

Samen von *Arabidopsis thaliana* wurden 12 Std in Aqua dest. submers eingequollen. Anschließend kamen die in der Tabelle aufgeführten Inhibitoren zur Einwirkung, und zwar zuerst 2 Std allein, dann 3 Std gemeinsam mit dem Mutagen und anschließend noch einmal 2 Std allein. Schließlich wurde 2 Std in Aqua dest. nachgequollen. Der Effekt der Behandlung wurde durch die Bestimmung der relativen Wurzellängenreduktion erfaßt. [Zur Methodik vgl. ³⁾, ⁷⁾.]

Die Respirationsinhibitoren Natriumazid, Kaliumcyanid und Hydroxylamin reduzierten die durch NMH und NÄH bewirkte Wachstumshemmung weitgehend, ohne sie allerdings völlig aufzuheben. Das die oxydative Phosphorylierung entkoppelnde 2,4-Dinitrophenol zeigte einen geringeren, aber im Falle von NÄH doch deutlich nachweisbaren Effekt. Ohne Einfluß blieb die Zusatzbehandlung mit dem Inhibitor der Proteinsynthese, Chloramphenicol (Chloromycetin), und dem als Inhibitor der Purinsynthese bekannten Sulfathiazol. Die radiomimetische Wirksamkeit von N-Nitroso-N-methyl-N'-nitroguanidin konnte dagegen durch keinen der genannten Stoffwechsellinhibitoren vermindert werden.

Die Ergebnisse schließen die Annahme aus, daß NMH und NÄH ihre radiomimetische Wirksamkeit ausschließlich über den hydrolytischen Zerfall zu dem entsprechenden Diazoalkan (als Intermediärprodukt) und weiter zum Carbeniumion entfalten. An der Aktivierung dieser Nitrosamide müssen enzymatische Prozesse beteiligt sein. Für definitive Aussagen über die Natur der radiomimetisch aktiven Agenzien, die in der Zelle aus NMH und NÄH entstehen, fehlt allerdings vorläufig noch die experimentelle Basis [vgl. ⁸⁾, ⁹⁾]. N-Nitroso-N-methyl-N'-nitroguanidin scheint dagegen unter den gegebenen Bedingungen nicht auf eine enzymatische Aktivierung angewiesen zu sein. Da diese Verbindung aber bei physiologischem pH-Wert wesentlich stabiler als NMH ist und doch eine etwa gleich hohe Effektivität zeigt, kann ihre Wirkung erst recht nicht durch den hydrolytischen Zerfall zu Diazomethan erklärt werden.

Die Frequenz rezessiver Letalmutationen wird durch die Inhibitor-Behandlung in ähnlicher Weise beeinflusst wie die Wurzellängenreduktion. Eine ausführliche Darstellung der Ergebnisse wird an anderer Stelle erfolgen.

Institut für Kulturpflanzenforschung der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Gatersleben, Kr. Aschersleben

A. J. MÜLLER

Eingegangen am 11. Januar 1965

¹⁾ MARQUARDT, H., F.-K. ZIMMERMANN u. R. SCHWAIBER: Z. Vererbungslehre 95, 82 (1964). — ²⁾ DRUCKREY, H., S. IVANKOVIC u. R. PREUSSMANN: Naturwissenschaften 51, 144 (1964). — ³⁾ MÜLLER, A. J.: Züchter 34, 102 (1964). — ⁴⁾ VELEMINSKY, J., T. GICHNER, V. POKORNY u. J. SVACHULOVA: Arabidopsis Inform. Serv. 1, 18 (1964). — ⁵⁾ MÜLLER, A. J., unveröff. — ⁶⁾ MÜLLER, A. J., u. T. GICHNER: Nature 201, 1149 (1964). — ⁷⁾ MÜLLER, A. J.: Kulturpflanzen 12, 237 (1964). — ⁸⁾ MAGEE, P. N., u. R. SCHOENTAL: Brit. med. Bull. 20, No. 2, 102 (1964). — ⁹⁾ MICHAELIS, A., J. SCHÖNEICH u. R. RIEGER: Chromosoma (1965, im Druck).

Verlust der Hemmstoffwirkung von Chloramphenicol in Tabakblättern

Chloramphenicol hemmt die Proteinsynthese in wachsenden Pflanzen¹⁾,²⁾ und die Aminosäure-Inkorporation in die Proteine ausgewachsener Blätter³⁾,⁴⁾. Kinetin (6-Furfuryl-

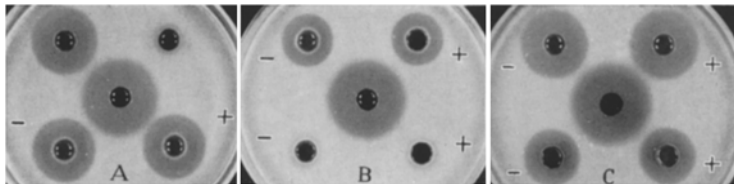


Fig. 1. Antibiotika-Nachweis in mit Wasser (—) oder Kinetin (+) behandelten Blättern durch *B. subtilis*-Test. A und B = Chloramphenicol (0,75 mg/ml/Blatt), C = Streptomycin (1 mg/ml/Blatt) oder Actinomycin (0,2 mg/ml/Blatt). Stunden nach Hemmstoff-Aufnahme: A: oben 3 (links Überstand, rechts Sediment), unten 24 (Überstände); B: oben 48, unten 85 (jeweils Überstände); C: 85 (oben Überstände, unten Sedimente). Die zentralen Hemmhöfe gehören zu den entsprechend verdünnten Ausgangslösungen

aminopurin) vermag Proteinabbau und Vergilbung in mit Chloramphenicol behandelten, mehrere Tage isolierten Tabakblättern aufzuhalten⁵⁾,⁶⁾ und kann die Hemmwirkungen bei Protein- und RNS-Synthesen nahezu kompensieren⁷⁾. Wird der Aminosäure-Einbau jedoch gleichzeitig oder kurze Zeit

nach der Chloramphenicolgabe gemessen, dann ist auch mit Kinetin vorbehandeltes Blattgewebe nicht mehr in der Lage, dem Abfall der Proteinsynthese entgegenzuwirken⁸⁾. Diese zunächst schwer verständlichen Unterschiede in unseren Ergebnissen können wir nun auf eine Inaktivierung des Chloramphenicols in Tabakblättern zurückführen.

Wir verwenden abgeschnittene, ausgewachsene Blätter aus der mittleren Sproßregion von *Nicotiana rustica*, denen die Antibiotikalösungen mit dem Transpirationsstrom appliziert werden⁷⁾. Danach werden die Blätter längs halbiert und mit 40 mg/l Kinetin bzw. Wasser besprüht. Nach bestimmten Zeiten werden Scheiben aus den Interostalfeldern entnommen, homogenisiert, zentrifugiert und ihre Hemmstoffkonzentrationen mit dem *Bacillus-subtilis*-Plattentest nachgewiesen⁸⁾. Parallel dazu wird die Kapazität der Blattscheiben zur Aminosäure-Inkorporation in die Gesamtproteine bestimmt³⁾,⁷⁾.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß Chloramphenicol im Verlaufe der Versuchszeit in den Blättern so verändert wird, daß es seine Wirksamkeit gegen *B. subtilis* vollständig verliert. Nach 3 bis 4 Tagen ist in der Regel keine Antibiotikumwirkung mehr nachweisbar (Fig. 1, A u. B). Diese Inaktivierung des Hemmstoffs ist unabhängig von einer Kinetinbehandlung der Blätter. — Die Proteinsynthese mit Chloramphenicol behandelte Blätter ist bereits nach kurzer Zeit gegenüber den Kontrollen stark gehemmt und sinkt fortlaufend weiter ab. Diesem Abfall der Aminosäure-Inkorporation vermag Kinetinbehandlung der Gewebe zunächst nicht auszugleichen; erst nach einer Zeit, zu der bereits deutlich weniger Hemmstoff im Blatt nachweisbar ist, steigt die Synthesefähigkeit unter dem Kinetineinfluß wieder an.

Unseres Wissens liegt hier der erste Nachweis über den Verlust der biologischen Wirksamkeit von Chloramphenicol in höheren Pflanzen vor. In Keimlingen von *Vicia faba* wird es nicht abgebaut⁹⁾. — Streptomycin und Actinomycin werden in Tabakblättern nicht derartig verändert, daß ihre biologischen Aktivitäten verlorengehen (Fig. 1, C). Während Chloramphenicol-Aktivität nur im 5000 · g-Überstand nachzuweisen ist (A), sind die beiden anderen Antibiotika in Überstand und Sediment vorhanden (C).

Eine ausführlichere Darstellung erfolgt an anderer Stelle.

Botanisches Institut der Universität, Halle a. d. Saale

B. PARTHIER

Eingegangen am 16. Januar 1965

¹⁾ MARGULIES, M. M.: Plant Physiol. 37, 473 (1962). — ²⁾ MOLOTKOVSKY, Y. G., u. A. M. SMIRNOV: Fiziol. Rast. 10, 325 (1963). — ³⁾ PARTHIER, B., B. MALAVIYA u. K. MOTHES: Plant Cell Physiol. (in press). — ⁴⁾ PARTHIER, B.: Nature (in press). — ⁵⁾ MOTHES, K.: Ber. deut. botan. Ges. 74, 24 (1961). — ⁶⁾ KULAJEVA, O. N., u. I. P. VOROBEVA: Fiziol. Rast. 9, 106 (1962). — ⁷⁾ WOLLGIEHN, R., u. B. PARTHIER: Phytochemistry 3, 241 (1964). — ⁸⁾ PRAMER, D.: Ann. Appl. Biol. 40, 617 (1953). — ⁹⁾ CROWDY, S. H., D. GARDNER, J. F. GROVE u. D. PRAMER: J. Exptl. Bot. 6, 371 (1956).

Chemische Unterschiede zwischen Sonnen- und Schattenblättern der Blutbuche (*Fagus sylvatica* L. cv. *Atropunicea*)

Sonnen- und Schattenblätter*) der Blutbuche sind, wie seit langem bekannt¹⁾, anatomisch auffallend verschieden differenziert. Die Vermutung liegt nahe, daß damit auch Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung einhergehen.

Zur Bearbeitung der Frage bestimmten wir quantitativ Stärke-, Kutin-, Rohlipid- (Fette und Lipoide), Asche- und Holocelluloseanteile von Sonnen- und Schattenblättern. Diese stammten von einem freistehenden, veredelten, etwa 80jährigen Baume im Botanischen Garten der T.H. Darmstadt.

Methode. Gewinnung der Lipide aus 10 g der bei 105°C getrockneten und feingepulverten Blätter durch Extraktion mit Benzol/Methanol 1:1²⁾; aus einem Teil des Rückstandes Bestimmung des Kutins nach der Methode von ZETSCHKE und SCHERZ²⁾ (Hydrolyse der Cellulose durch ein Gemisch H₂SO₄-konz./Perhydrol); aus einem weiteren Teil des Rückstandes Bestimmung des Holocellulosegehaltes**) nach JAYME und WISE³⁾ (Oxydation des Lignins mit NaClO₂); Abtrennung der Stärke aus der Holocellulosefraktion nach der Methode nach TAPPI³⁾ (Abbau der Stärke durch Diastase und titrimetrische Bestimmung der Glukose). In einem eigenen Analysengang wurde der Aschengehalt der Trockensubstanz bestimmt.

Die Tabelle zeigt zwischen Sonnen- und Schattenblattmaterial Unterschiede aller analysierten Substanzen. Andere Substanzen (z.B. Proteine) belasten die Ergebnisse nur unwesentlich. Die angegebenen \pm -Zahlen sind die jeweiligen relativen mittleren Fehler der Mittelwerte.

Besonders interessant ist der starke Anteil der Holocellulose beim Schattenblatt. Der Unterschied zum Sonnenblatt ist hoch signifikant (t-Test: $P < 0,001$).

100 g Sonnenblatttrockensubstanz entsprechen etwa 530 Sonnenblättern, 100 g Schattenblatttrockensubstanz etwa 900 Schattenblättern. Schon daran ist zu erkennen, daß das einzelne Sonnenblatt mehr Substanz produziert als das Schattenblatt. Auf Blatteinheiten bezogen (z.B. je 1000 Blätter) liegen die Analysenwerte für Sonnenblätter deshalb insgesamt höher als diejenigen für die Schattenblätter.

Tabelle. Gehalt von Sonnen- und Schattenblättern

Substanz	100 g getrocknete Blätter liefern		1000 Blätter liefern in g	
	So.-Bl.	Sch.-Bl.	So.-Bl.	Sch.-Bl.
Rohlipide . . .	17,7 \pm 0,01 %	13,3 \pm 0,4 %	33,4	14,8
Kutin . . .	1,2 \pm 0,8 %	0,8 \pm 0,7 %	2,3	0,9
Stärke . . .	4,2 \pm 5,0 %	0,8 \pm 8,0 %	7,9	0,9
Holocellulose	26,9 \pm 0,03 %	37,8 \pm 0,7 %	50,8	42,0
Asche . . .	6,2	5,4	11,3	6,0

Bei Berechnung auf Trockensubstanz hat das Sonnenblatt etwa 10% weniger Holocelluloseanteile als das Schattenblatt. Beim Sonnenblatt werden demnach auf Kosten des Holocelluloseanteils mehr Stärke, Kutin und Rohlipide gebildet als beim Schattenblatt.

Ohne Zweifel bewirken die unterschiedlichen mikroklimatischen Umweltbedingungen — zusammen mit dem veränderten physiologischen Zustand der betroffenen Zellen — eine Umsteuerung des Stoffwechsels und damit auch eine unterschiedliche Morphogenese. Der Mechanismus der Umsteuerung freilich bleibt noch unklar.

Weitere Ergebnisse unserer Untersuchungen werden an anderer Stelle publiziert werden.

Für wertvolle methodische Hinweise danken wir Herrn Dr.-Ing. LUDWIG ROTHAMEL, Institut für Cellulosechemie der T.H., Darmstadt.

Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität, Bonn, und Botanisches Institut der Technischen Hochschule, Darmstadt

WALTER KAUSCH und WALTER HAAS

Eingegangen am 19. Januar 1965

* Als Sonnenblätter werden hier allgemein die in vollem Sonnenlicht (Südseite) gewachsenen, als Schattenblätter die nur indirekt beleuchteten Blätter, also z.B. die auf der Nordseite oder im Innern der Krone eines freistehenden Baumes gewachsenen, bezeichnet.

** Holocellulose = Proto- + Ortho- + Hemicellulose. Über den Analysengang wird an anderer Stelle genauer berichtet.

¹⁾ NORDHAUSEN, M.: Ber. deut. botan. Ges. 21, 30 (1903); 30, 483 (1912). — ²⁾ ZETSCHKE, F., u. N.N. SCHERZ: Handbuch der Pflanzenanalyse (Herausgeber G. KLEIN), Bd. III/2, S. 217. 1932. — ³⁾ MERCK AG, Darmstadt: Verfahren nach JAYME und WISE sowie Tappi-Standards T 419m—45, Chemisch-technische Untersuchungsmethoden für die Zellstoff- und Papierfabrikation. Weinheim/Bergstraße: Verlag Chemie 1957.

A New Phase Shift Pattern and its Use in Interpreting some Photoperiodic Phenomena

The effect of high or low temperature treatments of short duration upon photoperiodically induced morphogenesis can usually be explained as manifestations of phase shifts occurring due to these treatments. In a recent communication¹⁾ describing the effect of 3 hours of low temperature (6°) upon the short day induction of tuber formation in *Begonia evansiana* ESASHI et al. reported that in a cycle of 16 h darkness: 8 h light, there occurred two temperature sensitive phases during which low temperature could inhibit the tuber formation maximally. The change-over point from the maximal promotion to the maximal inhibition occurred between the 2nd and the 4th hour and between the 12th and the 15th hour of the dark period, i.e. approximately 12 hours apart. It would be interesting to note that the inhibition due to high temperature treatment of 3 hours duration occurred only once and that the time of maximal inhibition due to high temperature coincided with

the second point of maximal inhibition due to the cold treatment.

In most of the investigations²⁻⁴⁾ on phase shifts, it has been reported that the phases following a disturbance are either delayed or appear earlier depending upon the time at which the disturbing stimulus is given. It has also been shown that there appears a change-over point, also called the instant zero, at which the phase shift pattern suddenly changes from phase delay to phase precocity, or vice versa. In all these reports mentioned above, the point of change-over occurs only once during each cycle.

There has been presented in fig. 1 a case, in which the point of change-over occurs twice within a single cycle. The experiment was conducted upon partially etiolated, 4 day old seedlings of *Carthamus tinctorius*, which produce error actuated feed-back oscillations if they are kept in a horizontal position for 30 minutes and brought back to their normal position. The disturbing stimulus in this case consisted of keeping the oscillating seedlings in an inverted condition for 15 minutes at various times. The graph shows oscillations of the undisturbed control with markings at the appropriate times denoting when the change over from the phase delay to phase precocity occurred. The results represent the average of at least 20 individual readings. The details of the experimental procedure have been described elsewhere^{2b)}. It can be easily noted from fig. 1 that there are two change-over points in a single cycle. The case of a change-over point occurring only once in a cycle has already been reported in the case of *Carthamus tinctorius* oscillations by the present authors²⁾.

This investigation thus shows a possibility of interpreting such evidence as presented by ESASHI¹⁾, whereby it may be assumed that a disturbance in the form of low temperature produces a two peaked phase shift curve while that in the form of high temperature treatment produces only a single peaked phase shift curve.

Botany Dept. of Shivaji University, Kolhapur, India

A.D. KARVÉ and A.S. SALANKI

Eingegangen am 9. Januar 1965

¹⁾ ESASHI, Y., O. KAZUHIRO, and N. MASAYUKI: Plant & Cell Physiol. 5, 1—10 (1964). — ²⁾ KARVÉ, A.D., and A.S. SALANKI: a) Naturwissenschaften 51, 367 (1964); — b) Z. Botan. 52, 113—117 (1964). — ³⁾ ZIMMER, R.: Planta 58, 283—300 (1962). — ⁴⁾ BÜNNING, E.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 98, 901—915 (1962).

Photosynthese der Wüstenflechte *Ramalina maciformis* nach Wasserdampfaufnahme aus dem Luftraum

Flechten trocknen an ihren Standorten oftmals stark aus und gehen in den Zustand latenten Lebens über. Zu ihrer Reaktivierung bedarf es einer Wiederbefeuchtung. An den meisten Wüstenstandorten sind Benetzungen mit tropfbarflüssigem Wasser durch Regen, Tau oder Nebel — mit Ausnahme der Nebelwüsten — selten und kurzzeitig. Trotzdem kann eine reiche Flechtenvegetation auftreten, wie in Teilen des Negev¹⁾. Die Bandflechte *Ramalina maciformis* (DEL.) BORY (Zentral-Negev, Avdat) vermag im trockenen Zustand auch aus Luft mit hohem Wasserdampfdruck so viel Feuchtigkeit aufzunehmen, daß Reaktivierung eintritt und eine erhebliche photosynthetische Leistung erreicht wird²⁾. Für dieses Verhalten der Flechten gibt es außer bei einigen „unbenetzbaren“ Formen³⁾ bisher keine experimentellen Beweise⁴⁾.

Der CO₂-Gaswechsel der Thalli wurde in temperierten Küvetten mit dem URAS gemessen, ihr Wassergehalt auf Trockengewicht bezogen. Die ausgetrockneten Flechten, die keinerlei Gaswechsel erkennen ließen, wurden unter Vermeidung von Kondensation im Dunkeln mit feuchter Luft begast. Das Gewicht nahm durch Wasserdampfaufnahme bis zu einem konstanten Wert zu. Schon bei 15 bis 20% Wassergehalt war bei Belichtung CO₂-Aufnahme nachweisbar (10° C; 10000 Lux,

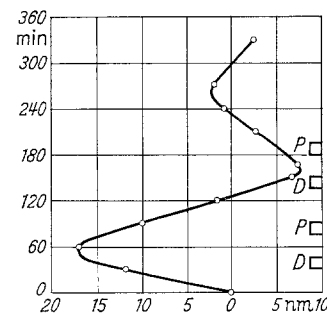


Fig. 1. Geotropically induced oscillations exhibited by *Carthamus tinctorius* seedlings. □ D: time, at which the disturbing stimulus causes a phase delay; □ P: time, at which the disturbing stimulus causes a phase precocity