

Bei der Trennung von Extrakten aus Pilzen traten jedoch Schwierigkeiten auf (Schräge der Proteinbanden, schlechte Reproduzierbarkeit der Trennungen und lokale Zerstörung der Gele), die möglicherweise dem Gehalt der Extrakte an anorganischen Ionen zuzuschreiben waren. Dieser ist jedoch, obwohl theoretisch unerwünscht, nicht immer zu vermeiden. Wir untersuchten deshalb den Einfluß von Protein und von einigen anorganischen Ionen auf den pH-Gradienten.

Verwendet wurden 7,5 proz., 5×100 mm große Polyacrylamid-Gele, die 2,5% Ampholine® der Firma LKB enthielten (pH-Bereich 3—10, Spannung bis 350 V, Strom 1—0,3 mA). Fig. 1 zeigt den Einfluß von Phosphatpuffer ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) auf den pH-Verlauf. Bei zu hohen Konzentrationen erhält man statt eines pH-Gradienten einen pH-Sprung

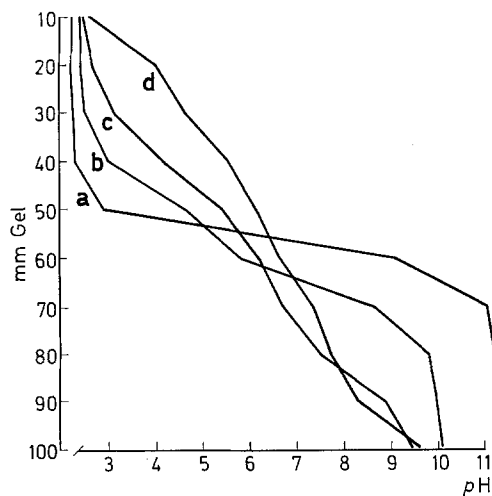


Fig. 1. Einfluß der Konzentration von Phosphatpuffer (pH 6,9) auf den pH-Gradienten in IEF-Gele (2,5% Ampholine, pH 3—10). a) 0,025 M; b) 0,01 M; c) 0,005 M; d) H_2O

in der Mitte des Gels. Dort konzentriert sich fast die gesamte elektrische Verlustleistung. Durch lokale Überhitzung können dadurch Gel und Proteine geschädigt werden. Eine Pufferkonzentration von 0,005 M scheint zwar erträglich, führt jedoch oft zur Schrägstellung von Proteinbanden. Deshalb sollte ein Gehalt von 0,003 M Puffer nicht überschritten werden. Neutralsalze (NaCl , Na_2CO_3) führen zu den gleichen Verzerrungen, allerdings erst bei Konzentrationen über 0,02 M. Hohe Proteinkonzentrationen bleiben dagegen ohne schädlichen Einfluß: Ein Test mit Rinderserumalbumin zeigte, daß unter den beschriebenen Bedingungen noch 2 mg Protein ohne merkliche Gradientenverschiebung auf eine Bande fokussiert werden, wo es dann zwar zum Ausfallen neigt, was aber bei qualitativen Untersuchungen nicht stört.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Für die Durchführung der Versuche danken wir Fr. R. Kuprat.

Eingegangen am 6. Oktober 1970

Ribonucleic Acid — A Flavor Precursor in Potatoes

R. BURI and J. SOLMS

Agrikulturchemisches Institut, ETH Zürich, Switzerland

Free 5'-nucleotides are important flavor components of boiled potatoes [1] about whose mode of origin nothing is known as yet. We show that these nucleotides do not occur in appreciable quantities in raw potatoes but that they are set free during cooking, presumably by decomposition of ribonucleic acid.

Bintje potatoes, stored for 5 months at 4 °C without sprout inhibitors, were used: for each experimental series, 5 kg of potatoes were washed, peeled and cut into 2 to 6 pieces. 500 g batches were then used for the experiments, both raw and after steam cooking.

The nucleotides were extracted as follows:

a) those in the free form, by overnight soaking of the potatoes in 500 ml of 5% cold perchloric acid and centrifuging, b) the total nucleotides (free and RNA-bound), after homogenizing

the potatoes in a Turmix blender with two parts of 0.4 N NaOH in 90% ethanol. The resulting slurry was kept at 37 °C for 16 h. Transformation of ribonucleic acid to the free 2',3'-nucleotides took place under these conditions [2]. Prior to centrifugation, the mixtures were acidified with HClO_4 to a final concentration of 5% free acid. Excess alcohol was removed from the clear supernatant by evaporation under vacuum.

Determination of the nucleotides: the nucleotides were isolated by treating the extracts with charcoal [3]. They were then separated chromatographically on a 0.9×60 cm column of PEI-cellulose (MN 2100 PEI, Macherey-Nagel & Co., Düren) [4], by means of a linear gradient elution system, consisting of 800 ml of LiCl solution ranging in concentrations from 0 to 0.3 M. In this way all 5'- and 2',3'-isomers could be resolved. They were identified and quantitatively determined by UV spectroscopy.

The results, listed in the table, indicate: a) raw potatoes contain mainly bound nucleotides and b) most of the nucleotides present in boiled potatoes exist in the free form, particularly as 5'-isomers. Because we could not detect any precursors of the free nucleotides other than RNA, this result strongly suggests that RNA is degraded during cooking, probably by an enzymatic reaction. From preliminary experiments we have learned that the degree of formation of free nucleotides is dependent on the mode of heating and that in homogenized, raw potatoes these free nucleotides cannot be detected because they are instantaneously decomposed to nucleosides and bases. It is known that potatoes contain phosphodiesterase [5] besides other RNA- and nucleotide-attacking enzymes; it is therefore evident that the phosphodiesterase is activated specifically during cooking. This effect can be attributed to the special morphological structure of the potato tuber.

Table. Free and bound nucleotides in raw and boiled potatoes [$\mu\text{Mol/kg}$ potatoes]

Free nucleotides	Raw potatoes		Boiled potatoes	
	2',3'	5'	2',3'	5'
Uridinemonophosphate		26.9 ^a	39.2	68.2
Adenosinemonophosphate	0	5.5	0	110.3
Guanosinemonophosphate	0	0	26.7	64.4
Cytidinemonophosphate	0	0	0	26.5
Adenosinediphosphate	26.2		37.2	
Adenosinetriphosphate	22.8		25.9	
Bound nucleotides (presumably RNA)	577.6		133.6	

^a Present as sugar nucleotides.

The work was supported by the Eidgenössische Alkoholverwaltung, Berne.

Received October 28, 1970

[1] Buri, R., Signer, V., Solms, J.: Lebensm.-Wiss. Technol. 3, 63 (1970). — [2] Schmidt, G., Thannhauser, S. J.: J. Biol. Chem. 161, 83 (1945). — [3] Kieffer, F., Egli, R. H.: Z. analyt. Chem. 221, 416 (1966). — [4] Christianson, D. D., Paulis, J. W., Pitney, R. E.: Anal. Biochem. 23, 11 (1968). — [5] Zellstoffabrik Waldhof, French Patent Nr. 1 314 200, November 26, 1962.

Manganese-Oxidizing Fungi and Bacteria

in Recent Shelf Sediments of the Bay of Biscay and the North Sea

W. E. KRUMBEIN

Biologische Anstalt Helgoland, Abt. Mikrobiologie, Helgoland

Work on precipitation and metabolism of manganese in the marine environment [1] has been mainly concerned with manganese nodules which occur almost always in oceanic depths. In 70% of sediment samples obtained during a cruise with RV "Friedrich Heincke" in the Bay of Biscay, as well

as in most of our routine samples from the Heligoland Bight (North Sea), we have detected manganese-oxidizing bacteria and fungi. These organisms grow under heterotrophic conditions; chemosynthesis could not be ascertained.

Metabolism of manganese in bacterial and fungal cells has been reported from fresh-water and some marine environments [1-5]. We adapted some of the fresh-water media to marine conditions and included them in our program on the ecology of sediment microflora [3,6]; we are using 12 selective media to obtain values for total microflora and groups of microorganisms with special physiological capacities. Optimum growth of most of the isolates on media enriched with manganese sulphate in concentrations of 0.0001 to 0.1% was observed at 0.01%. In media containing 75% seawater and 25% distilled water (Biscay 35⁰/₀₀ and North Sea 30⁰/₀₀ salinity) and a suitable source of organic carbon and nitrogen, the isolates precipitated manganese without additional MnSO₄ in the medium. The manganese content of normal seawater is thus sufficient to promote the growth of organisms precipitating MnO₂.

Some fungi show a preference for precipitation in concentric rings. The precipitated particles are either connected to the hyphae, forming dendritic structures, or occur in the form of small, irregularly distributed nodules.

Some of the cultures seem comparable to the supposed symbiotic organisms reported by Perfiliev and Zavarzin [7]. Enumeration and definition of oxidizing colonies on selective media has been done by benzidine acetic acid reagent.

On four profiles across the Bay of Biscay from the coast to the continental slope we always found manganese-precipitating organisms within the uppermost millimeters of shelf sediments at depths of 13 to 180 m. Only one of the samples we took from the slope at depths ranging from 280 to 540 meters contained manganese-oxidizing organisms. This seems to be connected with the particle size distribution: the organisms were more abundant in silty sands than in coarse sands and clays. Quantitatively the manganese-oxidizing microorganisms varied from 1 to several hundred (in one case 2100) per g dry sediment. The number of general microflora in the same samples was between 2.5×10^8 and 3.8×10^7 /g dry sediment. Reduction of manganese by some of the fungi isolated from the North Sea samples has also been observed. We have tried to purify the cultures and test their halotolerance and capacity for enrichment in manganese. The precipitation process seems to be enzymatic [1, 8]; energy gains due to manganese oxidation are not reported in the literature. We conclude from our ecological investigations that manganese-oxidizing organisms are widespread both in fresh-water environments and in marine sediments. Detailed data will be published elsewhere.

Received October 26 and November 6, 1970

[1] Ehrlich, H. L.: Appl. Microbiol. 11, 15 (1963). — [2] Beijerinck, W.: Folia microbiol. 2, 123 (1913). — [3] Schweisfurth, R.: Mitt. Internat. Verein. Limnol. 14, 179 (1968). — [4] Krumbein, W. E.: Geol. Rdsch. 58, 333 (1969). — [5] Thiel, G. A.: Econ. Geol. XX, 301 (1925). — [6] Bromfield, S. M., Skerman, V. B. D.: Soil Sci. 69, 337 (1950). — [7] Zavarzin, G. A.: Z. allg. Mikrobiol. 4, 390 (1964). — [8] Brantner, H.: Zbl. Bakteriol. etc., II. Abt. 124, 412 (1970).

Antimetabolische Hemmung des Streckungswachstums von Haferkoleoptilsegmenten durch ortho- und meta-DL-Tyrosin

K. FRIES

Botanisches Institut der Universität Kiel

Die hemmende Wirkung von Aminosäureanalogen auf das pflanzliche Streckungswachstum und die Aufhebung ihrer Hemmung durch simultane Zugabe der nativen Aminosäure werden vielfach als Beleg dafür angesehen, daß der störungsfreie Mechanismus einer \pm gesteigerten Proteinsynthese Voraussetzung oder Folge des endogenen oder exogen induzierten Streckungswachstums ist [1-6]. Auf der Suche nach geeigneten potentiellen Phenylalanin-Analogen mit Inhibitorwirkung wurden neben *p*-Fluor-DL-phenylalanin das bei Mutanten von *Leuconostoc mesenteroides* und *Escherichia coli*

antimetabolisch wirksame *o*-DL-Tyrosin [7] und das aus Milchsaft von *Euphorbia myrsinites* L. isolierte *m*-DL-Tyrosin [8] in 10^{-3} m Lösungen allein oder zusammen mit 10^{-3} m Indol-3-essigsäure (IES) im Avenakoleoptilsegment-Test auf Hemmwirkung geprüft (Tabelle).

Tabelle. Hemmwirkung 10^{-3} molarer Lösungen von potentiellen Phenylalanin-Analogen auf das endogene (-IES) und das durch 10^{-5} m IES (+IES) stimulierte Streckungswachstum von subapikalen Koleoptilsegmenten etiolierter Keimlinge von *Avena sativa*, Svalöfs Siegeshafer, Ernte 1969, nach 24 Std bei 25 °C und partielle bis totale Aufhebung der Analoga-Hemmung durch simultane Zugabe von 10^{-3} m L-Phenylalanin zum Nährmedium (phosphatgepufferte 2proz. Glucoselösung, pH 6,8)

Phenylalanin-Analoge (10^{-3} m)	Hemmung (in % der Kontrolle)		Aufhebung der Hemm. durch L-Phenylalanin (Analogahemmung = -100%)	
	-IES	+IES	-IES	+IES
<i>o</i> -DL-Tyrosin	41	+ 11 ^a	+ 56	Synergismus ^b
<i>m</i> -DL-Tyrosin	64	44	+ 93	+ 126 ^c
<i>p</i> -Fluor-DL-phenylalanin	50	29	+ 54	+ 76

^a *o*-DL-Tyrosin wirkt synergistisch zu IES. — ^b 10^{-3} m L-Phenylalanin verstärkt den Synergismus von *o*-DL-Tyrosin zu IES. — ^c 10^{-3} m Phenylalanin hebt nicht nur die *m*-DL-Tyrosin-Hemmung des IES induzierten Streckungswachstums auf, sondern zeigt darüberhinaus synergistische Effekte zu IES.

Wie das Ergebnis zeigt, übertrifft *m*-DL-Tyrosin *p*-Fluor-DL-phenylalanin nicht nur in seiner Hemmwirkung auf das endogene und das durch Auxin exogen induzierte Streckungswachstum; auch die Kompensation dieser Hemmung durch L-Phenylalanin ist stärker. Da *m*-DL-Tyrosin ein gutes Substrat der auch in Avena-Keimlingen vorkommenden Tyrase ist [9], *m*-Cumarsäure (10^{-3} m) aber ein wirkungsvoller Inhibitor des endogenen wie des IES-induzierten Streckungswachstums darstellt (42- bzw. 25proz. Hemmung [10]), ist es nicht sicher, ob *m*-Tyrosin selbst oder das Desaminierungsprodukt die Hemmungen des Streckungswachstums an Avenakoleoptil-Segmenten hervorruft.

Eingegangen am 6. Oktober 1970

[1] Cleland, R.: Nature 200, 908 (1963). — [2] Cleland, R.: Plant Physiol. 35, 585 (1960). — [3] Norris, W. E.: ibid. 42, 481 (1967). — [4] Norris, W. E.: Arch. Biochem. Biophys. 108, 352 (1964). — [5] Penny, P., Galston, A. W.: Amer. J. Bot. 53, 1 (1966). — [6] Noodén, L. D., Thimann, K. V.: Plant Physiol. 41, 157 (1966). — [7] Volcani, B. E., et al.: J. biol. Chem. 192, 543 (1951). — [8] Mothes, K., et al.: Z. Naturforsch. 19, 1161 (1964). — [9] Neish, A. C.: Phytochemistry 1, 1 (1961). — [10] Fries, K.: Unveröffentlichte Ergebnisse.

Überweibchen aus Sortenkreuzungen bei männlich sterilen Möhren

J. STRAUB*

Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung (Erwin-Baur-Institut), Köln

Die Kombination von Plasma einer Art mit dem Genom oder den Genomen einer anderen Art der gleichen Gattung bzw. mit den Genomen einer fremden Gattung kann zu Veränderungen der Geschlechtsverhältnisse in den Blüten führen [1-3]. Dabei handelt es sich in erster Linie um Verweiblichungen. Unsere Ergebnisse aus Kreuzungen mit der *Kultur-möhre* machen deutlich, daß bereits Unterschiede, die zwischen den Genomen von *Sorten der gleichen Art* bestehen, extrem verschiedene Geschlechtsausprägung in zwittrigen Blüten nach sich ziehen können.

Wir gingen von zwei Möhren-Linien amerikanischer Herkunft aus. Beide waren männlich steril. Die eine bildete nur verkümmerte Antheren aus, die andere trug Petalen an Stelle