

Zeitschrift: Verhandlungen der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft.
Wissenschaftlicher und administrativer Teil = Actes de la Société
Helvétique des Sciences Naturelles. Partie scientifique et administrative
= Atti della Società Elvetica di Scienze Naturali

Herausgeber: Schweizerische Naturforschende Gesellschaft

Band: 151 (1971)

Vereinsnachrichten: Sektion für Botanik

Autor: [s.n.]

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: 23.01.2026

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

3. Sektion für Botanik

Schweizerische Botanische Gesellschaft
Société Botanique Suisse

Präsident: Prof. Dr. H. WANNER, Institut für allgemeine Botanik,
Künstlergasse 16, 8000 Zürich

Sekretär: Prof. Dr. H. R. HOHL, Cytologische Abteilung,
Institut für allgemeine Botanik, Birchstrasse 95, 8050 Zürich

Samstag, 9. Oktober 1971

Wissenschaftliche Sitzung (I. Teil)

*Sektion II: Pflanzenphysiologie (gemeinsam mit der Pflanzen-
physiologischen Gesellschaft)*

1. J.S.G. REID und H. MEIER (Universität Freiburg/Schweiz): *Der Kohlenhydratmetabolismus im keimenden Samen von Trigonella foenum-graecum (Leguminosae)*

Die meisten als Nahrungsmittel verwendeten Leguminosensamen, wie Erbsen, Bohnen, Erdnüsse usw., sind «exalbuminär», d. h., sie besitzen kein Endosperm; der Embryo hat dasselbe während der Samenbildung vollständig resorbiert. Die Reservestoffe dieser «exalbuminären» Leguminosensamen (Stärke, Öle, Proteine) sind in den Kotyledonen lokalisiert. – Es gibt jedoch daneben zahlreiche Leguminosensamen mit einem deutlich ausgebildeten Endosperm, das als Reservestoff ein ganz spezielles Polysaccharid, nämlich ein Galaktomannan, enthält. Dieses besteht aus einer linearen Hauptkette von β -1,4-verknüpften Mannoseresten. An eine Anzahl derselben sind Galaktosereste α -1,6-glykosidisch gebunden. Das Verhältnis Galaktose:Mannose variiert bei verschiedenen Arten und ist von chemotaxonomischer Bedeutung [1]. Im Hinblick auf die landwirtschaftliche, industrielle und pharmazeutische Bedeutung mancher endospermhaltiger Leguminosensamen, wie Klee, Luzerne, Guar, Carob, Trigonella usw., führen wir gegenwärtig einige Untersuchungen durch über deren Galaktomannanmetabolismus. Im folgenden soll über den Abbau der Galaktomannane und diverser niedermolekularer Reservekohlenhydrate bei der Keimung der Samen von Trigonella foenum-graecum, dem Bockshornklee, berichtet werden. Es handelt sich dabei um eine in den Mittelmeerländern angebaute Medizinalpflanze, deren Samen vorwiegend als Schleimdroge verwendet werden.

Das zwischen Samenschale und Kotyledonen des Bockshornsamens liegende Endosperm wird nach aussen durch die Aleuronschicht abgegrenzt. Innerhalb von ihr liegt das Reservegewebe, dessen Zellen vollständig mit Galaktomannan ausgefüllt sind. Die Mobilisation desselben wurde sowohl mikroskopisch als auch durch chemische Analysen des

Endosperms und der Embryonen in verschiedenen Keimungsstadien verfolgt. Auf Grund unserer Resultate [2] kann der Keimungsprozess in drei distinkte Phasen unterteilt werden:

Phase 1, welche mit dem Austritt der Radicula oder schon etwas vorher beginnt, dauert bei einer Temperatur von 24 °C rund 18 h. Während dieser Zeit ist weder morphologisch noch chemisch eine Veränderung des Reservegalaktomannans feststellbar. Hingegen werden bereits in dieser Phase die niedermolekularen Reservezucker der Raffinose-Stachyose-Serie mobilisiert, welche sich sowohl im Endosperm als auch in den Kotyledonen befinden. Die sich an Phase 1 anschliessende *Phase 2* dauert rund 24 h. In dieser Zeit wird das Reservegalaktomannan vollständig abgebaut zu freier Galaktose und Mannose. Gleichzeitig erfolgt in den Kotyledonen eine Synthese von Saccharose und Stärke. Morphologisch wird im Endosperm eine Auflösungszone sichtbar, und am Ende der 2. Phase sind von den Reservezellen im Endosperm nur noch die dünnen, nicht abgebauten Primärwände sichtbar. – In der folgenden *3. Phase* werden die in den Kotyledonen gebildete Stärke und Saccharose wieder abgebaut. Im Endosperm sind keine freien Zucker und kein Galaktomannan mehr nachweisbar.

Es kann daraus geschlossen werden, dass die beim Galaktomannanabbau entstehende Galaktose und Mannose von den Kotyledonen aufgenommen und unmittelbar in Saccharose und Stärke umgewandelt werden. Logischerweise muss man sich nun die Fragen stellen: Was für Enzyme bewirken den Galaktomannanabbau? Wo werden sie gebildet? Welche Rolle spielt die Aleuronschicht?

Die Fragen nach dem Bildungsort der abbauenden Enzyme und nach der Funktion der Aleuronschicht können wir auf Grund der folgenden Versuche bereits beantworten: Aus Aleuronschicht und Reservegewebe bestehendes Endosperm wurde aus trockenen Samen vom Embryo abgetrennt und unter Keimungsbedingungen gebracht. Es wurde gezeigt, dass der Galaktomannanabbau im isolierten Endosperm ohne Embryo genau gleich erfolgt wie in ganzen Samen. Der Abbau im isolierten Endosperm konnte durch verschiedene Antimetaboliten beeinflusst werden. So wurde er vollständig verhindert durch Zugabe von Cycloheximid, fast vollständig durch Dinitrophenol und teilweise durch Actinomycin C. Dies lässt vermuten, dass der Galaktomannanabbau absolut abhängig ist von Proteinsynthese und ATP-Bildung und möglicherweise auch von der Synthese von Boten-RNS zu Beginn der Keimung. Da im Endosperm die Aleuronzellen die einzigen lebenden Zellen sind, darf als sicher betrachtet werden, dass der Galaktomannanabbau unbedingt abhängig ist von der Atmung und der Synthese von Enzymproteinen in denselben. Die folgenden elektronenmikroskopischen Bilder von Aleuronzellen in den verschiedenen Phasen der Keimung weisen ebenfalls stark darauf hin, dass zu Beginn der Phase 2 eine intensive Proteinsynthese stattfinden muss. Die gebildeten Enzymproteine lösen dann nicht nur die Galaktomannane der Reservegewebszellen auf, sondern sie greifen zum Teil auch die Zellwände der Aleuronzellen an.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass 1. der Galaktomananabbau im Endosperm der Trigonella-Samen unabhängig vom Embryo erfolgt und dass 2. die für den Abbau notwendigen Enzyme in den ersten Keimungsstadien in den Aleuronzellen synthetisiert und ins Reservegewebe sezerniert werden.

LITERATUR

1. REID, J.S.G., und MEIER, H.: Z. Pflanzenphysiol. 62: 513 (1970).
2. REID, J.S.G.: Planta 100: 131 (1971).

2. Y. VARDAR and M. AHMED (Department of Botany, Ege University, Izmir, Turkey): *Water relations of Myrtus communis seeds*

1. Introduction

The seeds (grains) constitute 80 percent of the worlds food supply and 75 percent of the food directly eaten by man. Seed research, as such, is one of the most important branches of applied science requiring the services of geneticists, physiologists, pathologists, entomologists, biochemists and ecologists. One faces multitudinous problems in seed research. The most important of all these problems is germination. Various processes are involved in this phenomenon such as: water absorption leading to increase in volume, cell enlargement and cell division, increase in enzyme activity, translocation of food, increase in respiration and finally differentiation of tissues and organs. The exact sequence of these steps is not clear, but with some exception imbibition of water is regarded to be foremost in the chain of events leading to seed germination. Keeping this in view, in the present studies an attempt has been made to assess the water relations of seeds of *Myrtus communis* var. *melanocarpa* and *Myrtus communis* var. *leucocarpa*. Both these varieties are economically important and widely distributed in the West Anatolian part of Turkey.

2. Material and methods

In all experiments air dried seeds—collected from Izmir and its environs—were used. The osmotic pressure of the NaCl solutions was calculated from the values given by SHULL (1916) at 23.5 °C and that of sugar solutions from the data given by GARNER (1929) at 25–30 °C. To determine the moisture content of soil in terms of its percentage field capacity, soils from the garden were taken. These were air dried and a weighed quantity placed in the petri-dishes of known weight. The soils were fully saturated with water and allowed to dry out till they showed water content of desired field capacity. The latter was maintained by adding water at regular intervals. In case of germination experiments a seed was classed as germinated if it developed a distinct radicle.

3. Results and discussion

3.1 Temperature and moisture intake

One of the most critical factors in determining germination of seeds in the soil is an appropriate combination of temperature and moisture (MAYER and MAYBER, 1963). According to BROWN and WORELY (1912) rate of absorption of water by seeds was an exponential function of the temperature. On the other hand, SHULL (1920) reported that absorption rate, while increasing with temperature, was an inverse exponential function of the amount of water previously absorbed. OHGA (1926) observed that the rate of water absorption in *Nelumbo nucifera* seeds was higher at high temperatures, but the time course of the process was not affected. POPTZOFF (1932) found that rate of moisture absorption increases at higher temperatures but the total amount absorbed was less. KAUL (1965) and KOUL (1968) propounded that different temperatures produce a profound effect on the rate as well as total quantity of moisture intake of seeds. The results obtained during the present investigations show that although rate of imbibition—in both the varieties of *Myrtus communis*—at 30 °C and 21 °C is more rapid than at 5 °C but, the total percentage moisture absorbed at 5 °C is only slightly less than at 30 °C and 21 °C (fig. 1 a, 1 b).

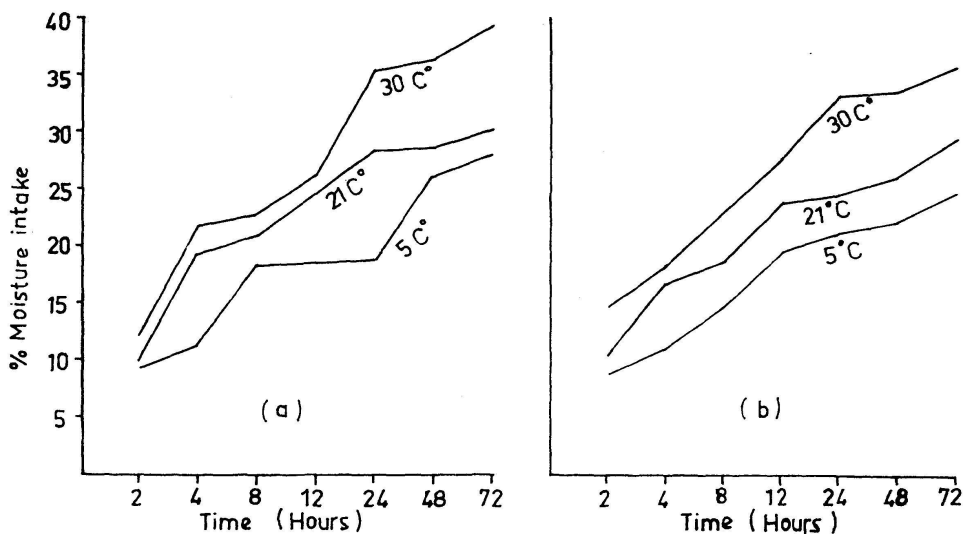


Fig. 1 — Moisture intake of seeds of (a) MYRTUS COMMUNIS VAR. MELANOCARPA and (b) MYRTUS COMMUNIS VAR. LEUCOCARPA at different temperatures.

3.2 Moisture intake from different osmotic solutions

Using the technique put forth by SHULL (1916), KAUL (1965) and KOUL (1968) intake of water in different concentrations of NaCl (0.1-saturated) on an hourly basis was determined. The results are given in table I.

Table I

Water intake of *Myrtus communis* seeds at 25 °C from various osmotic solutions of NaCl
(Mean value of three observations)

Molar solution	Variety	Moisture intake in % air dry weight						OP (atm.)
		3 h	6 h	9 h	12 h	24 h	48 h	
Water	a	10.93	20.77	23.63	26.81	28.37	31.73	0.0
	b	11.71	17.87	21.89	25.41	27.65	33.59	
0.1 M	a	8.81	17.56	22.05	24.19	28.08	31.78	3.71
	b	11.97	18.21	19.05	21.93	25.31	29.37	
0.5 M	a	7.78	13.63	19.13	23.01	24.17	27.39	18.79
	b	9.85	16.45	18.81	19.41	23.94	28.96	
1.0 M	a	7.03	11.71	15.62	17.93	21.29	27.01	37.09
	b	9.11	11.88	13.27	19.05	21.75	27.41	
2.0 M	a	5.49	8.66	12.09	14.87	18.11	22.33	71.22
	b	7.06	7.91	10.96	17.66	19.29	25.09	
3.0 M	a	4.73	6.79	9.43	13.03	15.70	17.19	101.92
	b	3.17	4.57	7.09	11.79	17.67	17.93	
4.0 M	a	1.89	3.38	5.22	8.47	11.81	13.23	128.97
	b	1.43	2.63	2.69	9.03	11.69	11.75	

a: *Myrtus communis* var. *melanocarpa*

b: *Myrtus communis* var. *leucocarpa*

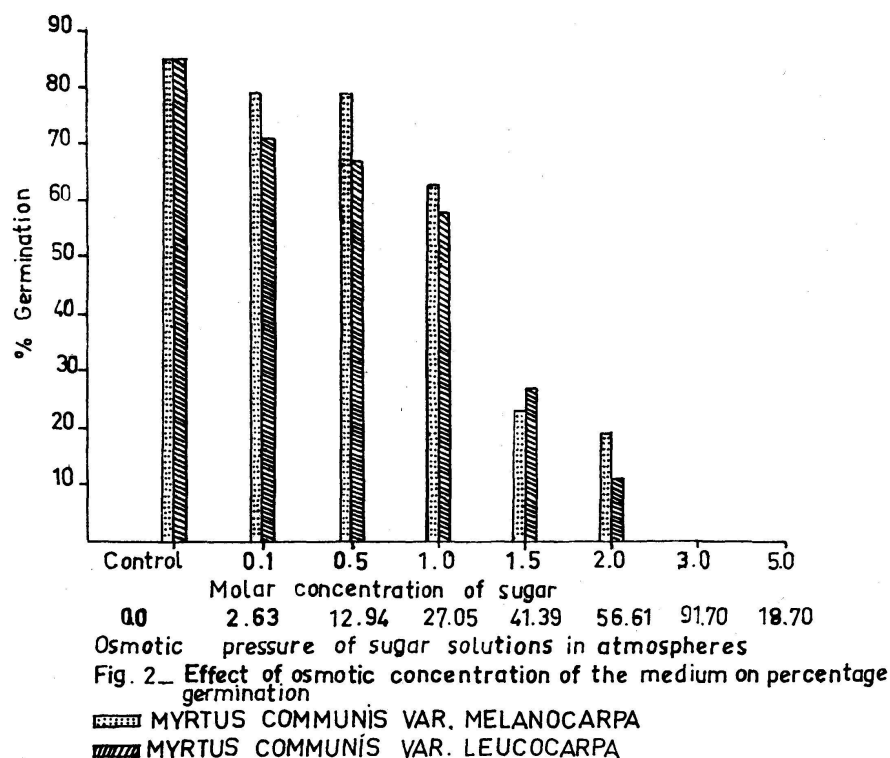
h: Hours

OP (atm.): Osmotic pressure in atmospheres

As is evident from table I, the seeds of *Myrtus communis* varieties absorb water from all the concentrations of NaCl solutions. But, as the concentration of the solute increases, imbibition decreases. This is largely due to an osmotic effect, because an increased osmotic pressure of the solvent (due to an increase in the concentration of the solute) decreases imbibition. In fact the imbibition values at higher concentrations of the solute are low and would not allow germination under natural conditions.

3.2 Effect of osmotic concentration of the medium on germination

KAUL (1968) while working upon *Xanthium* seeds found that germination was well in sugar solutions up to 15 atmospheres osmotic concentration beyond which there was a decrease in the percentage. At 94 atmospheres the percentage germination was zero. The seeds of *Myrtus communis* varieties—when soaked in different osmotic solutions of sugar at 25 °C—show that germination is good in solutions up to 27 atmospheres osmotic concentration (fig. 2). As the strength of solutions increases there is a gradual decrease in the percentage germination, so much so that in solutions with osmotic pressure of 91 atmospheres the germination is completely inhibited. The germination of *Myrtus communis* seeds in solutions up to 27 atmospheres may probably account for the occurrence of this species along the sea coast in Western Anatolia (AHMED, 1971).



3.3 Moisture intake and percentage germination in soils at different moisture percentage field capacities

To assess the moisture intake and percentage germination of the seeds of *Myrtus communis* varieties from soils at different percentage field capacities the seeds were sown at a depth of 2 cm in soils at field capacities of 15, 30, 45, 60, 75, 100 and 150 percent. The results are given in figure 3. As is apparent from figure 3, seeds do not absorb much water from soils up to 45 percent field capacity. At 60, 75 and 100 percent field capacities moisture intake as well as percentage germination was quite favourable. The inability of seeds to germinate and imbibe water at 150 percent field capacity may be attributed to the insufficient aeration in the soil. The need for higher content of moisture in the soil for germination explains the proliferous growth of this species in moist and shady localities (AHMED, 1971). We can conclude from the above findings that seeds of both the varieties of *Myrtus communis* require high percentage moisture during the period of germination.

4. Summary

The present studies throw some light on the water relations of seeds of the *Myrtus communis* varieties. The results show that absorption of water at higher temperatures is rapid than at lower temperatures, but the total amount absorbed is only slightly less at lower temperatures. With an increase in osmotic pressure of the solutions imbibition power of the

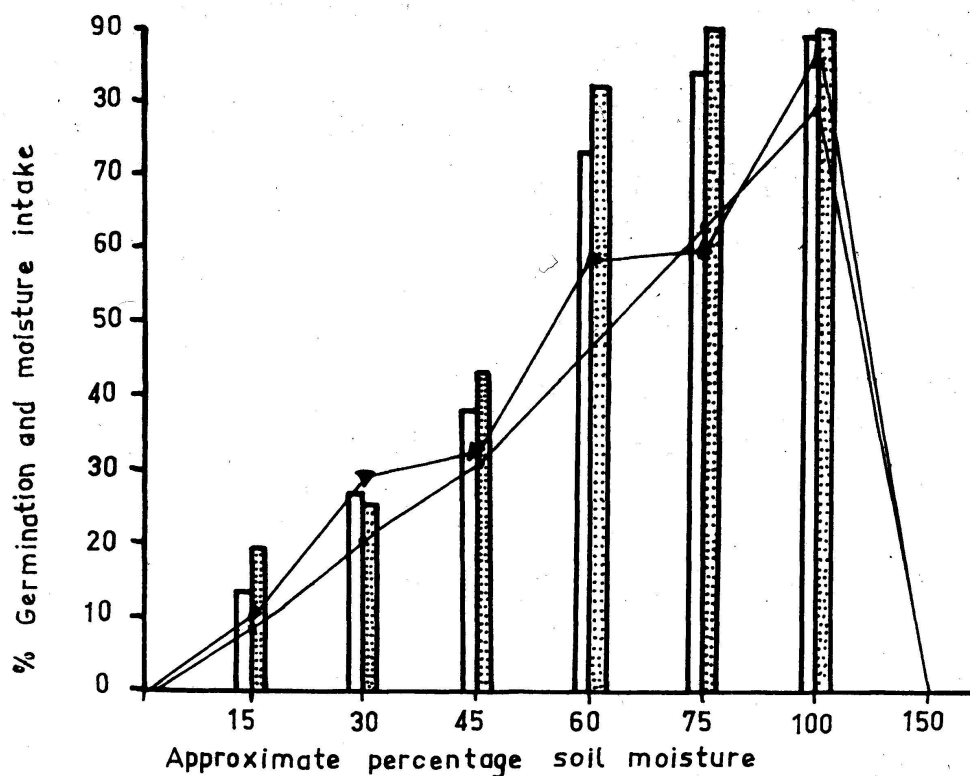


Fig.3:- Percentage moisture intake (▲—, ●—) and germination (▬, ▨) soils at different percentage field capacities.
 (▲—, ▨):—*Myrtus communis* var. *leucocarpa*
 (●—, ▬):—*Myrtus communis* var. *melanocarpa*

seeds decreases. Seeds of both the varieties require higher moisture content for successful germination. The need for higher moisture content explains the better growth performance of these plants under moist and shady conditions and also the germination of these seeds immediately after dry hot summers.

BIBLIOGRAPHY

- AHMED, M.: Studies on the eco-physiology of *Myrtus communis* L. growing in Izmir and its surroundings. Ph.D.thesis, Ege University, Izmir 1971.
 BROWN, A.J., and WORELY, F.P.: The influence of temperature on the absorption of water by seeds of *Hordeum vulgare* in relation to the temperature co-efficient of chemical change. Proc.Roy.Soc., B, 85: 546-553 (1912).
 GARNER, W.E.: International Critical Tables. Vol. IV, 429-430. Edited by E.W. WASHBURN. McGraw Hill Book Co., London and New York 1929.
 KAUL, M.L.H.: Ecology of three medicinal plants. Ph.D.thesis, Banaras Hindu University, India 1965.
 KOUL, V.: Physiological-Ecology of *Xanthium strumarium* L.V. Water relations. Tropical Ecology 9: 1, 88-102 (1968).

- MAYER, A., and MAYBER, A.P.: The germination of seeds. Pergamon Press, Oxford 1963.
- OHGA, I.: A double maximum in the rate of absorption of water by Indian Lotus seeds. *Amer.J.Botany* 13: 766–772 (1926).
- POPTZOFF, A.V.: Hygroscopic properties of tobacco seeds (1932). In *Physiology of seeds* by CROCKER and BARTON, 63, 1957, Chronica Botanica Co., USA.
- SHULL, C.A.: Measurement of the surface forces in soils. *Bot.Gaz.* 62: 1–31 (1916).
- SHULL, C.A.: Temperature and moisture intake in seeds. *Bot.Gaz.* 69: 361–390 (1920).

3. G.FRANZ (Institut für botanische Biologie und Phytochemie der Universität Freiburg/Schweiz): *Über die chemotaxonomische Bedeutung und Physiologie des Trisaccharids Gentianose*

Die Familie der Gentianaceen umfasst 70 Gattungen mit etwa 1100 Arten von Kräutern, seltener Halbsträuchern. Enziangewächse sind über die ganze Erde verbreitet und vor allem in gemässigten bis subtropischen Regionen zu finden.

Den Gentianaceen eng verwandt sind die Menyanthaceen, die ehemals als Unterfamilie den Gentianaceen zugeordnet wurden. Bitter schmeckende glykosidische Substanzen – Bitterstoffe – sind das chemotaxonomische Hauptmerkmal beider Familien. Diese Bitterstoffe oder *Amara* bedingen die medizinische Verwendung zahlreicher Gentianaceen.

Daneben zeichnen sich die Gentianaceen durch das Vorkommen von Inulin und Gentianose aus, die in Wurzeln und Rhizomen einiger Enzianarten die Stärke als Reservekohlenhydrat zu ersetzen scheinen.

Die Gentianose ist ein Trisaccharid [0- β -D-Glucopyranosyl (1 \rightarrow 6) α -D-Glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-Fructofuranosid], das von BRIDEL (1911) [1] in den Wurzeln von *Gentiana lutea*, *G. asclepiadea*, *G. punctata*, *G. cruciata* und *G. purpurea* in Mengen bis zu 5% nachgewiesen wurde. Während man bislang der Auffassung war, dass dieses für die Gentianaceen spezifische Trisaccharid in den vegetativen Speicherorganen gebildet wird, konnte in der vorliegenden Untersuchung nachgewiesen werden, dass die Gentianose auch in den Blättern einiger analysierter Arten aus den Gattungen *Gentiana* und *Swertia* vorkommt. Die Familie der *Menyanthaceae*, die in bezug auf Bitterstoffe chemotaxonomische Verwandtschaft mit den Gentianaceen zeigt, erwies sich bei den zwei untersuchten Vertretern *Menyanthes* und *Nymphoides* als frei von Gentianose. Allerdings konnte auch bei der Gattung *Centaurium*, die zur Unterfamilie der *Gentianoideae* gehört, keine Gentianose nachgewiesen werden.

Fütterungsversuche mit ^{14}C -markierter Glucose und Saccharose an Wurzelteile von *Gentiana lutea* zeigten im folgenden, dass diese Zucker nicht in Gentianose eingebaut wurden. Dies machte wahrscheinlich, dass die Bildung der Gentianose nicht in den unterirdischen Organen stattfinden konnte. Durch Photosyntheseversuche mit Enzianpflanzen in $^{14}\text{CO}_2$ -Atmosphäre wurde nachgewiesen, dass die Bildung in den oberirdischen Organen stattfinden muss. Schon nach relativ kurzen Photosynthesezeiten trat in den Blättern radioaktiv markierte Gentianose auf. Diese wurde dort allerdings nicht akkumuliert, sondern durch die

Stengelteile in die unterirdischen Speicherorgane abtransportiert, was durch Pulsmarkierung mit $^{14}\text{CO}_2$ nachgewiesen werden konnte. In den Rhizomen stieg bei fortschreitender Nachinkubierung die spezifische Aktivität der Gentianose an, wobei in den teilweise grünen Rhizomen von *Gentiana kochiana* eine Neubildung von Gentianose nicht ausgeschlossen werden kann. Bei längeren Inkubationszeiten war in den Blättern Gentio- biose nachzuweisen, die wahrscheinlich *in vivo* durch enzymatische Spaltung des Trisaccharids entstanden war. In den Stengelteilen konnte Gentio- biose als Transportzucker nicht aufgefunden werden. Dort traten ausschliesslich markierte Gentianose und Saccharose und geringe Mengen von Glucose auf.

Weitere Photosyntheseversuche mit $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ und isolierten Chloroplasten aus *Gentiana kochiana*-Blättern nach der Methode von JENSEN und BASSHAM (1966) [2] zeigten, dass die Bildung der Gentianose lichtabhängig in den Chloroplasten stattfand. Von dort aus erfolgt ein Transport ins Zytoplasma und weiter an die Orte der Speicherung.

Da bei den Photosyntheseversuchen nachgewiesen werden konnte, dass vor dem Auftreten von markierter Gentianose radioaktive Saccharose gebildet wurde, war es naheliegend, anzunehmen, dass Gentianose durch Übertragung eines Glucoserestes auf Saccharose entsteht. Um diese Hypothese zu überprüfen, wurde die Verteilung der Radioaktivität in den beiden Glucosemolekülen und der Fructose nach kurzzeitiger Photosynthese in $^{14}\text{CO}_2$ -Atmosphäre untersucht. Hierbei zeigte sich, dass die beiden Glucosemoleküle in der Gentianose verschieden starke Markierung aufwiesen. Die schwächere Markierung wurde bei der endständigen Glucose I nachgewiesen. Fructose dagegen wies etwa die gleiche Aktivität wie Glucose II auf, was zur Bestätigung der Hypothese beitrug, dass die Bildung der Gentianose durch Anhängen eines Glucosemoleküls an Saccharose erfolgt. Der Unterschied in der Markierung der beiden Glucosereste glich sich auch nach längeren Nachinkubationszeiten nicht völlig aus.

Die Übertragung der terminalen Glucose I auf die Saccharose kann theoretisch auf mehreren Wegen erfolgen. Glucose kann von einem Zuckernukleotid mittels Glucosyltransferasen auf Saccharose übertragen werden. Diese Art der Zuckerkettenverlängerung ist die bei weitem am häufigsten aufgefundene. Daneben konnte jedoch von TANNER (1970) [3] bei der Biogenese der Oligosaccharide der Raffinosereihe nachgewiesen werden, dass Glykoside des Myoinosits als Glykosyldonoren dienen können. So wurde die Bildung der Raffinose, Stachyose und Verbascose durch Übertragung von jeweils einem Galaktoserest aus Galaktinol (Myoinosit-Galaktose) auf Saccharose bzw. die nächst höheren Oligosaccharide erreicht. Als dritte Bildungsmöglichkeit für Oligosaccharide kommt die Übertragung von Zuckerresten aus anderen Oligosacchariden durch Transglykosidasen in Betracht. Diese Art der Ausbildung von glykosidischen Bindungen wurde vor allem bei Fructosan-Oligosacchariden nachgewiesen [4].

Um Aufschluss über die Bildungsmöglichkeiten der Gentianose zu er-

halten, wurde durch Fütterungsversuche an *Gentiana-kochiana*-Blättern versucht, einen möglichen Precursor für die endständige Glucose I zu ermitteln. Hierbei wurden ^{14}C -markierte Glucose, Saccharose und Uridindiphosphat-Glucose durch Aufsaugen mittels der Blattstiele den Blättern angeboten. Danach wurde zu bestimmten Zeitintervallen die Einbaurate der Zucker und des Zuckernukleotids in Gentianose untersucht und durch selektive Spaltung die Verteilung der Radioaktivität in den drei Zuckerbausteinen der Gentianose festgestellt. Hierbei zeigte Saccharose die höchste Einbaurate, gefolgt von Glucose und UDP-Glucose. Daneben hatten auch hier die beiden Glucosemoleküle in der Gentianose nicht die gleiche spezifische Aktivität. Hieraus kann geschlossen werden, dass weder die freie Glucose noch UDP-Glucose als direkte Vorläufer für den endständigen Glucoserest der Gentianose in Frage kommen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass das Trisaccharid Gentianose ein für die Gattung *Gentiana* typisches Oligosaccharid ist, das bei den untersuchten Arten sowohl in Blättern und Stengeln als auch in unterirdischen Speicherorganen (Wurzeln und Rhizom) nachgewiesen werden konnte. Die Bildung der Gentianose findet in den Blattorganen und dort in den Chloroplasten statt. Die in den Blättern auftretende und in Wurzeln in seltenen Fällen nachweisbare Gentiobiose dürfte als sekundäres Spaltprodukt des Trisaccharids angesehen werden.

LITERATUR

1. BRIDEL, M.: J.Pharm.Chim. 10: 62 (1914).
 2. JENSEN, R. G., und BASSHAM, J. A.: Proc.Natl. Acad.Sci.U.S. 56: 1095 (1966).
 3. TANNER, W., LEHLE, L., und KANDLER, O.: Z.Physiol.Chem. 351: 1494 (1970).
 4. DEDONDER, R.: Bull.Soc.Chim.Biol. 34: 171 (1952).
4. A.SCHMID et H. MEIER (Institut de Biologie végétale et de Biochimie, Université, Fribourg): *L'influence de l'acide abscissique sur la rhizogenèse de boutures de Populus alba L.*

On sait que les représentants de la famille des salicacées, à de rares exceptions près, se prêtent facilement à la multiplication végétative. Non seulement le bouturage réussit au moyen de fragments de tiges herbacées, mais encore par des boutures complètement lignifiées. Des segments de pousses annuelles de *Populus alba*, récoltés en mars, prennent encore racine à 50%. Si on les a traités au préalable par l'acide indolyle-butyrique (AIB), dans la concentration de 100 mg/l durant 24 h, toutes les boutures forment des racines.

GEMPERLE [1] a pu démontrer que les boutures de *Populus alba* démunies de bourgeons perdaient, pour une bonne part, la capacité de former des racines adventives. Il pouvait donc conclure à la présence, dans les bourgeons, d'une hormone propice à la rhizogenèse. En considération des résultats obtenus, on peut soupçonner que cette substance promotrice, localisée dans les feuilles, est de nature auxinique; cela n'est pourtant nullement prouvé.

Dans le travail qui fait l'objet du présent rapport, nous avons voulu étudier l'influence de l'acide abscissique (ABA) sur les boutures de *Populus alba* avec ou sans bourgeons. En même temps nous voulions mettre l'ABA en interaction avec l'acide gibberellique (GIB) et la kinétine (KIN). Les recherches nombreuses, effectuées ces dernières années, sur l'ABA ont révélé que le rôle physiologique de cette substance ne se limite pas à l'abscission des feuilles, à la sénescence, à la dormance et aux corrélations de croissance. Déjà en 1968, BASU et coll. [2] ont identifié l'ABA comme stimulateur endogène principal de la rhizogenèse chez *Mangifera indica* L. Aussi CHIN et coll. [3] ont pu montrer que l'ABA stimule la rhizogenèse de *Phaseolus aureus* Roxb. (mung bean) ainsi que de *Hedera helix* L. Indépendamment de ces travaux, nous avons été amenés à appliquer l'ABA aux boutures de *Populus alba*.

Pour ces expériences nous avons utilisé les pousses annuelles de la dernière saison, coupées en hiver. Les parties moyennes de ces pousses ont été débitées en segments de 16 cm env. et utilisées comme boutures en milieu aqueux. Après un trempage par la base dans une solution d'AIB de 50 mg/l, l'ABA et les autres hormones synthétiques furent appliqués en différentes concentrations. Un nombre égal de boutures intactes et de boutures démunies de bourgeons furent employées pour chaque série.

L'application d'ABA a fortement stimulé la rhizogenèse sur les boutures portant leurs bourgeons, avec un effet optimal dans la concentration de 1 mg/l. Il est intéressant de constater que l'effet stimulateur de rhizogenèse n'a pratiquement pas lieu dans les boutures démunies de bourgeons.

Dans la suite, nous avons appliqué l'ABA simultanément avec la GIB. Il apparaît nettement que la GIB neutralise complètement l'influence favorable que l'ABA est en mesure d'exercer sur les boutures portant des bourgeons. Si l'ABA est appliqué simultanément avec la KIN, l'influence de l'ABA se trouve pareillement mise en échec.

Ces expériences démontrent un antagonisme entre ABA et GIB d'une part, entre ABA et KIN d'autre part. Ceci correspond aux constatations faites dans d'autres secteurs de la physiologie végétale. Par une expérience complémentaire nous avons pu démontrer encore ceci : si la GIB et la KIN ensemble sont mises en interaction avec l'ABA, la GIB et la KIN semblent se neutraliser mutuellement. L'ABA, alors, reprend son influence sur les boutures pourvues de bourgeons, comme stimulateur de rhizogenèse.

Les constatations principales, faites au courant de ces expériences, nous semblent être les suivantes :

- 1° L'ABA est un promoteur de la rhizogenèse chez *Populus alba*.
- 2° Pour pouvoir stimuler la rhizogenèse, l'ABA a besoin d'un synergiste qui provient des bourgeons.
- 3° La GIB et la KIN inhibent l'action rhizogénétique de l'ABA.

BIBLIOGRAPHIE

1. GEMPERLE, H.: Ber.Schweiz.Bot.Ges. 78: 287 (1968).
2. BASU, R.N., GHOSH, B., et SEN, P.K.: Ind.Agricult. 12: 194 (1968).
3. CHIN, T.Y., MEYER, M.M.Jr., and BEEVERS, L.: Planta 88: 192 (1969).

5. B.CİRELİ (Department of Botany, Ege University, Izmir, Turkey):
Observations of amino acid changes in young roots after inhibition of elongation by some agents

1. Introduction

Investigations carried out under conditions which stimulate and inhibit root elongation started a considerable time ago. The fact that the speed of differentiation increases under conditions inhibiting the elongation of young roots emphasized the importance of work in this field. Various agents were tried in order to obtain inhibition of elongation in young roots. Various investigators decapitated the roots, or treated them with certain concentrations of inhibiting substances such as colchicine, coumarin, illuminating gas and subsequent to these treatments studied the root growth with the employment of different methods.

The first investigation related to the effect of decapitation on the young roots was carried out by WIESNER at 1884. Later, CHOLODNY (1926) and BÜNNING (1928) put forward new ideas in this field. More recently YOUNIS (1954) on *Vicia faba*, BARA (1957) on *Vicia faba* and *Lens culinaris*, and VARDAR and TÖZÜN (1958) on *Vicia faba* and *Lens culinaris*, studied the various aspects of decapitation. They observed that decapitation caused the inhibition of elongation, but stimulated the thickening of young roots. Likewise, it has been reported that colchicine, coumarin, and illuminating gas treatments brought about the same sort of modifications in the roots.

AUDUS (1948), GOODWIN and TAVES (1950), SAN ANTONIO (1952), TORREY (1953), and BURSTRÖM (1956) studied the effects of coumarin on the root growth of *Pisum sativum* and *Lepidium sativum*, *Avena*, *Melilotus alba*, *Pisum sativum*, and *Triticum* seedlings, respectively.

The various aspects of effects of colchicine on young root, which is also an inhibitor of root elongation, has been investigated by some workers. GARRIGUES (1940), LEVIN and LEIN (1941), DAVIDSON (1965, 1969) emphasized the effects of colchicine on the root growth of *Vicia faba*, *Allium cepa*, and *Vicia faba*, respectively. NORTHERN (1950) studied the modifications in structural viscosity of protoplasm after colchicine treatment; and SEDAR and WILSON (1951) investigated the mitotic appearances in the root tip cells of colchicine-treated and untreated *Allium cepa* roots with the employment of electron microscope.

Illuminating gas is also an inhibitor of elongation of young roots, like colchicine and coumarin. Back at 1911 NELJUBOW found that the elongation of the different organs of the plants kept in laboratory atmosphere decreased, while their thickening was found to have increased. Later, CROCKER, HITCHCOCK and ZIMMERMAN (1935), BORGSTRÖM (1939), VARDAR (1957), VARDAR and BARA (1959) investigated the effects of illuminating gas on the various organs of plants.

WRISHER (1960) studied the effects of carbon dioxide and nitrogen gases on the root tips of *Elodea canadensis* and *Sinapis alba*, and DOLZ-

MAN and ULLRICH (1966) investigated the effects of nitrogen dioxide on the *Phaseolus vulgaris* leaves in regard to ultrastructure.

CIRELI (1965), CIRELI and VARDAR (1969) treated the young *Lens culinaris* and *Vicia faba* roots with these four above-mentioned agents. They observed, along with the stimulation of thickening of roots, typical increases in volumes of epidermal and cortical cells and their nuclei.

CIRELI (1970) investigated the ultrastructural differentiation in the cortical cells of the roots treated in the above-mentioned manner and made comparisons with the normal root cortical cells. The organelles of the cells belonging to the treated roots appeared to be of very different types in comparison with the untreated cells.

The aim of the present work has been to obtain some evidence on the problem of the possible modifications in the amino acid contents of roots of which the elongation has been inhibited and thickening has been stimulated by various inhibiting substances.

2. Material and method

Experimental objects used were young *Lens culinaris* and *Vicia faba* roots.

In order to obtain homogenous material to serve our purpose, *Lens culinaris* was treated according to VARDAR and TÖZÜN (1958), and *Vicia faba* was treated according to YOUNIS (1954).

Lens culinaris seedlings with 9 mm long roots and *Vicia faba* seedlings with 12 mm long roots were selected and divided into five groups. The plants in the first group remained untreated. The roots of those in the second group were decapitated, that is, 1 mm from the tip of *Lens culinaris* roots and 2 mm from the tip of *Vicia faba* roots were discarded.

The 1 mm portion of the root tips of *Lens culinaris* and 2 mm portion of *Vicia faba* root tips in the third group were treated for 3 h with $1/40\,000$ conc. of colchicine according to the method of GEISSLER (1950). In the fourth group the same portions of the root tips of *Vicia faba* and *Lens culinaris* seedlings were treated with coumarin according to BURSTRÖM (1956). The roots in the fifth group were likewise treated with 0.02% conc. of illuminating gas in a gasometer.

Treated and untreated roots were kept in a moist chamber made of glass during the experiments.

At the end of the experiments, the undecapitated, colchicine, coumarin, and illuminating gas-treated *Lens culinaris* and *Vicia faba* roots were decapitated 1 mm and 2 mm from the root tip, respectively, so that the regions to be investigated of all the above-mentioned roots were at the same level as those of the decapitated ones. After this decapitation process 5 mm tip portions of roots were taken and dried in an incubator at 60 °C for 3 h. After this, material was powdered, and hydrolized in accordance with the method of LINSER, RIEHLE and NEUMANN (1966). The

amino acid contents of the hydrolisates were measured with special resined 120 B Beckman amino acid analyser in accordance with MOORE and STEIN (1964). The total nitrogen contents of dry matter of which the amino acid contents were determined with amino acid analyser were measured with KJELDAHL method.

3. Results and discussion

Table I shows the total N contents of experimental material. Here a decrease in the total N contents of decapitated *Lens culinaris* roots

TABLE-I. The effect of decapitation, colchicine, coumarin and illuminating gas-treatments on the N contents (after Kjeldahl) of *Lens culinaris* and *Vicia faba* roots (Mg N/g dry matter)

TOTAL	Lens culinaris			Vicia faba		
	(1)	(2)	Result	(1)	(2)	Result
Undecapitated	59,0	61,5	60,2	64,3	57,6	60,9
Decapitated	56,9	59,5	58,2	60,2	59,8	60,0
Colchicine	48,1	51,9	50,0	58,1	60,1	59,1
Coumarin	50,1	54,7	52,4	57,2	53,3	55,2
Illuminating gas	58,4	58,9	58,6	57,5	60,4	58,9

compared to those of undecapitated roots can be seen. This decrease is more marked with colchicine, coumarin, and illuminating gas-treated roots. In *Vicia faba* roots, this decrease in the total N contents of treated plants has been found to be less than that in *Lens culinaris* roots.

Table II shows the comparative amino acid contents of the roots which were treated in different ways, and of the untreated ones.

After the above-mentioned treatments, although the total amino acid contents of treated roots were found to be less than those of undecapitated roots, an increase was observed in the amounts of some individual amino acids. This increase was more obvious with lycine and asparagin acid, and less marked with histidine and thereonine. On the other hand, a decrease was observed in arginine, glutamin acid, alanine, and phenyl-alanine contents.

As is depicted by the results, there are differences in total N and amino acid amounts between treated and untreated roots. Hence there must be a

TABLE II. The amino acid contents of undecapitated, decapitated, colchicin, coumarin, and illuminating gas-treated *Lens culinaris* and *Vicia faba* roots (N content of each amino acid in total % N content)

Amino acid	<i>Lens culinaris</i>					<i>Vicia faba</i>				
	UNDECAPI	DECAPI	COLCH.	COUMARIN	Ill. gas	UNDECAPI	DECAPI	COLCH.	COUMARIN	Ill. gas
Lysine	14.0	15.4	14.9	14.2	14.9	9.7	9.8	9.9	9.9	9.8
Histidine	8.3	9.3	9.8	9.0	9.0	5.2	5.6	5.6	6.1	5.5
Arginine	10.8	8.3	9.6	8.3	8.9	14.0	12.8	9.6	10.6	10.5
Asparagin.A	13.5	17.9	17.3	19.8	17.9	13.2	15.7	24.2	21.5	13.3
Threonine	3.6	4.7	4.1	3.9	4.5	4.2	4.8	4.9	4.9	4.9
Serine	4.4	4.1	4.3	4.0	4.3	4.8	4.5	4.0	5.0	4.0
Glutamic.A	9.5	8.1	9.2	8.4	7.9	11.2	10.1	8.9	9.1	11.1
Proline	3.6	3.4	4.1	5.9	4.2	3.4	4.2	3.0	5.0	4.1
Glycine	6.3	5.9	5.7	5.1	5.0	5.7	6.2	6.0	6.1	6.0
Alanine	6.4	5.9	5.8	4.5	5.9	7.6	7.0	6.9	6.9	6.9
Cystine	0.7	0.5	0.6	0.8	1.0	0.8	0.9	0.7	0.8	1.1
Valine	5.3	4.3	5.6	5.7	5.9	4.7	5.3	4.9	5.5	4.1
Methionin	0.5	0.5	0.6	0.8	1.0	0.8	0.9	0.7	0.8	0.8
Isoleucine	4.2	4.2	4.0	3.7	4.0	3.8	3.8	3.8	4.0	3.9
Leucine	5.9	5.3	5.3	4.6	4.9	5.3	5.5	4.9	5.7	4.3
Tyrosine	0.7	0.6	0.6	4.3	0.7	2.2	1.4	2.6	2.3	0.9
Phenylalanine	1.6	1.3	1.5	0.9	1.8	2.4	1.7	2.2	1.9	1.4

difference between the protein synthesis mechanisms of these roots. Because, according to LEVINE and LEIN (1941), colchicine has catalytic effects on the metabolic activities of the cells and causes modifications in the structure of protoplasm along with its inhibitive effects on the elongation of the roots. NORTHERN (1950), observing a decrease in the structural viscosity of the protoplasm after treatment with colchicine, likewise proposed that some protein dissociations caused the disruption of the order in metaphase.

AUDUS (1948), who worked with *Lepidium* and *Pisum* roots, reported that coumarin, along with its inhibiting effect on root elongation, probably caused the accumulation of some metabolites—e. g. some amino acids. According to this investigator, this accumulation reaches to a toxic level. Also DEXHEIMER (1966) reported that, with the effect of chloramphenicol, the peptid bond structure was inhibited hence leading to cessation of protein synthesis and to accumulation of amino acids in cytoplasm. According to above-mentioned two authors, this accumulation was seen to reach to a toxic level, depending on the time. In our opinion, those four amino acid types—lysine, asparagine, histidine, threonine—of which a decrease was observed in our work are the precursors of the amino acids of which the accumulation leads to a toxic level.

This our view has been strengthened by our previous ultrastructural observations (CIRELI, 1970, unpublished). In the root cells subjected to above-mentioned four treatments, we observed the degenerated wall,

endoplasmic reticulum, golgi, mitochondrium, and nucleus types which were different from those of untreated cells. It is already known that amino acids, by virtue of the activities of nucleus, nucleolus and endoplasmic reticulum, play an important role in the protein synthesis within the cell.

In the view of these results, there seems to be a partial relationship between a disturbance in the balance of amino acids in the cell and cell expansion.

4. Summary

1. The present work has been carried out in order to investigate the modifications in the amino acid contents of young roots subjected to treatments—decapitation, colchicine, coumarin, illuminating gas—which inhibit their elongation.

2. Amino acid contents of the hydrolisates prepared from the test material have been determined with 120 B Beckman amino acid analyser.

3. In the experiments, young roots of 16-hour-old *Lens culinaris* and 30-hour-old *Vicia faba* seedlings have been used as the test objects.

4. At the end of the investigations, total nitrogen and amino acid contents of the treated roots have decreased, whereas some individual amino acids have been found to have markedly increased, in comparison with the control roots.

5. A possible and partial role of a disturbance in the amino acid content of the cell on the cell expansion has been suggested.

BIBLIOGRAPHY

- AUDUS, L.J.: Studies on the phytostatic action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and coumarin. *New Phytol.* 47: 196–219 (1948).
- BARA, M.: La quantité fonctionnelle relative de l'hétéroauxine (IAA) dans les réactions phototropiques et géotropiques, et l'action de la gravitation sur la production hormonale. *Rev.Fac.Sci.Univ.Istanbul, Série B, Tome XXII, Fasc.4*: 209–238 (1957).
- BORGSTRÖM, G.: The transverse reactions of plants. C.W.K. Gleerup, Lund 1939.
- BURSTRÖM, H.: Studies on growth and metabolism of roots. XI. The influence of auxin and coumarin derivatives on the cell wall. *Physiol.Plant.* 7: 548–559 (1954).
- BURSTRÖM, H.: Temperature and root cell elongation. *Physiol.Plant.* 9: 682–692 (1956).
- BÜNNING, E.: Zur Physiologie des Wachstums und der Reizbewegungen der Wurzeln. *Planta* 5: 635–659 (1928).
- CHOLODNY, N.: Beiträge zur Analyse der geotropischen Reaktion. *Jb.Wiss.Bot.* 65: 447–501 (1926).
- CIRELI, B.: A study on the comparison of cell size and cytonuclear ratio under conditions inhibiting elongation and stimulating thickening. *Sci.Rep.Fac.Sci.Ege Univ. No. 29* (1966).
- CIRELI, B., and Y.VARDAR: The cytonuclear ratio in relation to changed conditions of lengthening in young roots. *Swiss Bot.Soc.* 79: 365–358 (1969).
- CROCKER, W., HITCHCOCK, A.E., and ZIMMERMAN, P.W.: Similarities in the effects of ethylene and the plant auxins. *Contrib.Boyce Thompson Ins* 7: 231–248 (1935).
- DAVIDSON, D.: A differential response to colchicine of meristems of roots *Vicia faba*. *Ann.Bot.* 29: 253–263 (1965).
- DAVIDSON, D.: The response of primordial cells of *Vicia faba* to colchicine. *Ann.Bot.* 33: 245–251 (1969).

- DEXHEIMER, J.: Sur les modifications du réticulum endoplasmique des grains de pollen de *Lobelia erinus* (L.). traités par le chloramphénicol. C.R.Acad.Sci.Paris 262: 853–855 (1966).
- DOLZMAN, P., und ULLRICH, H.: Einige Beobachtungen über Beziehungen zwischen Chloroplasten und Mitochondrien im Palisadenparenchym von *Phaseolus vulgaris*. Z.Pflanzenphysiol. 55: 165–180 (1966).
- GARRIGUES, M.R.: Action de la colchicine et du chloral sur la racine de *Vicia faba*. Rev.Cytol.Cytophysiol.Végétales 4: 261–301 (1940).
- GEISSLER, G.: Über die durch Mitosegifte, Wuchs- und Keimungshemmstoffe hervorgerufene Keulenbildung an Zwiebelwurzeln. Naturwiss. 37: 563–565 (1950).
- GOODWIN, R.H., and TAVES, C.: The effect of coumarin derivatives on the growth of Avena roots. Amer.J.Bot. 37: 224–231 (1950).
- LEVINE, M., and LEIN, J.: The effects of various growth substances on the number and the length of roots of Allium cepa. Amer.J.Bot. 28: 163–169 (1941).
- LINSER, H., RIEHLE, G., und NEUMANN, K.H.: Untersuchungen über den Einfluss von Eisen und Molybdän auf den Proteinstoffwechsel von Hafer in Abhängigkeit von der Entwicklung. Z.Acker-u.Pflanzenbau. 124: 269–282 (1966).
- MOORE, S., and STEIN, W.H.: Procedure for the chromatographie determination of amino acids on four percent cross-linked sulfonated polystyrene resins. J.Biol.Chem. 211: 813–906 (1954).
- NELJUBOW, D.: Geotropismus in der Laboratoriumsluft. Ber.Dtsch.Bot.Ges. 29: 97 (1911).
- NORTHERN, H.T.: Alterations in the structural viscosity of protoplasm by colchicine and their relationship to c-mitosis and C-tumor formation. Amer.J.Bot. 37: 705–711 (1950).
- SAN ANTONIO, J.P.: The role of coumarin in the growth of roots of *Melilotus alba*. Bot.Gaz. 114: 79–95 (1952).
- SEDAR, A.W., and WILSON, D.F.: Electron microscope studies on the normal and colchicized mitotic figures of the onion root tip (*Allium cepa*). Biol. Bull. 100: 107–115 (1951).
- TORREY, Y.J.G.: The effect of certain metabolic inhibitors on vascular tissue differentiation in isolated Pea root. Amer. J.Bot. 40: 525–533 (1953).
- VARDAR, Y., et BARA, M.: L'intervention du gaz d'éclairage dans la croissance de la coléoptile. Rev.Fac.Sci.Univ.Istanbul, Série T, Tome XXIV, Fasc. 1–2. 49–54 (1959).
- WIESNER, J.: Note über die angebliche Funktion der Wurzelspitze. Ber.Dtsch.Bot.Ges. 2: 72–78 (1884).
- WRISCHER, M.: Veränderungen des endoplasmatischen Reticulums pflanzlicher Zellen, verursacht durch Sauerstoffmangel. Naturwiss. 47: 521–522 (1960a).
- WRISCHER, M.: Über die Ursachen der Formveränderungen der Golgi-Körper in pflanzlichen Zellen. Naturwiss. 47: 522–523 (1960b).
- YOUNIS, A.F.: Experiments on the growth and geotropism of roots. J.exp.Bot. 5: 357–372 (1954).

6. J. C. FREDERIKS (Zürich): Über L(+)-Fusarinolsäure, ein neues Stoffwechselprodukt von Fusarien

Die Fusarien bilden mit ihren 65 Grundarten, 55 Varietäten und 22 Formen eine sehr umfangreiche Pilzgattung. In drei von den 16 Gruppen von Fusarien der systematischen Einteilung von WOLLENWEBER und REINKING (1935) werden fusarinsäurebildende Fusarien angetroffen.

In der Gruppe Elegans kommen verschiedene Krankheitserreger vor, die in die Leitungsgefäße der Wirtspflanze – z. B. Tomate, Baumwolle, Erbse – eindringen und eine Welke auslösen. Die Gruppe Discolor beherbergt das *Fusarium heterosporum* Nees, ein als unbedeutender Saprophyt und unspezifischer Parasit weltweit verbreiteter Pilz, aus dessen künstlicher Kultur die erste Fusarinsäure isoliert wurde (YABUTA, KAMBE und HAYASHI, 1934). In der Gruppe Liseola ist die *Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Woll. anzutreffen, aus deren künstlicher Kultur neben Fusarinsäure auch Dehydrofusarinsäure isoliert wurde (STOLL, 1954; STOLL und RENZ, 1957). Auch aus *Fusarium lycopersici* Sacc., dem Erreger der Tomatenwelke, wurde neben Fusarinsäure Dehydrofusarinsäure isoliert (STOLL, RENZ und GÄUMANN, 1956). Erwähnenswert ist noch die Gruppe Martiella, weil die Stengel- und Wurzelfäule erregenden Fusarien dieser Gruppe nachgewiesenerweise keine Fusarinsäure synthetisieren (NISHIMURA, 1957, 1958; KERN und NAEF-ROTH, 1965), sondern rot und orange gefärbte Toxine mit Naphtazarinstruktur.

1960 beschrieb BRAUN ein als Substanz H bezeichnetes Umwandlungsprodukt der Fusarinsäure, das durch abgetrenntes und gewaschenes Myzel (sog. «resting cells») von *Fusarium lycopersici* in steriler, physiologischer Kochsalzlösung gebildet wurde. Die verabreichte Fusarinsäure war radioaktiv markiert, und die Umwandlungsprodukte konnte er mit Hilfe der Autoradiographie nachweisen. Die gleichen Umwandlungsprodukte (Substanz H = Hauptumwandlungsprodukt) erhielt er, wenn er Myzel von *Gibberella Fujikuroi* oder andere Fusarien verwendete. Auch Nicht-Fusarienarten aus den Pilzgattungen *Leucostoma*, *Penicillium* und *Aspergillus* sowie eine Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*) zeigten die Umwandlung.

Im Verlaufe der Versuche mit *Gibberella Fujikuroi*, die am Institut für spezielle Botanik der ETH zur Gewinnung von Fusarinsäure und Dehydrofusarinsäure durchgeführt wurden, konnte ich feststellen, dass dieses Umwandlungsprodukt, das auf Grund der Ergebnisse von BRAUN (1960) ein Stoffwechselprodukt von *Gibberella Fujikuroi* sein musste, in erheblichen Mengen im Kulturfiltrat anzutreffen war. Der Nachweis gelang in überzeugender Weise, indem das Kulturfiltrat direkt, also ohne Reinigung von den noch verbleibenden Nährsalzen mit Rf-Werten niedriger als 0,3, papierchromatographisch untersucht wurde. Als Laufmittel diente sekundäres Butanol-Ameisensäure-Wasser (75:15:10). Das Sichtbarmachen der Stoffwechselprodukte (Substanz H: Rf-Wert 0,50; Fusarinsäure: Rf-Wert 0,79; Dehydrofusarinsäure: Rf-Wert 0,77 und noch einige andere Substanzen) geschah durch Besprühen mit 0,1-n-Silbernitrat. Wenn man das Chromatogramm nur kurz dem Tageslicht aussetzt und für die übrige Zeit im Dunkeln aufbewahrt, erscheinen die organischen Stoffwechselprodukte als rehbraune Flecke. Substanzen anorganischen Ursprungs weisen andere Farbnuancen auf. Erfahrungsgemäss kann man mit Silbernitrat praktisch alle Substanzen sichtbar machen. Das für identisch mit Substanz H gehaltene Stoffwechselprodukt konnte, nachdem es weitgehend gereinigt war, am Institut für organische

Chemie der ETH Zürich isoliert und als L(+)-Fusarinolsäure identifiziert werden (GRAF, 1965; STEINER, GRAF und HARDEGGER, im Druck).

Über die Substanz H berichtete BRAUN (1960) als von einer Substanz, die nur durch eine hydrophile Gruppe von Fusarinsäure abweichen musste. Diese Angabe und der Umstand, dass zwischen Fusarinsäure und Substanz H ein einfacher Zusammenhang bestehen musste, hat stark dazu beigetragen, dass die chemische Struktur des Umwandlungsproduktes mit Hilfe der NMR-Spektren relativ schnell gefunden wurde. Die absolute Konfiguration, die nicht aus dem NMR-Spektrum hervorgeht, wurde durch eine stereochemische Beweisführung aufgeklärt.

Es muss angenommen werden, dass L(+)-Fusarinolsäure von sämtlichen Pilzen, die Fusarinsäure produzieren, gebildet wird. Auch werden Fusarinsäure, Dehydrofusarinsäure und L(+)-Fusarinolsäure als Stoffe mit sehr kleinen chemischen Strukturunterschieden enzymatisch eng zusammenhängen. Ihr Vorkommen scheint jedoch nicht auf welkerregende Pilze beschränkt zu sein, wie ihre Isolierung aus *Gibberella Fujikuroi* (einem Pilz, der durch die Abscheidung von gibberellinartigen Substanzen der Reispflanze ein abnormales Längenwachstum verschafft) beweist. Weil mit der Isolierung und Identifizierung des Stoffwechselproduktes L(+)-Fusarinolsäure die Identität mit dem Umwandlungsprodukt Substanz H wohl wahrscheinlich, jedoch noch nicht bewiesen ist, wird erst die Isolierung der Substanz H Auskunft über diese Identität geben. Über die Ergebnisse dieser Versuche, die eine Wiederholung der Umwandlungsversuche von BRAUN voraussetzen, wird an anderer Stelle berichtet werden. Vorerst wurde festgestellt, dass künstlich hergestellte, razemische Fusarinolsäure sich papierchromatographisch vollständig mit dem Umwandlungsprodukt zur Deckung bringen liess.

LITERATUR

- BRAUN, R.: Über Wirkungsweise und Umwandlungen der Fusarinsäure. *Phytopath.Z.* 39: 197–241 (1960); Diss. ETH Nr. 3065.
- GRAF, U.: Dehydrofusarinsäure und Fusarinolsäure. Diss. ETH Nr. 3728, 1965.
- KERN, H., und NAEF-ROTH, S.: Zur Bildung phytotoxischer Farbstoffe durch Fusarien der Gruppe Martiella. *Phytopath. Z.* 53: 45–64 (1965).
- NISHIMURA, S.: Observations on the fusaric acid production of the genus *Fusarium*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 22: 274–275 (1957).
- NISHIMURA, S.: Pathochemical studies on watermelon wilt (Part II). Observations on the fusaric acid production of the fungi of the genus *Fusarium*. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 23: 210–214 (1958).
- STEINER, K., GRAF, U., und HARDEGGER, E.: Fusarinolsäure. Welkstoffe und Antibiotika. 39. Mitteilung (im Druck).
- STOLL, C.: Über Stoffwechsel und biologisch wirksame Stoffe von *Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Woll., dem Erreger der Bakanaekrankheit. *Phytopath.Z.* 22: 233–274 (1954).
- STOLL, C., und RENZ, J.: Über den Fusarinsäure- und Dehydrofusarinsäurestoffwechsel von *Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Woll., *Phytopath.Z.* 29: 380–387 (1957).
- STOLL, C., und GÄUMANN, E.: Über die Bildung verschiedener Fusarinsäuren durch das *Fusarium lycopersici* Sacc. in saprophytischer Kultur. *Phytopath.Z.* 29: 388–394 (1956).

- WOLLENWEBER, H. W., und REINKING, O. A.: Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekämpfung. Verlagsbuchhandlung Paul Parey, Berlin 1935.
- YBUTA, T., KAMBE, K., and HAYASHI, T.: Biochemistry of the bakanae-fungus. I. Fusarinic acid, a new product of the bakanae-fungus. J.agr.Soc.Japan, 10: 1059–1068 (1934), zit. nach Chem.Abstr. 29: 1132 (1935).

Wissenschaftliche Sitzung (II. Teil)

Sektion I: Systematik, Pflanzengeographie, Ökologie

7. L. BERNARDI (Genève): *Les caractères taxonomiques des Araliacées des îles de l'océan Indien, et leur distribution*
8. U. HOFMANN (Zürich): *Zur Gliederung und systematischen Stellung der Aizoaceen*
9. N. ZEYBEK (Bornova-Izmir, Türkei): *Vergleichende Untersuchungen über Pistacia lentiscus L. und P. lentiscus L. var. chia Duham in Westanatolien*
10. E. LANDOLT, K. URBANSKA-WORYTKIEWICZ (Zürich): *Cardamine amara L. × C. rivularis Schur, ein neuer Bastard (zytologische Untersuchungen)*
11. M. HAUSER (Zürich): *Zytotaxonomische Untersuchungen an Campanula patula L. und C. Rapunculus L.*
12. O. SCHÜEPP (Reinach): *Schemata der Fiederblätter*

CARL NÄGELI schreibt 1844: «Die Erkenntnis eines Individuums geht also nicht aus einer einzelnen Entwicklungsstufe, nicht einmal aus seiner sogenannten höchsten Vollendung, sondern einzig aus seiner *vollständigen Wachstumsgeschichte* hervor.» MARTIN HEIDENHAIN schreibt 1932: «Es gibt eine ganze Reihe von Gebieten, welche den Tier- und Pflanzenmorphologen gemeinsam sind und von beiden Seiten her mit gegenseitiger Unterstützung bearbeitet werden müssen. Es handelt sich um die in allen Organen – gleichviel welcher Art – wiederkehrenden, an die Teilungserscheinungen gebundenen Rhythmen der Entwicklung, wobei von der Betrachtung der funktionellen Struktur so gut wie gänzlich abgesehen wird.»

Vergleichende Morphologie benutzt zur Beschreibung der Formen zunächst zufällige Ähnlichkeiten. Blätter erscheinen «schwert-, spiess-, pfeil-, schildförmig». Besser sind Vergleiche mit andern Lebensformen. Blätter sind «fingerförmig, handförmig, fussförmig». Fiederblätter sind ähnlich gegliedert wie die Federn der Vögel. Der Beschreibung mannig-

faltiger Formen werden einfache Schemata zugrunde gelegt. WALTER ZIMMERMANN (1930) und HEIDENHAIN (1932) gehen aus von der dichotomen Gabelung der Endglieder, der Telome. WILHELM TROLL schreibt 1935: «Sämtlichen Formen der Fiederblätter liegt als *einheitlicher Typus* das basipetal-akroton Blatt zugrunde.» WOLFGANG HAGEMANN kommt 1970 zu andern Ergebnissen und schreibt: «Aus der rings vom primären Randmeristem eingeschlossenen Spreitenanlage ergibt sich als Ausgangsform für das Verständnis aller möglichen Spreitenformen bei den Angiospermen das periplast wachsende ternate Fiederblatt.» – Einige einfache Schemata können auf verschiedenen Wegen ineinander übergeführt werden.

Der Beschreibung des Wedels von *Aspidium filix mas* diene ein Schema eines mehrfach gefiederten Blattes. Die Längen der Telome und der Mesome sind berechnet als Glieder einer geometrischen Progression. Alle Seitenglieder, Äste am Stamm, Zweige an den Ästen wiederholen einen Endabschnitt des tragenden Muttergliedes. Die *Vergrößerung* innerhalb einer Reihe entsprechender Glieder, im logarithmischen Massstab gezeichnet, erfolgt nach parallelen Geraden. Ebenso wird das *Größenverhältnis* entsprechender Gliederpaare durch Parallele dargestellt. – Das Schema kann zerlegt werden in eine Bilderreihe mit wachsendem Umfang, geeignet zur *kinematographischen Abbildung* des Formbildungsprozesses.

In Bildern und Kurven werden zwei Wedel mit 50 und mit 85 Gliedern der Hauptachse beschrieben. Es bleibt die Aufgabe, die zwischen den ausgewachsenen Gliedern festgestellte Allometrie zurückzuführen auf die Allometrie des Wachstums in den aufeinanderfolgenden Phasen der Wachstumsgeschichte.

13. H. NOTTEBROCK (Basel): *Sporangiosporenform als Artenmerkmal bei Mucoraceen der Gattung Absidia*

*Sektion II: Pflanzenphysiologie
(gemeinsam mit der Pflanzenphysiologischen Gesellschaft)*

14. H. R. KELLER, H. WANNER und T. W. BAUMANN (Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich): *Koffeinsynthese und Gewebekultur bei Coffea arabica*¹

A. Problemstellung und Experimente

Zur Lösung des Problems, ob das Samengewebe – die spätere «Kaffeebohne» – befähigt ist, Koffein selber zu synthetisieren, oder ob es lediglich Speicherfunktion besitzt, wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

1. Bestimmung des absoluten und relativen Koffeingehaltes im Samengewebe und Perikarp während der Fruchtentwicklung.

¹Die Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds unterstützt. Unserer Laborantin, Fräulein L. BRUGGER, danken wir für die gewissenhafte Mitarbeit.

2. Fütterung ganzer, vom Baum abgetrennter Früchte mit $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ -Lösung via Fruchtsiel und anschliessende Bestimmung der Radioaktivität im Koffein des Samengewebes und der Fruchtschale.
3. Inkubation von Perikarp- und Samengewebescheiben mit $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ und L-Metionin ($\text{Me-}^{14}\text{C}$) bei pH 7,0.
4. Kultivierung von Samengewebe in vitro. Analyse des gewachsenen Implantates und des Kulturmediums in bezug auf den Koffeingehalt.

B. Resultate

- Ad 1. Für das Verhältnis Koffeingehalt Samengewebe/Koffeingehalt Perikarp wurden folgende Werte gefunden:
- a) relativ (bezogen auf das TG*) Anfang 0,8 Ende 1,9
 - b) absolut Anfang 0,35 Ende 3,0
- Ad 2. Nach 24stündiger Fütterung ist sowohl die totale als auch die spezifische Aktivität des Koffeins im Samengewebe etwa 1,5mal so gross wie im Perikarp.
- Ad 3. Die Resultate sind in Tabelle I aufgeführt.

Tabelle I

		zugeg. Akt. μCi	FG mg	Versuchs- bedingungen	dpm	Aktivität im Koffein dpm/ μg Koffein dpm/mg FG	
$^{14}\text{CO}_2$	S	102	756	48 h Licht	17 250	19,2	22,8
	P	106	626	48 h Licht	6 650	3,2	10,6
L-Methionin ($\text{Me-}^{14}\text{C}$)	S	24	784	48 h Licht	101 500	103	130
	P	24	552	48 h Licht	2 500 000	1240	4530
L-Methionin ($\text{Me-}^{14}\text{C}$)	P	15	385	48 h Licht	988 000	750	2650
	P	15	403	48 h Dunkel	97 000	69	240

S = Samengewebe, P = Perikarp, FG = Frischgewicht, * Trockengewicht

- Ad 4. Subkulturen liessen sich nicht etablieren. Zwei gut gewachsene Primärkulturen zeigten beispielsweise folgende Werte:
- a) Nach 12 Tagen: TG-Zunahme 48%
Koffeinzunahme 280%
 - b) Nach 27 Tagen: TG-Zunahme 116%
Koffeinzunahme 740%

Der grösste Teil des Koffeins (70–90%) wurde jeweils im Kulturmedium gefunden.

C. Folgerungen

Alle aufgeführten Untersuchungen weisen auf eine Koffein-Eigensynthese des Samengewebes hin. Direkte Anhaltspunkte ergeben sich jedoch nur aus den Experimenten 3 und 4. Dass es sich wirklich um eine De-

novo-Synthese handelt, konnte bewiesen werden, indem – nach Fütterung von $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ – beim chemischen Abbau des Koffeins die ^{14}C -Markierung im Ring gefunden wurde. Die quantitative Bedeutung der Eigensynthese im Samen ist nicht geklärt. Die folgenden Fakten zeigen, dass wahrscheinlich auch das Perikarp eine Rolle spielt:

- Veränderungen der Koffeingehalte während der Fruchtentwicklung (Ad 1)
- Lichtabhängigkeit der Methylierung im Perikarp (Ad 3)
- Transport von doppeltmarkiertem Koffein aus dem Perikarp ins Samengewebe

15. E. GUBLER, T. W. BAUMANN und H. WANNER (Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich): *Isolation und Auftrennung pflanzlicher Histone*¹

Es wurden Histone aus verschiedenen Pflanzengeweben nach den Methoden von BONNER et al. (1968) und SHERIDAN und STERN (1966) isoliert und mit Hilfe der Polyacrylamid-Gelelektrophorese aufgetrennt. Dabei wurden folgende Resultate erhalten:

1. Bei vergleichender Untersuchung der Histone aus dem Wurzelmeristem dreier Pflanzenarten (*Trillium grandiflorum*, *Secale cereale* und *Allium cepa*) zeigen die lysinreichen Histone Ia, Ib und Ic in bezug auf elektrophoretische Mobilität starke Unterschiede. Hinsichtlich der relativen Anteile der einzelnen Histonfraktionen variieren die argininreichen Histone III und IV.

2. Der Vergleich der Histone aus zwei verschiedenen Geweben (Wurzelmeristem und Speichergewebe) derselben Pflanzenart (*Trillium grandiflorum*) ergibt beinahe identisches Bandenmuster. Quantitative Unterschiede werden lediglich bei der schwach lysinreichen Histonfraktion IIb beobachtet.

3. Die Kältebehandlung führt zu einer Veränderung der Morphologie der Interphasekerne (Chromozentren lösen sich auf) und der Chromosomen (kältereaktive Segmente werden sichtbar). Es sind jedoch weder qualitative (Mobilität) noch quantitative Unterschiede festzustellen zwischen Histonen aus kältebehandelten und nicht kältebehandelten Wurzelmeristemen (*Trillium grandiflorum*).

LITERATUR

- BONNER, J., CHALKEY, G. R., DAHMUS, M., FAMBROUGH, D., FUJIMURA, F., HUANG, R. C., HUBERMAN, J., JENSEN, R., MARUSHIGE, K., OHLENBUSCH, H., OLIVERA, B., and WIDHOLM, J.: Isolation and characterization of chromosomal nucleoproteins. *Meth. Enzymol.* 12B: 3–84 (1968).
- SHERIDAN, W. F., and STERN, H.: Histones of meiosis. *Exp. Cell Res.* 45: 323–335 (1966).

¹Die Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds unterstützt.

16. B. M. ELLER (Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich):
Blattemperaturen, gemessen und berechnet

Die Berechnung von Reaktionen biologischer Systeme auf interne oder externe Vorgänge und der Vergleich dieser berechneten Systemantworten mit denen des reellen Objektes bilden ein Instrument der biologischen Grundlagenforschung. Dabei sollen nicht nur Momentanwerte oder Momentanzustände vergleichbar werden, sondern es sollen die Reaktionen des beschriebenen biologischen Systemes in einer sich stetig ändernden Umwelt zu jedem Zeitpunkt und für jede theoretisch mögliche Konstellation der beeinflussenden Faktoren ermittelt werden können.

Das Blatt in seiner Umgebung bildet ein Basissystem der Biologie. Eine wichtige Systemgrösse ist die Blattemperatur, die, wie immer sie auch definiert sein mag, direkt oder indirekt bei der Beschreibung von Vorgängen der Blattphysiologie in Darstellung und Berechnung eintritt. Die Messgrösse Blattemperatur wird von verschiedenen Autoren verschieden definiert. Im vorliegenden Falle versteht sich darunter die mittlere Temperatur eines Blattelementes von der Fläche ΔA und der Dicke des Blattes. Sie ist, darauf sei speziell hingewiesen, weder eine Oberflächentemperatur noch die Temperatur eines bestimmten Gewebebezirkes. Blattemperaturen können nur in ganz speziell gelagerten Fällen einfach und genau gemessen werden. Die komplexe Natur der Blattanatomie und durch die Messfühler erzeugte zusätzliche Energieflüsse sowie die fehlende Reproduzierbarkeit und Invariabilität des mechanischen Kontaktes zwischen Blatt und Messführern führen sehr oft zum völligen Verlust der Aussagekraft von Blattemperaturmessungen. Im vorliegenden Fall wurde die Unsicherheit der Temperaturmessung weitgehend eliminiert, indem nicht ein einziger Temperaturwert, sondern ein Wertepaar ermittelt wurde. Die Blattemperatur hat einen Wert, der zwischen den Werten des Paares liegt. Die numerische Genauigkeit wird, allerdings auch nur scheinbar, zugunsten einer eindeutigen Formulierung der Aussagekraft der Messung reduziert. Durch zwei Gruppen von Thermoelementen, die eine senkrecht in die Blattspreite, die andere parallel zur Oberfläche in oder unmittelbar unter die Epidermis eingeführt, werden die zwei Temperaturwerte eines Wertepaares ermittelt. Unter der Voraussetzung, dass die Einstrahlung grösser ist als die Eigenstrahlung des Blattes und der Messfühler und die Lufttemperatur tiefer liegt als die Blattemperatur, ist bei forcierter Konvektion die vom senkrecht eingeführten Thermoelement gemessene Temperatur tiefer als die effektive Blattemperatur, während vom parallel eingestochenen Thermoelement registrierte Temperaturwerte grösser als die effektive Blattemperatur oder ihr gleich sind. Eine ausführliche Darstellung der Messmethode und der verwendeten Messeinrichtung findet sich bei ELLER (1971).

Die Grösse des Blattemperaturwertes resultiert aus der Energiebilanz des Blattes. Gelingt es, mit Hilfe eines Modells die Energieflüsse zu berechnen, so muss die Blattemperatur ebenfalls berechenbar sein. Die Gültigkeit des Modelles kann durch Vergleiche zwischen berechneter und

gemessener Blattemperatur verifiziert werden. Im Falle eines Blattes mit ungeteilter, möglichst ganzrandiger und hinreichend ebener Spreite kann als Blattmodell eine ebene Platte dienen. Die wesentlichen Energieflüsse bestehen dann aus der total einfallenden Strahlung und dem Umsatz des Blattmetabolismus auf der einen Seite, der thermischen Eigenstrahlung des Blattes, der Konvektion und der Transpirationswärme auf der andern Seite (Abb. 1). Werden für die einzelnen Energieflüsse die bekannten Beziehungen für die Konvektion einer ebenen Platte, die Absorption und Emission von Strahlung durch graue Körper und die Transpiration eingeführt, so erhält man folgende Gleichung:

$$[S_v(1+r_v)e_v + S_1(1+r_1)e_1 + (a-b \cdot 10^{-c \cdot p(T_A)})\sigma T_A^4(1+r_r)e_r + T_G^4(1-r_r)e_r + M] / 2 = \sigma T_L^4 e_r + c_1(v/D)^{0.5}(T_L - T_A) + L(T_L)[\varrho(T_L) - rh \cdot \varrho(T_A)] / [R_J + c_2(D/v)^{0.5}]$$

S = Strahlung, T = Temperatur, M = Metabolismus, D = Blattdimension, R = Transpirationswiderstand, r = Reflexionskonstanten der Umgebung, e = Emissionskonstante, v = Anströmgeschwindigkeit, rh = relative Feuchtigkeit, L = Verdampfungswärme Wasser, ϱ = Sättigungsdichte Wasserdampf, λ = Wellenlänge Strahlung, σ = Stefan-Boltzmann-Konstante, p = Partialdruck Wasserdampf, a, b, c, c_1, c_2 = Konstanten

Indizes: v : $\lambda = 350 \dots 750 \text{ nm}$, 1 : $\lambda = 750 \dots 1350 \text{ nm}$, r : $\lambda = 1350 \dots \infty \text{ nm}$, A : Umgebungsluft, L : Blatt, G : Boden, J : intern

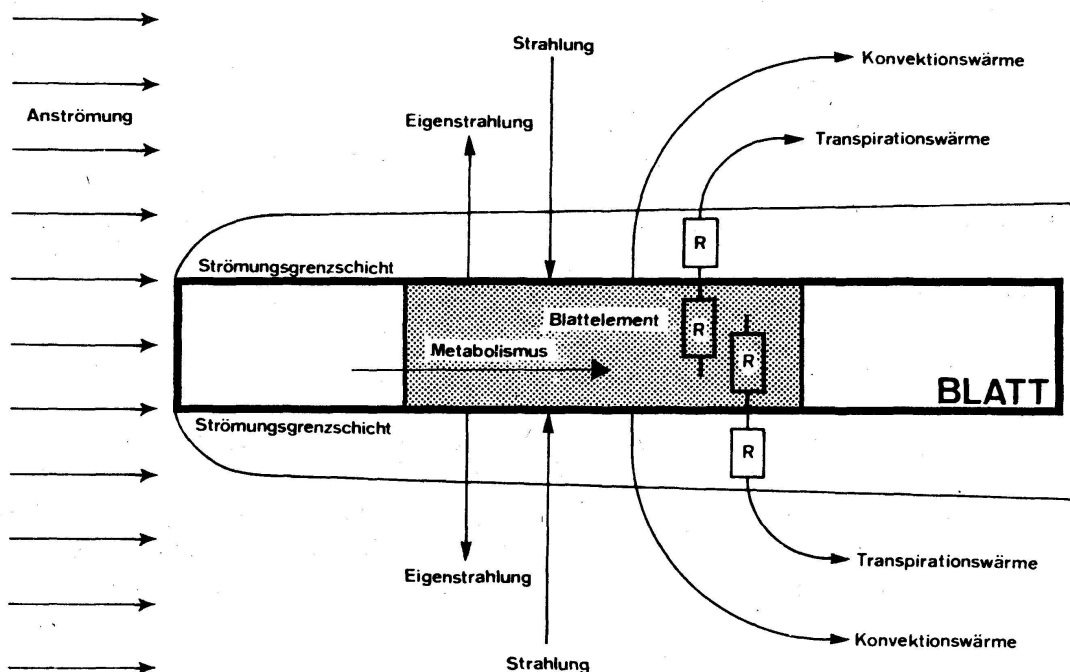


Abbildung 1

Energieflüsse am Blattelement (Blattquerschnitt) (R = Transpirationswiderstände)

Eine ausführliche Herleitung und Diskussion der einzelnen Beziehungen findet sich bei ELLER (1971). Eine Auflösung der Gleichung führt zu keinem algebraisch lösbaren Ausdruck. Einen Ausweg bildet die Annahme

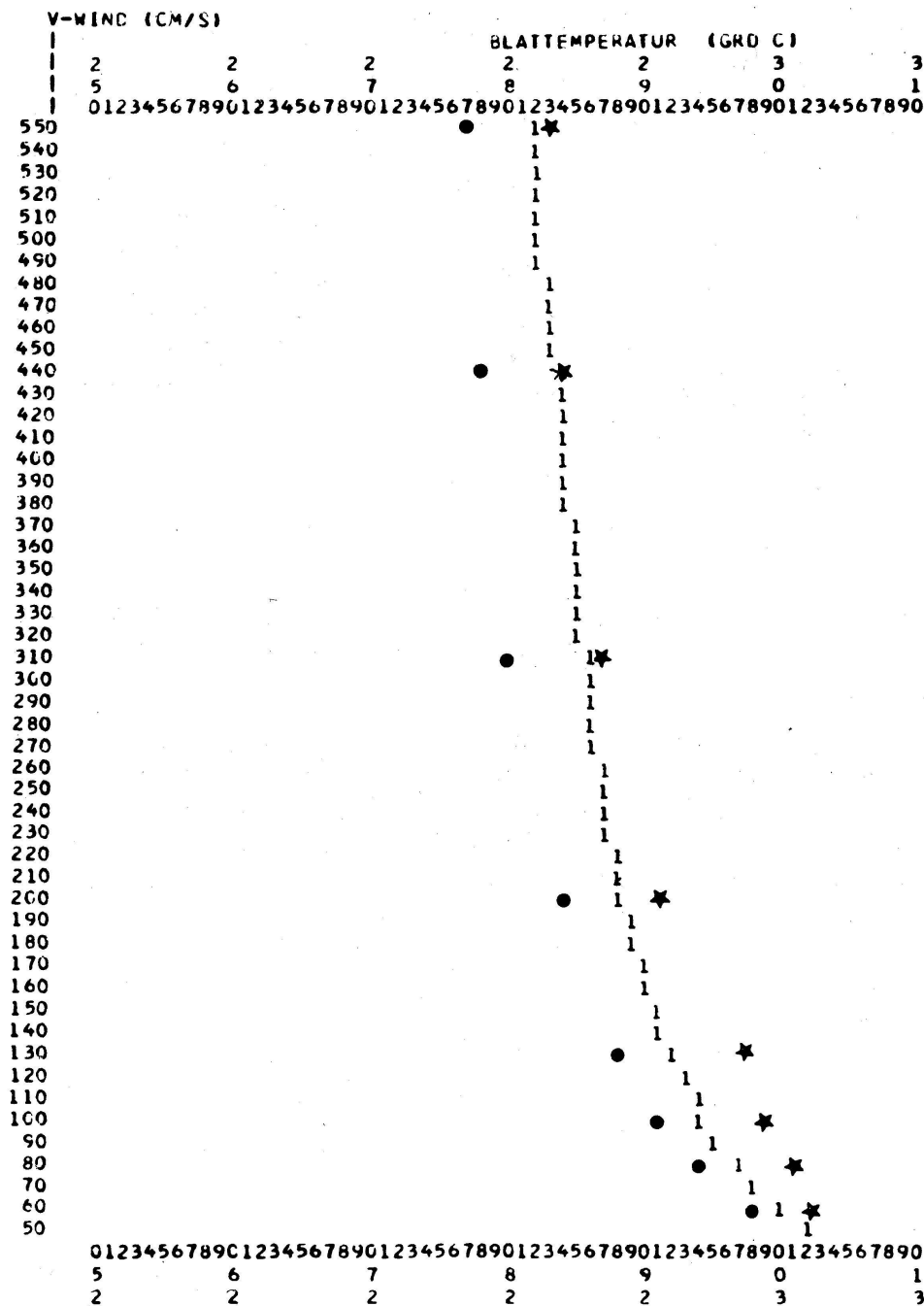


Abbildung 2

Blattemperatur von *Bryophyllum crenatum*, berechnet (1) und gemessen (0 = Thermoelement senkrecht, * = Thermoelement waagrecht). Temperaturskala 25,0...31,0 °C, $S_v = 0,353 \text{ cal/cm}^2 \text{ min}$, $S_1 = 0,363 \text{ cal/cm}^2 \text{ min}$, $e_v = 0,753$, $e_1 = 0,506$, $e_r = 0,98$, $r_v = 0,06$, $r_1 = 0,02$, $r_r = 0,02$, $M = 0$, $D = 1,5 \text{ cm}$, $R_J = 0,146 \text{ min/cm}$, $T_A = 27,0 \text{ °C}$, $T_G = 28,1 \text{ °C}$

eines beliebigen Wertes für die Blattemperatur mit anschliessender schrittweiser Korrektur, bis ein hinreichend genauer Näherungswert erzielt ist. Die Vielzahl von Iterationsschritten ist praktisch nur mit der Hilfe eines Digitalcomputers möglich.

Die Abbildung 2 zeigt das Ergebnis einer solchen Berechnung, wobei hier die Blattemperatur als Funktion der Anströmgeschwindigkeit bei sonst konstanten Umgebungsparametern dargestellt ist. Ebenfalls eingetragen wurden die aus den Messungen am Objekt, hier ein *Bryophyllum crenatum*, erhaltenen Werte für die Blattemperatur. Ein Vergleich zwischen Messung und Rechnung ist nun möglich. Wie ausgeführt, wird die tatsächliche Blattemperatur zwischen den durch die Thermoelementgruppen ermittelten Messreihen liegen. Die Tatsache, dass auch die an Hand des Modells berechnete Blattemperatur in diesen Bereich fällt, zeigt, dass zumindest für den untersuchten Fall das gewählte Modell eine Lösung zur Darstellung von Reaktionen des Blattes im Zusammenhang mit der durch die Umwelt beeinflussten Energiebilanz ist.

LITERATUR

ELLER, B. M.: Energiebilanz und Blattemperatur. Juris-Verlag, Zürich 1971.

17. A. LEWENSTEIN und R. BACHOFEN (Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich): *Schwingungen des ATP-Gehaltes in Zellen von Chlorella fusca*

Die zentrale Stellung von ATP im Stoffwechsel aller Organismen ist bekannt. Während eine Grosszahl von Reaktionen durch die Hydrolyse von ATP getrieben werden, sind es relativ wenige, durch welche ATP resynthetisiert wird, in grünen Pflanzenzellen hauptsächlich die Photosphorylierung und die oxydative Phosphorylierung. Das Niveau des ATP-Gehaltes scheint in allen Zellen unter beliebigen Umweltsbedingungen in einer konstanten Relation zum Zellkohlenstoff zu stehen, andererseits ist bekannt, dass bei raschem Wechsel von Umweltbedingungen der ATP-Spiegel starke Schwankungen zeigt, wobei nach einiger Zeit sich unter den neuen Bedingungen das ursprüngliche ATP-Niveau wieder einstellt. Es konnte nun gezeigt werden, dass dieser Regelungsvorgang nicht kontinuierlich, sondern in Form von Oszillationen abläuft, wie sie von andern Zellvorgängen her bekannt sind (Übersicht bei HESS und BORTEUX, 1971).

Beim Wechsel von Hell zu Dunkel sinkt der ATP-Spiegel innert 20 sec auf 50% des ursprünglichen Wertes (rund 10^{-10} M ATP/mg Trockengewicht) und steigt dann in starken Schwingungen mit einer Frequenz von $0,6 \text{ min}^{-1}$ mit ungedämpfter Amplitude gegen den Anfangswert zu (Abb. 1). Beim Übergang von Dunkel zu Hell steigt der ATP-Spiegel in spiegelbildlicher Weise an und fällt in Schwingungen gleicher Dauer innert 3–4 min auf das anfängliche Niveau zurück. Zwischen 18 und 25 °C ist keine Abhängigkeit der Schwingungsdauer von der Temperatur festzustellen, dagegen ist bei tieferen Temperaturen die Amplitude deutlich

verkleinert. Auch durch Erniedrigung der CO_2 -Konzentration kann ein rasches Ansteigen des ATP-Spiegels mit anschliessendem Abfall in Oszillationen auf den Ausgangswert zurück beobachtet werden.

Die gezeigten Schwingungserscheinungen deuten auf komplizierte Regelmechanismen hin. Die ATP-Produktion in Chloroplasten ist von der Lichtintensität abhängig, während die oxydative Phosphorylierung im Licht durch den hohen ATP-Spiegel vermutlich stark reduziert ist. Andererseits ist auch von ATP-Verbraucherreaktionen bekannt, dass sie durch Licht aktiviert werden. Von Bedeutung für das Entstehen solcher Schwingungen mag auch die Kompartimentierung der Eukaryontenzelle sein, in der die Orte der ATP-Produktion und des -Verbrauches voneinander getrennt sind und Transportvorgänge zwischen diesen Kompartimenten die Regelung von ATP-Synthese und -Verbrauch beeinflussen.

Die Untersuchungen wurden durch den Schweizerischen Nationalfonds unterstützt; eine vorläufige Mitteilung über die zitierten Resultate ist erschienen (LEWENSTEIN, 1971).

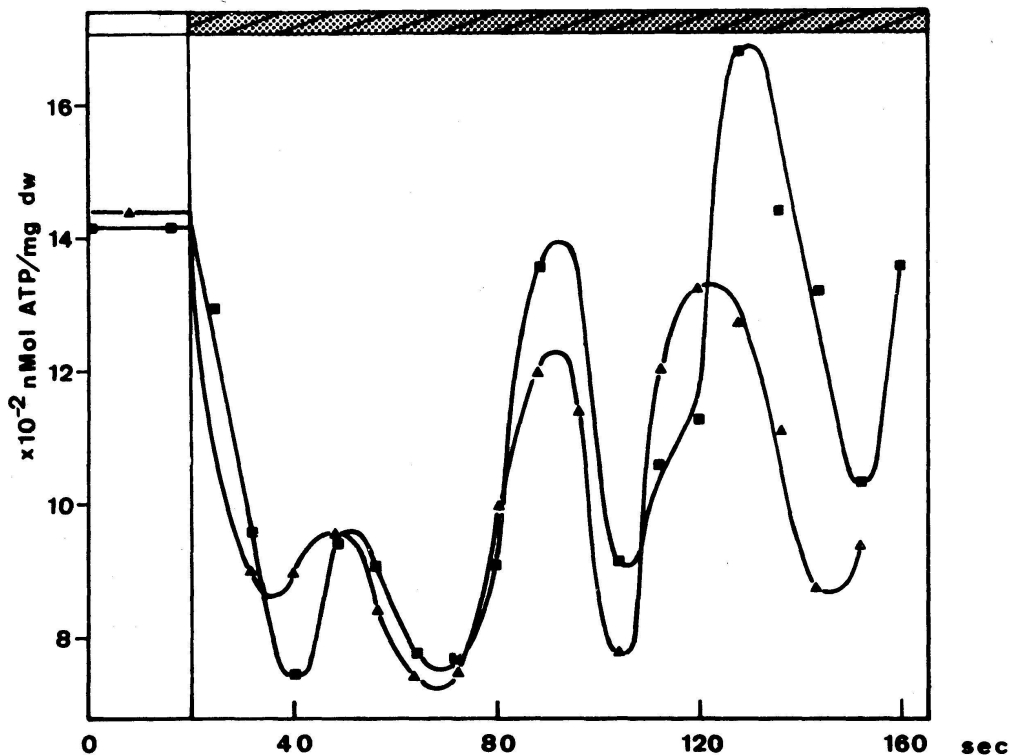


Abbildung 1

Schwingungen des ATP-Gehaltes von Zellen von *Chlorella* nach Wechsel von Hell zu Dunkel

LITERATUR

- HESS, B., und BOITEUX, A.: Oscillatory phenomena. Ann.Rev.Biochem. 40: 237-58 (1971).
LEWENSTEIN, A.: Proc.Sec.Int.Congress on Photosynthesis, Stresa 1971 (im Druck).

18. U. FELLER und K. H. ERISMANN (Bern) *Einfluss der Beleuchtungsstärke auf die Ammonium- und Nitrataufnahme bei Lemna minor*

Lemnaceen sind unter Photosynthesebedingungen in der Lage, sowohl Ammonium als auch Nitrat als Stickstoffquelle zu verwenden. Die beiden Quellen sind jedoch nicht gleichwertig. FERGUSON (1969) wies neben morphologischen Veränderungen auch Differenzen im Gesamtstickstoffgehalt und den Mengen der freien Aminosäuren nach. Die beiden Ionen stellen somit nicht nur mögliche Stickstoffquellen, sondern auch Effektoren für den Stoffwechsel dar.

Eine zentrale Stellung in der Regulation der Nitratassimilation fällt den Enzymen der Nitratreduktionskette zu. Durch den Verbrauch von Reduktionsäquivalenten ist eine Wechselwirkung mit der photosynthetischen CO_2 -Reduktion und der Atmung hergestellt. Für die Aktivität der nitratreduzierenden Enzyme (Nitrat- und Nitritreduktase) wurde eine Abhängigkeit von der Beleuchtungsstärke nachgewiesen (TRAVIS, 1970).

Um eine gute zeitliche Auflösung bei Aufnahmeexperimenten zu erreichen, wurde eine modifizierte Hutner₈-Nährlösung (ERISMANN und FINGER, 1968) 1 : 2 verdünnt. Durch Zusatz der doppelten Menge der Phosphatstammlösungen konnten sowohl in den Vorkulturen als auch während der Experimente die pH-Schwankungen in erträglichen Grenzen gehalten werden. 700 mg Frischgewicht wurden auf 50 cm³ Nährlösung übertragen und auf einer Schüttelmaschine inkubiert (27 °C, 4500 lx). Während 50 h erfolgte die Probenentnahme von je 100 µl für die Nitratbestimmung und je 200 µl für den Ammoniumnachweis. Gleichzeitig mit jeder Entnahme wurde eine pH-Messung durchgeführt. Für die Vorkultur, d.h. die Anzucht der Organismen bis zum Experimentbeginn, wurden E-NO₃⁻, nur Nitrat als Stickstoffquelle enthaltend, und E-NH₄⁺, nur Ammonium enthaltend (ERISMANN und FINGER, 1968) jeweils mit verdoppeltem Phosphatgehalt verwendet. Zur Beleuchtung mit 4500 bzw. 1500 lx während der Vorkultur gelangten wie auch im Experiment Fluoreszenzröhren vom Typ Philips TL 40 W 33 zur Anwendung.

Wie die Abbildungen 1, 2 und 3 zeigen, wird unabhängig von den Vorkulturbedingungen (Stickstoffquelle, Beleuchtungsstärke) zuerst das Ammonium aufgenommen. Vor der Nitrataufnahme ist eine Phase von ungefähr 10 h ohne messbare Stickstoffaufnahme eingeschaltet. Während dieser Zeit erfolgt eine physiologische Anpassung an die andere Stickstoffquelle. Bei 4500 lx in der Vorkultur auf E-NO₃⁻ nehmen die Organismen das Ammonium aus der H₈-Nährlösung sehr rasch auf (innerhalb von 10 h), während diese Zeit nach Anzucht unter 1500 lx wesentlich länger war. Dieses Verhalten dürfte auf Enzyminduktionen durch die erhöhte Beleuchtungsstärke und die Mengen der aminierbaren Substrate zurückzuführen sein. Organismen bei kleinerer Beleuchtungsstärke haben einen höheren Stickstoffgehalt, bezogen auf das Trockengewicht. So erklärt sich die langsamere Aufnahme nach Übergang zu grösserer Beleuchtungsstärke durch das Einstellen neuer Gleichgewichte, wobei diese Anpassung bei gleichbleibender Beleuchtung wegfällt (Abb. 2 und 3).

Durch Vergleich der Abbildungen 1 und 2 stellt man fest, dass auf $E-NO_3^-$ vorkultivierte Pflanzen das Ammonium wesentlich schneller aufnehmen als auf $E-NH_4^+$ angezogene. Auch hier hat die Analyse des Pflanzenmaterials gezeigt, dass die Organismen auf Nitratlösung einen kleineren Stickstoffgehalt aufweisen als solche auf Ammoniumlösung. In der Übergangsphase ohne Stickstoffassimilation vollzieht sich somit der Wechsel von höherem zu tieferem Stickstoffgehalt.

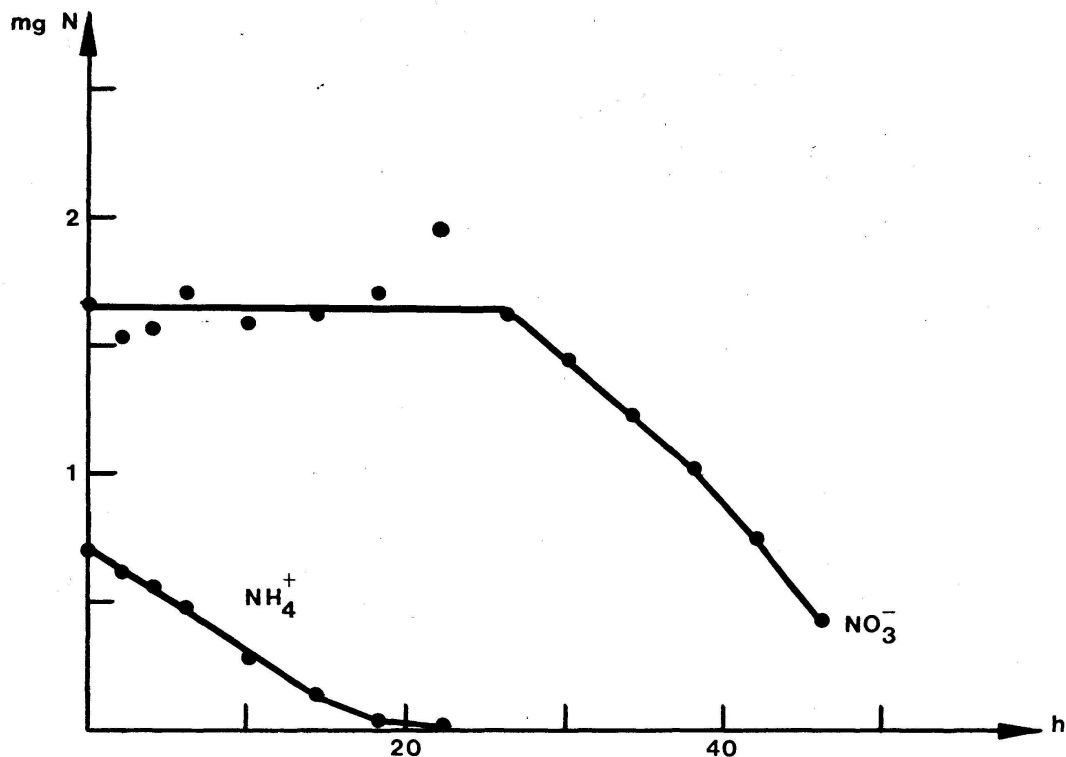


Abbildung 1

Stickstoffkonzentration in der Nährlösung bei 4500 lx. Vorkultur: $E-NH_4^+$, 4500 lx

Der pH-Wert nimmt während der Ammoniumaufnahme ab, erreicht in der Zwischenphase ein Minimum und steigt während der Nitrataassimilation wieder an. Bemerkenswert ist, dass die gleiche Menge Pflanzenmaterial auf der gleichen Nährlösung je nach Vorkulturbedingungen ein anderes pH-Minimum erreicht (Tabelle I). Bei Übertragung von 1500 auf

Tabelle I

pH-Minima bei Experimenten auf H_8 -Nährlösung (modifiziert) bei 4500 lx nach verschiedenen Vorkulturbedingungen

Nährlösung Vorkultur	Beleuchtungsstärke während Vorkultur	Minimaler pH-Wert im Experiment	Zeit nach Experimentbeginn
$E-NO_3^-$	4500 lx	6,15	16 h
$E-NO_3^-$	1500 lx	5,5	25 h
$E-NH_4^+$	4500 lx	5,4	22 h
$E-NH_4^+$	1500 lx	4,5	20 h

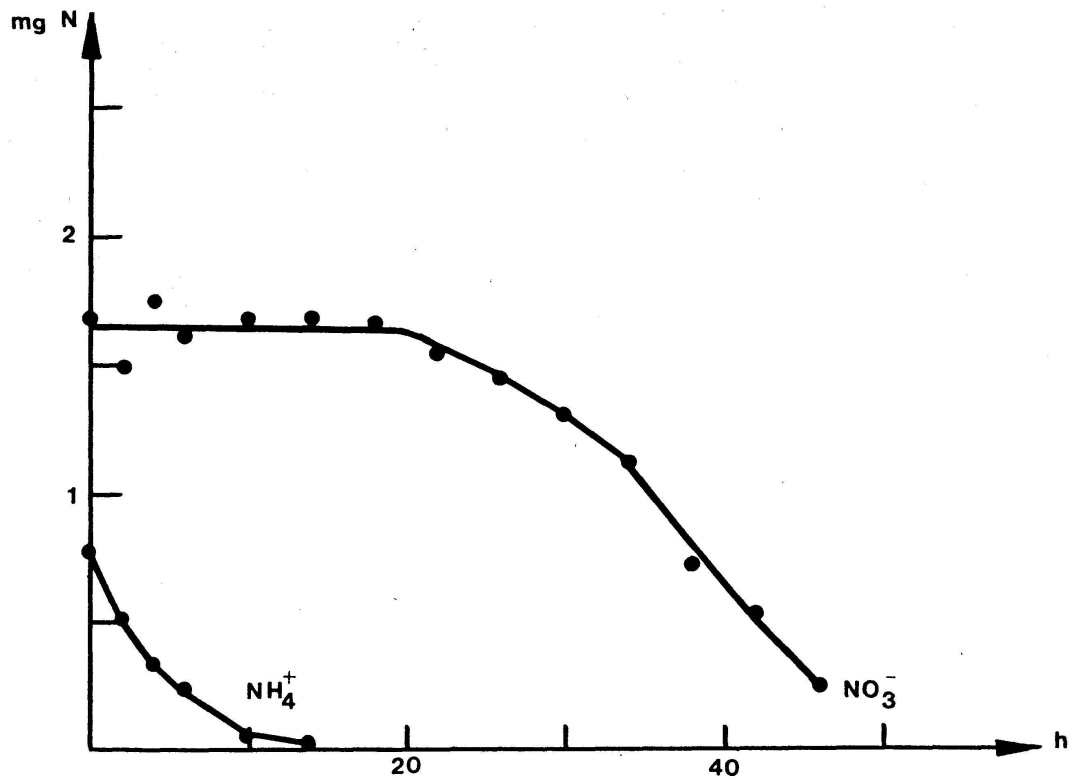


Abbildung 2

Stickstoffkonzentration in der Nährlösung bei 4500 lx. Vorkultur: E— NO_3^- , 4500 lx

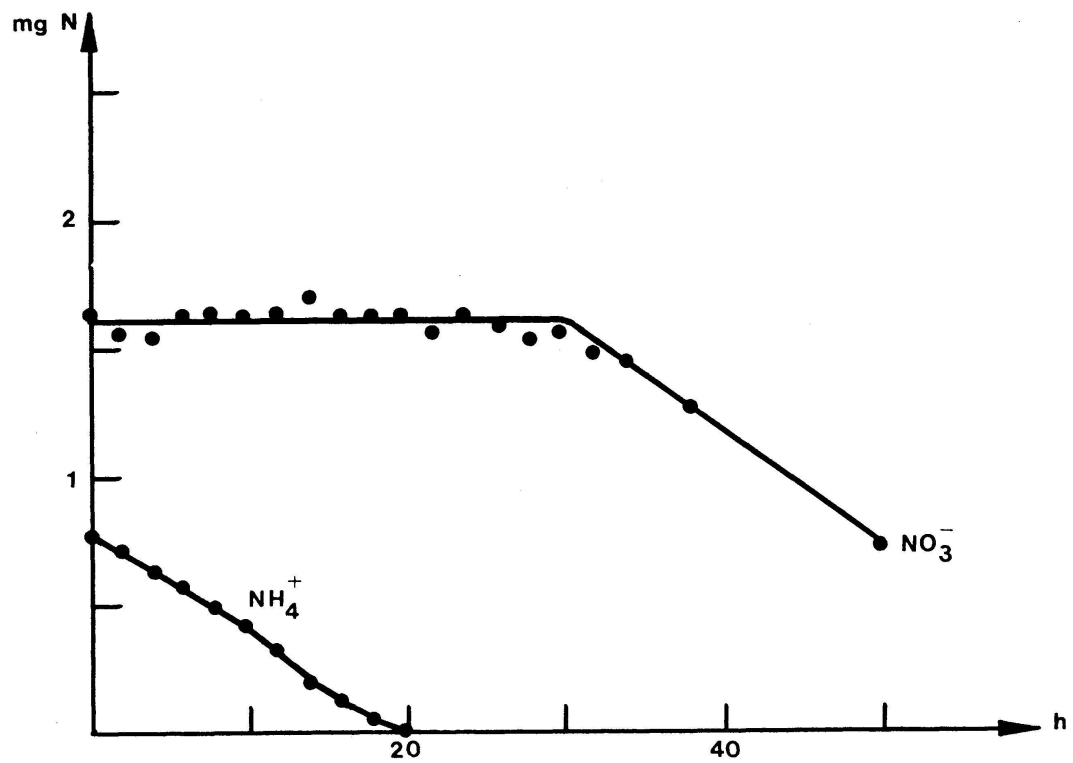


Abbildung 3

Stickstoffkonzentration in der Nährlösung bei 4500 lx. Vorkultur: E— NO_3^- , 1500 lx

4500 lx fällt der pH-Wert im Experiment tiefer als beim Vergleichsansatz mit durchweg 4500 lx. Auf $E-NH_4^+$ vorkultivierte Organismen zeigen stets ein tieferes pH-Minimum als auf $E-NO_3^-$ angezogene.

FERGUSON (1969) wies bei verschiedenen Stickstoffquellen grosse Unterschiede in den Konzentrationen der freien basischen Aminosäuren nach. Bei *Spirodela* enthielten Pflanzen auf Ammoniumnährlösungen grössere Pools an freien Aminosäuren als solche auf Nitrat. BEN-ZIONI (1970) fand bei *Nicotiana* auf Nitratnährlösung eine Anhäufung von Malat. PASSERA (1967) stellte bei *Chlorella* auf Ammonium in den Aminosäuren mehr und in den Zuckern weniger ^{14}C -Aktivität fest als in gleichen Organismen ab Nitratnährlösung.

Die oben erwähnten Konzentrationsunterschiede im Pflanzenmaterial, die Stickstoffaufnahmekinetik bei gleichzeitigem Angebot von Ammonium und Nitrat sowie der pH-Verlauf während der Experimente weisen darauf hin, dass sowohl die Stickstoffquelle als auch die Beleuchtungsstärke namhafte Veränderungen im Stoffwechsel hervorrufen. Die physiologischen Veränderungen sind oft von morphologischen Unterschieden begleitet. Durch die Überlagerung der Wirkungen von Beleuchtungsstärke und Stickstoffquelle entstehen leicht unüberblickbare Resultate, die nur durch gezielte Veränderungen der beiden Parameter genauer untersucht werden können.

LITERATUR

- BEN-ZIONI, A., VAADIA, Y., und LIPS, H.: *Phys. Plant.* 23: 1039–1047 (1970).
BORNKAMM, R.: *Planta* 92: 50–56 (1970).
ERISMANN, K. H., und FINGER, A.: *Ber. Schweiz. Bot. Ges.* 78: 5–15 (1968).
FERGUSON, A. R., und BOLLARD, E. G.: *Planta* 88: 344–352 (1969).
FERGUSON, A. R.: *Planta* 88: 353–363 (1969).
FERGUSON, A. R.: *Planta* 90: 365–369 (1970).
JOY, K. W.: *Plant. Physiol.* 44: 845–848 (1969).
PASSERA, C., FERRARI, G., und RENOSTO, F.: *Agrochimica XI*: 3, 275–282 (1967).
TRAVIS, R. I., JORDAN, W. R., und HUFFACKER, R. C.: *Phys. Plant.* 23: 678–685 (1970).

19. P. EGGENBERG und K. H. ERISMANN (Bern) *Über Karboxylasereaktionen bei der Rotalge Porphyridium cruentum in vitro*

Tracerkinetische Untersuchungen des Photosynthesestoffwechsels von *Porphyridium cruentum* haben zur Annahme geführt, dass diese Alge in der Lage ist, sowohl über den C-3-Weg nach CALVIN und BASSHAM wie auch über den C-4-Weg nach HATCH und SLACK CO_2 zu assimilieren [1]. Eine weitere, sonst nur bei Bakterien vorkommende Fixierungsreaktion wird vermutet. Bevor mit dem Studium der Steuerung dieser Assimilationswege begonnen wurde, blieb abzuklären, ob bei *Porphyridium* von der enzymatischen Ausrüstung her diese Wege überhaupt möglich sind. Es schien daher wichtig, folgende Schlüsselreaktionen des aufgestellten Stoffwechselschemas *in vitro* auf ihre An- oder Abwesenheit zu prüfen:

1. Ribulose-1,5-Diphosphat + $CO_2 \rightarrow 2$ 3-Phospho-Glycerinsäure
(Ribulose-Diphosphat Karboxylase, E.C. 4.1.1.39)

2. Phospho-Enolpyruvat + CO₂ → Oxalessigsäure + Phosphat
(Phosphopyruvat Karboxylase, E.C. 4.1.1.31)
3. Pyruvat + NADPH₂ + CO₂ ⇌ Äpfelsäure + NADP
(NADP-abhängige Malat-Dehydrogenase, dekarboxylierend,
E.C. 1.1.1.40)
4. Succinyl-Co A + Ferredoxin_{red.} + CO₂ → α-keto-Glutarsäure + Co A +
Ferredoxin_{ox.}
5. Isocitrat ⇌ Succinat + Glyoxylat
(Isocitrat Lyase, E.C. 4.1.3.1)

Bis heute konnten die drei ersten Systeme untersucht werden. Folgende Methoden gelangten zur Anwendung: *Porphyridium* wurde bei Dauerlicht, belüftet mit einem Gemisch von Luft und 2% CO₂, kontinuierlich kultiviert. Für jedes Experiment wurden 50 ml der Kultursuspension abzentrifugiert, die sedimentierten Algen aufgeschwemmt und während 3 min mit Ultraschall aufgebrochen. Dieses Homogenat wurde 10 min bei 20000 g zentrifugiert, und ein Teil des Überstands wurde über eine Säule von Sephadex G 25 von niedermolekularen Bestandteilen befreit. Ein Aliquot diente zur Chlorophyllbestimmung. Die Versuchsansätze enthielten in µmol:

- RuDP-Karboxylase: Tris-Puffer pH 8,3 10; 2-SH-Äthanol 1; MgCl₂ 1; RuDP 0,5; NaH¹⁴CO₃ (0,4 Ci/mol) 5
- PEP-Karboxylase: Tris-Puffer pH 7,4 187; 2-SH-Äthanol 37,5; MgCl₂ 18,75; Na-Glutamat 18,75; PEP-Na₃ 7,5; NaH¹⁴CO₃ (0,4 Ci/mol) 5; Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) 0,5 Einheiten
- Malat-Dehydrogenase: Tris-Puffer pH 7,4 120; MgCl₂ 37,5; Na-Pyruvat 25; NaH¹⁴CO₃ (0,4 Ci/mol) 37,5; NADPH₂ 0,75

Zu jedem Ansatz wurden 0,2 ml des gereinigten Homogenats zugegeben, so dass ein Endvolumen von 1,5 ml entstand. Die Reaktionen wurden bei 28 °C durchgeführt, die Malat-Dehydrogenase unter Stickstoffbeugung. Zu verschiedenen Zeiten wurden Proben von 0,2 ml entnommen, mit dem gleichen Volumen Essigsäure vermischt, getrocknet, mit Scintillationslösungen übergossen und gezählt. Die Zählergebnisse wurden auf *n* mol fixiertes C umgerechnet und als Funktion der Zeit dargestellt. Als Fixierungsrate wurde die Steigung dieser Kinetiken verwendet, bei den immer gekrümmten Kinetiken der RuDP-Karboxylase diente die Anfangssteigung als Mass. Diese Resultate sind in Tabelle I zusammengestellt. Als Vergleich wurden die gleichen Experimente mit Homogenaten aus Maisblättern (C-4-Pflanze) und Spinatblättern (C-3-Pflanze) durchgeführt. Als Literaturwerte sind Mittelwerte der Untersuchungen von HATCH und SLACK [2] von typischen C-3- und C-4-Pflanzen zitiert.

Eine eindeutige Zuordnung von *Porphyridium* zum C-3- oder C-4-Typ ist auf Grund dieser Resultate nicht möglich; sie lassen aber immerhin den Schluss zu, dass keine von beiden Möglichkeiten vernachlässigt werden kann. Ausserdem lässt sich feststellen, dass der C-4-Weg nicht über das Malat-Dehydrogenasesystem abläuft. Vergleicht man die Ergebnisse von Spinat und Mais mit den Literaturwerten, fällt auf, dass die Aktivi-

Tabelle I

Spezifische Enzymaktivitäten in Homogenaten verschiedener Organismen,
Angabe in 10^{-6} mol/h \times mg Chlorophyll

	<i>Porphyridium cruentum</i>	Mais	Spinat	C-3	C-4
RuDP-Karboxylase	3,26	0,24	3,98	268	25,2
PEP-Karboxylase	0,55	5,31	7,97	19,4	1036
Malat-Dehydrogenase	0,0018	–	–	100	190
Verhältnis der Aktivitäten RuDP : PEP-Karboxylase	5,9	0,05	0,5	13,8	0,024

Tabelle II

Vergleich der Enzymkonstanten und der verwendeten Konzentrationen in den Versuchsansätzen. Angaben in 10^{-3} M. Die Zahlen in Klammern geben die von SLACK und HATCH verwendeten Konzentrationen

	RuDP-Karboxylase	PEP-Karboxylase
Michaelis-Konstanten		
HCO ₃ ⁻	22	0,31
Organisches Substrat	0,12	0,5
Verwendete Konzentrationen		
HCO ₃ ⁻	3,33 (57,6)	3,33 (6,25)
Organisches Substrat	0,33 (1,5)	5 (2,5)

täten um eine bis zwei Grössenordnungen niedriger liegen. Dies ist erklärbar dadurch, dass HATCH und SLACK mit wesentlich kleineren Volumina etwa gleiche Mengen Chlorophyll verarbeiteten. Damit ist die Enzymkonzentration in diesen Experimenten viel höher als in unseren eigenen, was sich als Steigerung der Aktivität auswirkt. Bei Mais ist das Verhältnis der Aktivitäten der PEP- und RuDP-Karboxylase etwa dem von HATCH und SLACK entsprechend, bei Spinat jedoch ist die Aktivität der RuDP-Karboxylase wider Erwarten niedrig im Vergleich zur PEP-Karboxylase, wenn man mit der zitierten Arbeit vergleicht.

Dieses Ergebnis lässt sich nicht leicht erklären. Die Geschwindigkeit von Enzymreaktionen wird im wesentlichen durch vier Faktoren beeinflusst: physikalische Bedingungen (pH, Temperatur), Enzymkonzentrationen, Substratkonzentrationen und Konzentrationen von Aktivatoren oder Hemmstoffen. Die physikalischen Bedingungen können hier zur Diskussion ausscheiden, weil sie in unseren und den verglichenen Versuchen aus der Literatur identisch waren. Der Einfluss der Enzymkonzentration wurde bereits erwähnt. Über Aktivatoren oder Hemmstoffe ist praktisch nichts bekannt, ausser dass Mg²⁺-Ionen für beide Karboxylierungsreaktionen benötigt werden. Anders stellt sich das Problem der

Substratkonzentrationen. Bei den Ansätzen der PEP-Karboxylase wurde die Michaelis-Konstante um den Faktor 10 überschritten [3]. Ist bei der RuDP-Karboxylase die Konzentration des organischen Substrats noch etwa im gleichen Verhältnis, so ist es die Bikarbonatkonzentration nicht mehr. In unsern Versuchen ist sie gleich wie bei der PEP-Karboxylase und etwa 6,5mal unter der Michaelis-Konstanten, bei HATCH und SLACK liegt sie noch gut um den Faktor 2,5 darüber. Diese Abweichung wirkt sich besonders stark aus, da Konzentrationsunterschreitungen der Michaelis-Konstanten wesentlich grössere Abweichungen bewirken als Überschreitungen. Die Wahl von gleichen Bikarbonatkonzentrationen für beide Karboxylasen begründeten wir damit, dass kaum anzunehmen ist, dass in der lebenden Zelle grosse Unterschiede in der Bikarbonatkonzentration auftreten. Die gewählte Konzentration ist ausserdem etwa derjenigen in vivo entsprechend, wenn man annimmt, dass in der Kulturlösung das Gleichgewicht zwischen CO_2 -Partialdruck der Luft und der Lösung bei pH 7 von 22 °C vorliegt und der Zellinhalt mit der Umgebung im Gleichgewicht steht. Diese Bedingungen sind bei den zitierten Autoren nicht erfüllt, da sie ihre Versuchspflanzen bei 0,03% CO_2 (entspr. Normalluft) kultiviert haben.

Ein ähnlicher Vergleich der Substratkonzentrationen der organischen Substrate ist zurzeit nicht möglich, da noch keine Angaben über die Grösse der aktiven Pools dieser Substrate vorliegen. Deshalb wurde hier mit den in der Literatur gefundenen Konzentrationen gearbeitet.

Eine Interpretation von Enzymversuchen in vitro im Vergleich zur lebenden Zelle ist ein äusserst komplexes Problem. In den meisten Fällen wird in vitro mit einem enzymatisch möglichst optimalen System gearbeitet, und es wird kaum je versucht, die Bedingungen in vivo überhaupt nur annähernd zu berücksichtigen. Dass aber diese Bedingungen meist weit neben den In-vivo-Bedingungen liegen, lässt den Aussagewert solcher Versuche als sehr zweifelhaft erscheinen, wenn man die Ergebnisse auf die lebende Zelle übertragen will.

LITERATUR

1. EGGENBERG, P., und ERISMANN, K.H.: Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges. 149: 147 (1969).
2. SLACK, C.R., und HATCH, M.D.: Biochem.J. 103: 660 (1967).
3. BORMANN, T.E.: Enzyme Handbook. Springer-Verlag, Berlin 1969.

20. A. BOSCHETTI, E.C. GROB und C. STRASSER-SCHULLER (Bern): *Wachstum, Feinstruktur und Pigmentierung chromosomaler und nicht-chromosomaler Mutanten von Chlamydomonas reinhardi unter Streptomycineinfluss*

Mit Hilfe von chromosomalen und nicht-chromosomalen Mutanten von *Chlamydomonas reinhardi* werden Wechselbeziehungen zwischen Chloroplasten und übriger Zelle untersucht. Dazu werden drei Stämme verwendet, nämlich ein argininbedürftiger, streptomycinsensibler Stamm

(*ss*) und zwei daraus hergestellte streptomycinresistente Mutanten, wovon eine einen chromosomalen (*sr_c*), die andere einen nicht-chromosomalen (*sr_{nc}*) Erbgang der Streptomycinresistenz zeigt. Die Mutanten unterscheiden sich ausser in der Resistenzschwelle gegen Streptomycin auch in ihrer Ergrünungsfähigkeit [1]. Werden die Stämme im Dunkeln auf festen Nährböden mit subletalen Dosen Streptomycin kultiviert, bilden der *ss*- und der *sr_c*-Stamm gelbe, die *sr_{nc}*-Mutante dagegen normal grüne Kolonien. Ohne Streptomycin ergrünen alle drei Stämme auch im Dunkeln. Da bei der streptomycininduzierten Vergilbung der Chlorophyllgehalt der Kulturen stärker abnimmt als der Carotinoidgehalt, ist das Carotinoid/Chlorophyll-Verhältnis 2–6fach erhöht. Das Chlorophyll-a/b-Verhältnis und die Carotinoidzusammensetzung bleiben dabei konstant.

Elektronenoptische Bilder von streptomycinvergilbten *ss*- und *sr_c*-Zellen zeigen einen zum Teil vollständigen Verlust des Thylakoidsystems der Chloroplasten, während Stärkekörner und Chloroplastenmembran normal gebildet werden. Auch die Mitochondrien zeigen normale Struktur. Alle grünen Kulturen hingegen bilden normal strukturierte Chloroplasten.

In Flüssigkulturen kann die streptomycininduzierte Vergilbung nicht von blossen Auge erkannt werden. Pigmentanalysen zeigen jedoch auch hier während des exponentiellen Wachstums der *ss*- und *sr_c*-Stämme in Gegenwart von subletalen Dosen Streptomycin eine Erhöhung des Carotinoid/Chlorophyll-Verhältnisses. Beim *sr_{nc}*-Stamm bleibt das Verhältnis konstant.

Die Resistenzschwelle in Flüssigkulturen ist gegenüber Festkulturen herabgesetzt. Sie liegt für den *ss*-Stamm unter 5, für den *sr_c*-Stamm bei 20 µg Streptomycin/ml Nährlösung. Beim *sr_{nc}*-Stamm ist die Resistenzschwelle lichtabhängig. Dieser neue Effekt ist besonders deutlich aus dreidimensionalen Wachstumsdiagrammen, bei denen als Wachstums-mass die Extinktion der Kultur gegen Zeit und Streptomycinkonzentration in der Nährlösung aufgetragen sind, ersichtlich. Während die Resistenzschwelle in Dunkelkulturen analog dem *sr_c*-Stamm bei 20 µg/ml liegt, weisen Lichtkulturen zwei Resistenzschwellen auf, eine bei 20 und die andere bei 200 µg/ml.

Wenn man annimmt, dass Streptomycin in den angewandten Konzentrationen nur die Proteinsynthese der 70s-Ribosomen hemmt [2, 3, 4] und die Streptomycinresistenz, wie bei *E. coli*, auf der Veränderung nur eines einzigen Proteins der 30s-Untereinheit beruht [5], ergibt sich folgende Deutung der Ergebnisse: Bei den *ss*- und *sr_c*-Mutanten, welche ja im Dunkeln trotz Streptomycin wachsen, müssen die energieliefernden Mitochondrien und damit deren Ribosomen funktionstüchtig sein. Das stimmt mit der normalen Mitochondrienstruktur überein. Die Chloroplastenstruktur hingegen ist stark gestört. Es scheint, dass die Chloroplastenribosomen des *ss*-Stammes um eine Spur, diejenigen des *sr_c*-Stammes wesentlich empfindlicher gegen Streptomycin sind als die entsprechenden Mitochondrienribosomen. Beim *sr_c*-Stamm müssen für die Streptomycinresistenz somit die mitochondrialen Ribosomen verantwort-

lich sein und das mutierte Ribosomenprotein sollte, da die Resistenz chromosomal vererbt wird, im Kern codiert sein. Die elektronenoptischen Aufnahmen der vergilbten Zellen zeigen zudem, dass gewisse Chloroplastenbestandteile, wie Membran, stärkebildende Enzyme und Enzyme der Pigmentsynthese, nicht an den durch Streptomycin gehemmten Chloroplastenribosomen, sondern in der übrigen Zelle synthetisiert werden. Der geringe Chlorophyllgehalt scheint uns eher auf einem grösseren Turnover des chemisch labilen Chlorophylls zu beruhen, wenn es nicht in Membranen eingebaut werden kann. Hingegen müssen direkt oder indirekt ein oder mehrere essentielle Thylakoidbausteine an den Chloroplastenribosomen gebildet werden.

In der *sr_{nc}*-Mutante sind sowohl die mitochondrialen wie die plastidialen Ribosomen streptomycinresistent; denn trotz Streptomycineinwirkung findet man normale Chloroplasten- und Mitochondrienstrukturen. In diesem Fall sind die Chloroplastenribosomen resistenter als die mitochondrialen. Von den zwei in belichteten Flüssigkulturen gefundenen Resistenzschwellen entspricht die höhere bei 200 µg/ml den Chloroplastenribosomen, die niedrigere den Mitochondrienribosomen, da im Dunkeln, wo die Energieproduktion der Zelle nur noch in den Mitochondrien ablaufen kann, die Resistenzschwelle auf den Wert der resistenten Mitochondrienribosomen abfällt. Das für die Streptomycinresistenz verantwortliche ribosomale Protein müsste hier, gemäss dem Erbgang des Merkmals, extrachromosomal, eventuell in der Plastiden-DNS, codiert sein.

Bei *Chlamydomonas reinhardtii* müssen in Dunkelheit für die Ausbildung normaler Thylakoide funktionstüchtige Chloroplastenribosomen vorhanden sein. Im Licht hingegen ist dies nicht nötig, da die *ss*- und *sr_c*-Mutanten auch bei Gegenwart von Streptomycin ergrünen. Zur Erklärung dieser lichtinduzierten Chloroplastenbildung sind gegenwärtig noch mehrere Hypothesen denkbar, die durch weitere Versuche geprüft werden müssen.

LITERATUR

1. BOSCHETTI, A., GROB, E. C., und STRASSER, C.: III. Int. Congr. Photosynth., Stresa 1971.
2. SCHLESINGER, D., und APIRION, D.: Ann. Rev. Microbiol. 23: 387 (1969).
3. DROWN, D., und GALLOWAY, R. A.: Arch. Mikrobiol. 68: 377 (1969).
4. SCHIFF, J. A.: Symp. Soc. exptl. Biol. 24: 277 (1970).
5. OZAKI, M., MIZUSHIMA, S., und NOMURA, M.: Nature 222: 333 (1969).

21. R. J. STRASSER (Université de Liège, Belgique): *Über die Lichtinduktion der photosynthetischen Aktivität bei ergrünenden Blättern*

Die Frage nach dem photosynthetisch aktiven Zentrum ist ebenso alt wie die Photosyntheseforschung selbst. Ausgehend vom Blatt oder vom intakten Organell, wird seit Jahrzehnten versucht, der photosynthetischen

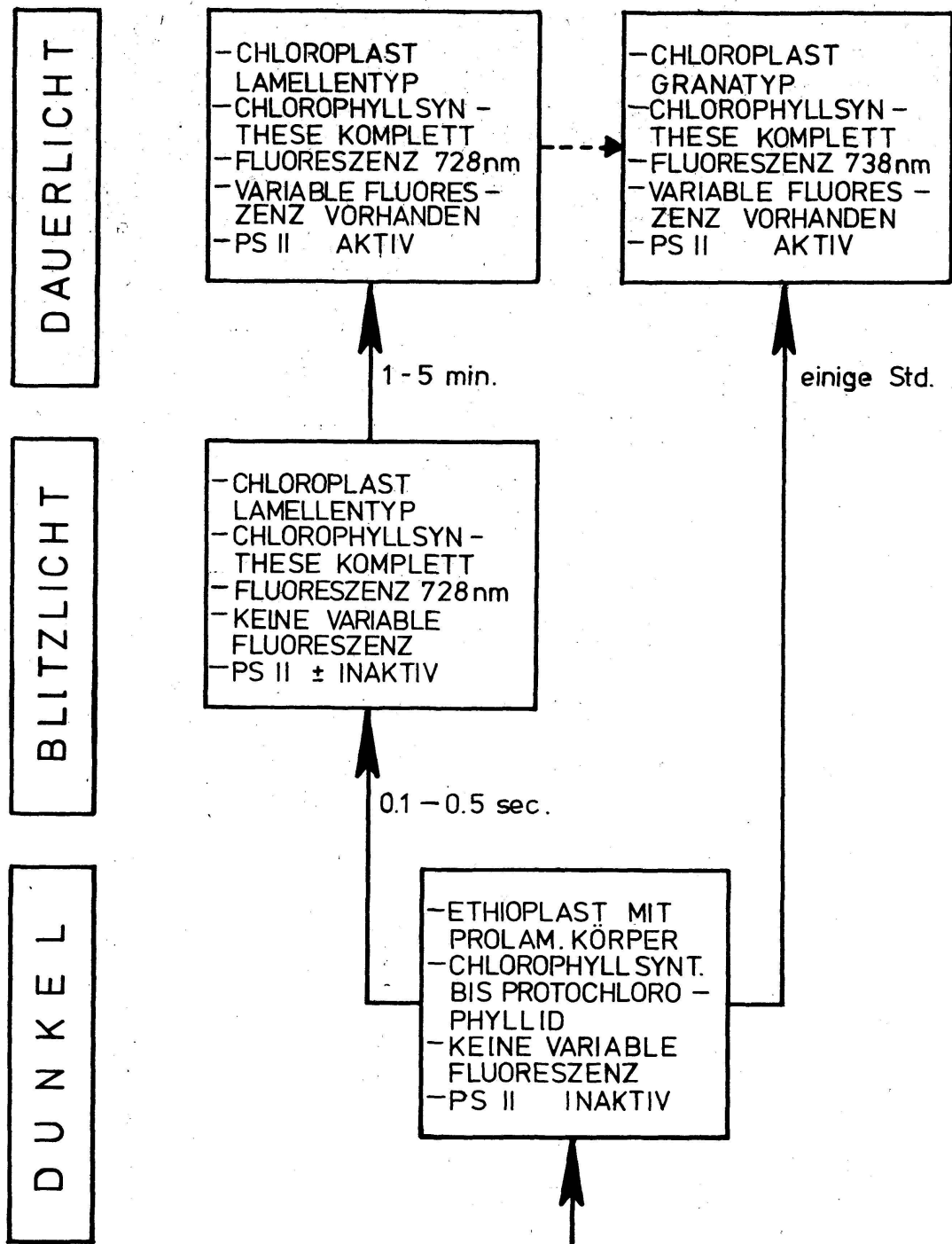
Einheit immer kleinere Partikel zuzuschreiben. Solche Forschungen lieferten unermesslich viele und wertvolle Daten, die aber immer wieder die Frage offenlassen, ob die gefundenen Verhaltensweisen der photosynthetischen Partikel für den In-vivo-Zustand des Organismus repräsentativ sind. Immer häufiger sind heute Forschungsgruppen anzutreffen, die gerade den umgekehrten Weg beschreiten, das heisst mit einfachen Systemen auf molekularer Stufe beginnen und einen immer komplexeren Zustand anstreben. Dabei drängt sich das Verfolgen des Ergrünungsprozesses bei ethiolierten Blättern gerade auf. Von verschiedenen Autoren konnte dabei die Entwicklung eines Ethioplasten zu einem Chloroplasten, also die Entstehung eines funktionsfähigen Photosyntheseapparates, verfolgt werden.

Da in höheren Pflanzen für die Chlorophyllsynthese Licht benötigt wird, steht die In-vivo-Chlorophyllsynthese im Zentrum dieser Arbeiten. Werden nun die im Dunkeln gezogenen Pflanzen (*Phaseolus vulgaris*) mit Blitzen beleuchtet, alle 15 min ein Blitz von 1 ms Dauer, so kann erreicht werden, dass sich Chlorophyll a proportional zur Blitzzahl im Blatte bildet. Während dieser Chlorophyllsynthese ist die Bildung eines Chloroplasten vom Lamellentyp zu beobachten. Obwohl grün, scheint dieses Organell zunächst keine Aktivität bezüglich Photosystem 2 aufzuweisen. Bei Beleuchtung mit kontinuierlichem Licht zeigt ein z. B. 5 Tage lang beblitztes Blatt (Beleuchtungszeit somit total 0,5 min) weder eine variable Fluoreszenz noch eine Sauerstoffentwicklung. Bei andauernder Beleuchtung ist jedoch ein erstaunlich rasches Induktionsphänomen zu beobachten. Mittels rascher und kontinuierlicher Sauerstoffmessanordnungen an Blättern kann die Aktivierung des Photosystems 2 verfolgt werden. Innerhalb weniger Minuten (2–4 min) «lernt» eine unter Blitzlichtbedingungen kultivierte Pflanze Sauerstoff zu entwickeln, so dass der Sauerstoffgaswechsel für das Blatt über den Kompensationspunkt zu stehen kommt.

Dieses rasche Induktionsphänomen wird durch erhöhte Blitzzahl während der Dunkelkultivierung gesteigert. Die Arbeiten zeigen deutlich (Tabelle I), dass für die morphologische Bereitstellung von Chloroplasten in der Zelle ein Lichtschritt notwendig ist. Das Licht wird dabei für die Phototransformation des Protochlorophyllides benötigt. Für die volle Funktionsfähigkeit dieses Chloroplasten ist jedoch eine weitere Lichtwirkung notwendig, deren Aktionsort heute noch unbekannt ist.

Es ist anzunehmen, dass Untersuchungen an diesem höchst flexiblen und dynamischen System viel zum Verständnis des photosynthetisch aktiven Zentrums beitragen werden. Das beschriebene Phänomen mit der Zielsetzung, dem photosynthetisch aktiven Zentrum näherzukommen, wird zurzeit morphologisch (elektronenmikroskopisch), biophysikalisch (Aktionsspektren und Timing der Induktionsphase) und biochemisch (Feinanalyse der Proteinmuster) weiterverfolgt.

Dem Patrimoine de l'Université de Liège, das mir in Form eines Forschungsstipendiums diese Arbeiten ermöglichte, sei an dieser Stelle herzlich gedankt.



LITERATUR

Eingehende Arbeiten über das geschilderte Problem sind in Photosynthetica ab 1968 unter C. SIRONVAL et al. zu finden.

22. A. BAUER, CH. SCHAEFER und K.H. ERISMANN (Bern/Wimmis):
Zur Frage der Stickstoffinkorporation in Aminosäuren und Proteine bei
Lemna minor unter Photosynthesebedingungen

Das Stabilisotop Stickstoff 15 (^{15}N) wird mangels geeigneter radioaktiver Isotopen häufig bei Untersuchungen des Stickstoffmetabolismus in Form von anorganischen oder organischen Verbindungen als Nährlösungsbestandteil eingesetzt. Der Einbau in stickstoffhaltige Substanzen kann massenspektrometrisch als Verhältnis $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ gemessen und durch Parallelbestimmungen der totalen Stickstoffmengen absolut ausgedrückt werden. Die massenspektrometrische Analyse wird vorzugsweise an elementarem Stickstoff vorgenommen.

In der vorliegenden Arbeit wurden mittels kinetischer Experimente die wasserlöslichen Anteile von anorganischen und organischen Stickstoffverbindungen sowie die relativen Einbaugeschwindigkeiten in die Aminosäuren und Proteine der Wasserlinsen (*Lemna minor*) im Licht und im Dunkeln untersucht.

Zu Beginn des Licht- bzw. Dunkelexperiments wurde eine modifizierte Hutner₈-Nährlösung (ERISMANN und FINGER, 1968) mit $^{14}\text{NH}_4^+$ als einziger Stickstoffquelle gegen eine gleiche mit $^{15}\text{NH}_4^+$ ausgetauscht. Innerhalb von 24 h wurden in Abständen von 5, 7,5, 10, 20, 40, 60 min sowie 1,5, 2, 4, 6, 10, 14, 18, 24 h insgesamt 15 Proben entnommen. Zur Analyse gelangten die wässerigen Extrakte mit den freien Aminosäuren und dem Ammonium (Fraktion 1), sowie die Proteine (Fraktion 2). Um Anhaltspunkte über die Grösse des Ammoniumanteils in der ersten Fraktion zu erhalten, wurden mehrere Proben zu dessen Austreibung mit 1 n NaOH versetzt und mit den entsprechenden unbehandelten Parallelproben verglichen (siehe Abb. 1).

Eine umgearbeitete Methode von FAUST (1967) diente zur quantitativen Aufarbeitung der Stickstoffverbindungen zu N_2 für die massenspektrometrische Analyse.

Dazu wurden die wasserlöslichen Stickstoffverbindungen mit einem Gemisch von CuO/CaO versetzt und im Hochvakuum bei 500 °C oxidativ aufgespalten. CaO bindet quantitativ das neben N_2 entstehende CO_2 .

Die mittlere Stickstoffaufnahme betrug bei einer Verdoppelungszeit der Wasserlinsen von 30 h $0,5 \mu\text{mol N/min} \times \text{g Trockengewicht}$. 12% des aufgenommenen Stickstoffs wurden in den freien Aminosäuren und in den wasserlöslichen Proteinen aufgefunden. INGVERSEN/IVANKO (1971) und LÄHDESMÄKI (1968) geben bei vergleichbaren Bedingungen für Maiskeimlinge beziehungsweise Schwimmfarn (*Salvinia natans*) Werte von 10–25% an.

Die $^{15}\text{NH}_4^+$ -Aufnahme führte während der ersten 40 min zu einem lichtunabhängigen Austausch ($^{14}\text{NH}_4^+$ gegen $^{15}\text{NH}_4^+$) im «apparent free space» der Wasserlinsen. Er zeigt sich in den Resultaten, indem nach 10 min bzw. 40 min keine erfassbaren Grössenunterschiede des Ammoniumanteils auftraten. Ausserdem konnte das ausgetauschte $^{14}\text{NH}_4^+$ in der Nährlösung massenspektrometrisch bestimmt werden.

5–8% des löslichen Stickstoffs liegen in den Wasserlinsen als freies Ammonium vor. Wie aus der Abbildung hervorgeht, findet im Dunkeln während der ganzen Dauer des Experiments eine Stickstoffassimilation in die freien Aminosäuren statt. Sie beträgt nach 24 h ungefähr ein Viertel der Lichtassimilation. Die Annahme, dass Energie, Reduktionsäquivalente und C-Skelette Atmungsprozessen entstammen, ist naheliegend. Hinweise einer Veränderung des Verhältnisses C/N im Dunkeln liefert der Quotient aus dem Trockengewicht und dem wasserlöslichen Stickstoff der Wasserlinsenkultur, der im Licht 46, im Dunkeln 40 beträgt.

LÄHDESMÄKI (1968) gibt für den Schwimmfarn eine Veränderung des C/N-Verhältnisses von 18,7 (Dauerlicht) zu 12,5 (Dunkel) an. Lediglich ein geringer ^{15}N -Turnover findet in den löslichen Proteinen statt. Nach 24 h beträgt die ^{15}N -Häufigkeit im Licht 4% und im Dunkeln 2% des Proteinstickstoffs.

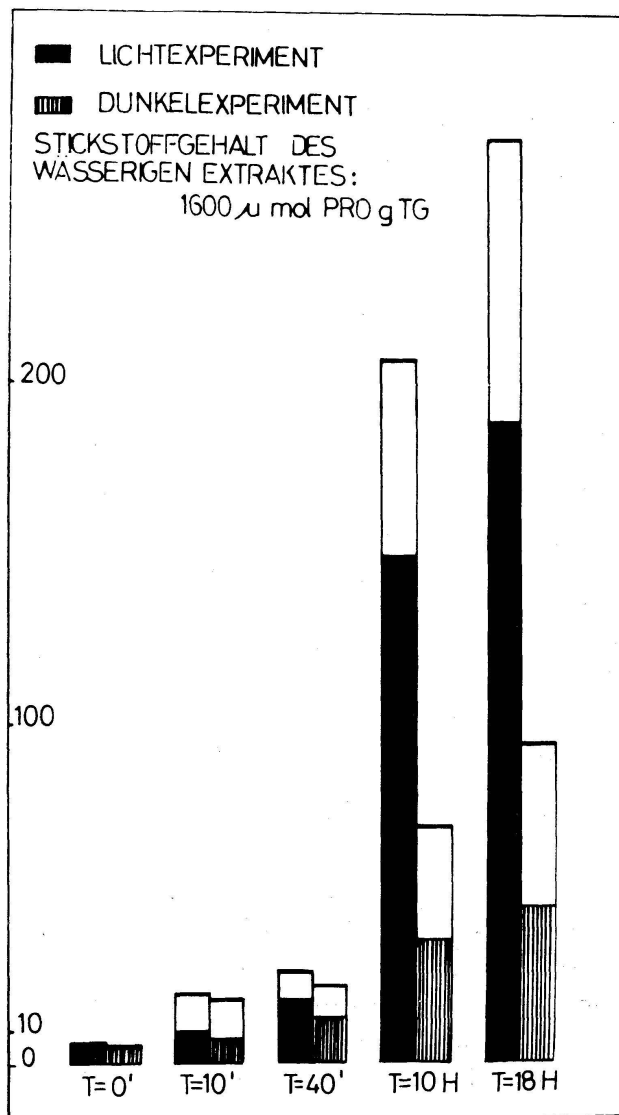


Abbildung 1

^{15}N -Anteile am Totalstickstoff der wässrigen Ammonium / Aminosäure-Fraktion in µmol/g Trockengewicht:

- Umrandet: ^{15}N -Ammoniumstickstoff
- Schraffiert oder ausgefüllt: ^{15}N -Aminosäurestickstoff

Die modifizierte Stickstoffaufarbeitungsmethode gestattete in der vorliegenden Arbeit massenspektrometrische Analysen mit minimalen Aminosäuremengen von 0,5 μ mol. Gegenüber den vergleichbaren Arbeiten von INGVERSEN wurde dabei eine Verfeinerung des Mengenbereiches um mehr als eine Zehnerpotenz erreicht.

LITERATUR

- BIRKENFELD, H., HAASE, G., und ZAHN, H.: Massenspektrometrische Isotopenanalyse. Berlin 1969, S. 84.
- ERISMANN, K.H., und FINGER, A.: Ber. Schweiz. Bot. Ges. 78: 5–15 (1968).
- FAUST, H.: Isotopenpraxis III/3: 100 (1967).
- INGVERSEN, J., und IVANKO, S.: Physiol. Plant. 24: 59–65 (1971); Physiol. Plant. 24: 199–204 (1971).
- LÄHDESMÄKI, P.: Physiol. Plant. 21: 1097–1103 (1968).