. M., Francis, F. J. (1952). Canad. J. Bot., **30,** 665.
4. Bacon, J. S. D., Edelmann, J. (1951). Biochem. J., **48,** 114.
5. Bauer, L. (1953). Planta, **42,** 367.
6. Bausor, S. C. (1942). Bot. Gaz., **104,** 115.
7. Beal, J. M.(1940). Bot. Gaz., **102,** 366.
8. Beevers, H. (1954). Plant Physiol., **29,** 265.
9. Boëtius, J. (1948). Beih. Schweiz. Bienenztg., **2,** 257.
10. Böhning, R. H., Swanson, C. A., Linck, A. J. (1952). Plant Physiol., **27,** 417.
11. Bonnier, G. (1879). Les Nectaires. Thèse, Paris.
12. Brown, R. (1952). Int. Rev. Cytol., **1,** 107.
13. Buchanan, J. (1953). Arch. Biochem. Biophys., **44,** 140.
14. Burrows, S., Grylls, F., Harrison, J. (1952). Nature, **170,** 800.
15. Cardini, C. E., Leloir, L. F., Chiriboga, J. J. (1955). J. biol. Chem., **214,** 149.
16. Carlisle, E., Ryle, M. (1955). Empire J. Exper. Agricult., **23,** 126.
17. Chayen, J. (1953). Int. Rev. Cytol., **2,** 77.
18. Christiansen, G. S., et al. (1949). Plant Physiol., **24,** 178.
19. Czarnowski, C. von (1952). Z. Bienenforsch., **1,** 171.
20. Dahlgren, K. V. O. (1940). Särtryck ur Svensk Bot. Tidskrift, **34,** 53.

21. Fahn, A. (1949). Palestine J. Bot., **4,** 207.
22. Franke, W. (1955). Moderne Methoden der Pflanzenanalyse Bd. 2, Berlin Springer-Verlag.
23. Frei, E. (1955). Ber. Schweiz. Bot. Ges., **65,** 60.
24. Frey, G. (1954). Ber. Schweiz. Bot. Ges., **64,** 390.
25. Frey-Wyssling, A. (1933). Ber. Schweiz. Bot. Ges., **42,** 109.
26. — (1955). Acta Bot. Neerland., **4,** 358.
27. — Agthe, C. (1950). Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges., **130,** 175.
28. — Zimmermann, M., Maurizio, A. (1954). Exper., **10,** 491.
29. Gustafson, F. G. (1942). Bot. Rev., **8,** 599.
30. Hanes, C. S., Isherwood, F. A. (1949). Nature, **164,** 1107.
31. Hasler, A., Maurizio, A. (1949). Phytopath. Z., **15,** 193.
32. — — (1950). Schweiz. Landwirtsch. Monatsh., **6,** 201.
33. Huber, B. (1941). Ber. Dtsch. Bot. Ges., **59,** 181.
34. Huber, B. (1955). Fortschritte Bot., **17,** 483.
35. Jacobs, W. P. (1954). Amer. Naturalist, **88,** 327.
36. James, W. O. (1953). Ann. Rev. Plant Physiol., **4,** 59.
37. Kursanov, A. L., Turkina, M. V. (1955). Ber. wiss. Biol., **96,** 185.
38. — — Dubinina, I. M. (1955). Ber. wiss. Biol., **96,** 185.
39. Leloir, L. F., Cardini, C. E. (1953). Ann. Rev. Biochem., **22,** 179.
40. — — (1955). J. biol. Chem., **214,** 157.
41. Lowe, J. S. (1950). Proc. 7. int. bot. Congr. Stockholm, 753.
42. Mapson, L. W., Moustafa, E. M. (1956). Biochem. J., **62,** 248.
43. Marrè, E., Murneek, A. E. (1953). Plant Physiol., **28,** 255.
44. Maurizio, A. (1954). Int. Bee-Keeping Congr. Copenhagen. Rés. 40.
45. Meeuse, J. D., et al. (1952). Biochem. Biophys. Acta, **8,** 478.
46. Mitchell, J. W., et al. (1940). Bot. Gaz., **102,** 97.
47. Nelson, N. (1944). J. biol. Chem., **153,** 375.
48. Paech, K. (1955). Fortschritte Bot., **17,** 578.
49. Partridge, S. M. (1951). Biochem. Soc. Symp., **3,** 52.
50. — Westhall, R. G. (1948). Biochem. J., **42,** 238.
51. Pavlinova, O. A. (1955). Chem. Abstr., **49,** 16 081.
52. Putman, E. W., Hassid, W. Z. (1954). J. biol. Chem., **207,** 885.
53. Raadts, E., Söding, H. (1947). Naturwiss., **34,** 344.
54. Radtcke, F. (1926). Planta, **1,** 379.
55. Raw, G. R. (1953). Bee World, **34,** 23.
56. Redemann, C. T., et al. (1951). Arch. Biochem. Biophys., **32,** 80.
57. Saïd, H. (1950). Proc. 7. int. bot. Congr. Stockholm, 754.
58. — (1954). Rapp. 8. Congr. int. Bot. Paris, **11,** 110.
59. Schöntag, A. (1953). Z. vergl. Physiol., **35,** 519.
60. Schumacher, W. (1947). Naturwiss., **34,** 176.
61. Shuel, R. W. (1955). Canad. J. Agricult. Science, **35,** 124.
62. — (1956). Canad. J. Bot., **34,** 142.
63. Sivarama, S. K., Sarma, P. S. (1956). Biochem. J., **62,** 451.
64. Söding, H. (1938). Flora, **132,** 425.
65. — (1952). Die Wuchsstofflehre. Stuttgart, Thieme-Verlag.
66. Somogyi, M. (1945). J. biol. Chem., **160,** 61.
67. Steeves, T. A., et al. (1953). Amer. J. Bot., **40,** 534.

68. Swanson, C. A., Böhning, R. H. (1951). Plant Physiol., **26,** 557.
69. Thimann, K. V. (1948). Plant Hormones. The Hormones Bd. 1. New York.
70. — (1954). Rapp. 8. Congr. int. Bot. Paris, **11,** 114.
71. Tonzig, S., Trezzi, F. (1954). Rapp. 8. Congr. int. Bot. Paris, **11,** 157.
72. — Marrè, E. (1955). RC. Ist. Lombardo, **89,** 243.
73. — et al. (1955). RC. fis. Accad. Lincei, **4,** 109.
74. Trezzi, F. (1954). Rapp. 8. Congr. int. Bot. Paris, **11,** 148.
75. Wallenfels, K. (1950). Naturwiss., **37,** 491.
76. — (1953). Angew. Chem., **65,** 581.
77. Wanner, H. (1953). Ber. Schweiz. Bot. Ges., **63,** 162.
78. — Frey, G. (1952). Planta, **41,** 190.
79. Weber, F. (1940). Ber. Dtsch. Bot. Ges., **58,** 370.
80. Wolff, G. P. (1924). Bot. Arch., **8,** 305
81. Wykes, G. (1947). Austral. Beekeeper, **49,** 38.
82. — (1952). J. exper. Biol., **29,** 511.
83. — (1952). New Phytol., **51,** 294.
84. Ziegler, H. (1955). Naturwiss., **42,** 259.
85. — zitiert nach Huber (34).
86. Zimmermann, M. (1953). Ber. Schweiz. Bot. Ges., **63,** 402.
87. — (1954). Exper., **10,** 145.
88. — persönliche Mitteilung.