

tal chromosome aggregation and crowding, induced by the excessive shrinkage which accompanies inadequate fixation.

S. MAKINO and M. ALFERT

Zoological Institute, Hokkaido University, Sapporo, Japan, and Department of Zoology, University of California, Berkeley, Calif., June 2, 1954.

Über den enzymatischen Zuckerumbau in Nektarien¹

Die Zuckersekretion extrafloraler und floraler Nektarien erfährt erst im Verlauf der letzten Jahrzehnte eine befriedigende physiologische Deutung². Sie erfolgt durch eine Stauung des Assimilationsstromes im Moment, da das entsprechende Organ sein Wachstum eben abgeschlossen hat, bei Blättern und Blüten zum Beispiel während oder unmittelbar nach der Entfaltung. Die Nektarien liegen immer an der Basis von Blüten- oder Laubblättern, mit deren Leitbündeln sie durch Phloemstränge verbunden sind³. Mit Hilfe einer ins Phloem eingeführten Pentose, die sich neben den üblichen Zuckern des Nektars papierchromatographisch leicht nachweisen lässt und für die Pflanze nicht giftig wirkt, konnte auch chemisch die Herkunft des Nektars aus den Siebröhren nachgewiesen werden⁴. In den floralen Nektarien von *Robinia Pseudacacia* erfolgt die Ausscheidung einer Transglucosidase⁵, die dem sezernierten Zuckersaft beigemischt wird. Der Phloemsaft enthält nämlich nur Saccharose als einzigen Zucker und zeigt keinerlei Invertaseaktivität⁶; im Moment, da die Sekretion beginnt, setzt jedoch ein Saccharoseabbau ein⁵.

Diese Untersuchungen sind auf die Nektarien von *Euphorbia pulcherrima* ausgedehnt worden. Verfolgt man den Verlauf der Zuckerausscheidung während der gesamten Sekretionsdauer einer einzelnen Honigdrüse, erhält man die in Abbildung 1 dargestellten Kurven. Die Messungen wurden gleichzeitig bei 6 verschiedenen Nektarien durchgeführt und die erhaltenen Werte gemittelt. Die pro Tag ausgeschiedene Zuckermenge steigt bis zu einem Maximum von 1 bis 1,5 mg am fünften Tag an und sinkt dann langsam wieder ab. Nach etwa 20 Tagen wird die Sekretion eingestellt.

Die Nektarausscheidung ist sehr stark von klimatischen und anderen Einflüssen⁷ abhängig. Aus diesem Grunde dürfen wir keinen allzu regelmässigen Verlauf der Kurven erwarten. Trotzdem ist deutlich erkennbar, wie der Saccharosezerfall mit der Zeit langsam ansteigt. Ferner zeigt sich, dass die Invertaseausscheidung regelmässiger verläuft als die Zuckerausscheidung. Nimmt die Zuckerausscheidung beispielsweise aus irgendeinem Grunde rasch zu (zum Beispiel am 20. und 22. Januar), so ist der Saccharosezerfall geringer; wird umgekehrt

plötzlich weniger Zucker ausgeschieden (zum Beispiel am 21. und 27. Januar), so ist der Zerfall grösser. Der Verlauf der Zerfallskurve der Saccharose verhält sich daher spiegelbildlich zu den raschen Änderungen der Zuckerausscheidungskurven. Die Invertaseausscheidung muss

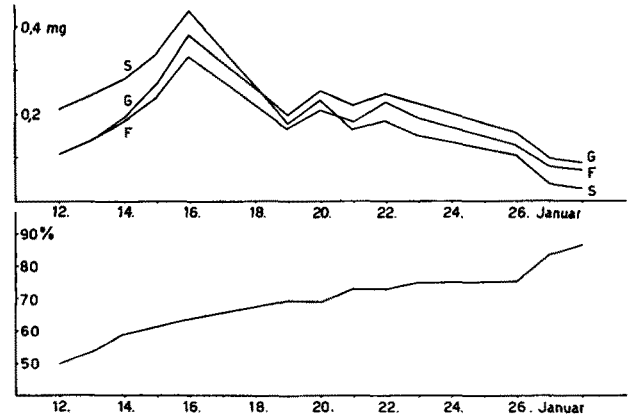


Abb. 1. Oben: Sekretionsverlauf in den Nektarien von *Euphorbia pulcherrima*. Täglich ausgeschiedene Zuckermengen. S = Saccharose + Oligosaccharide (wenig); G = Glucose; F = Fructose. Bestimmung nach SOMOGYI-NELSON¹. Unten: Prozentualer Zerfall der Saccharose, berechnet nach den oben dargestellten Werten von Saccharose und Glucose. Bei einem raschen Anstieg der Sekretion ist der Zerfall relativ kleiner und umgekehrt, was darauf hindeutet, dass die Ausscheidung der Invertase regelmässiger erfolgt als die Sekretion der Zucker.

deshalb weniger raschen Schwankungen unterworfen sein als der Zuckernachschub aus dem Phloem. Dessen Tätigkeit ist von der Wasserversorgung durch das Xylem abhängig² und somit den mannigfaltigsten Umwelteinflüssen (Transpiration, Wurzeldruck usw.) ausgesetzt. Die früher geäusserte Annahme, dass die Invertase im Ausscheidungsprodukt des Sekretionsgewebes mit der Saccharose des Phloemsaftes zusammenkommt³, wird dadurch bestätigt.

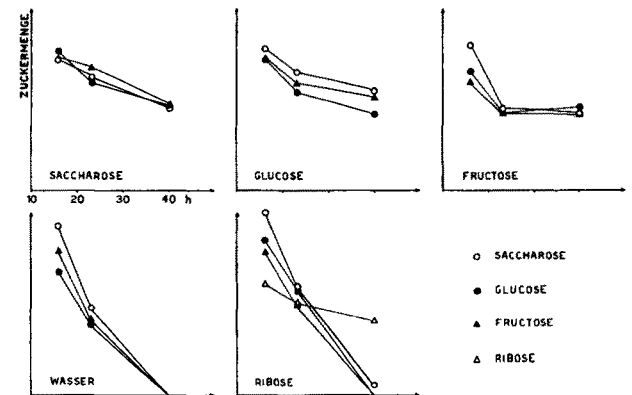


Abb. 2. Ausscheidung von Zuckern durch Nektarien, die auf Wasser und 5%igen Lösungen von Saccharose, Glucose, Fructose und Ribose schwammen. Zuckermenge als Flächenwert aufgetragen. Zu Beginn des Versuchs werden total etwa 20 γ Zucker je Stunde ausgeschieden.

Nach dem Kurvenbild der Abbildung 1 darf man annehmen, dass die ausgeschiedene Invertase bei *Euphorbia pulcherrima* eine Transfructosidase ist, da der Anteil

¹ Die vorliegende Arbeit wurde durch Mittel der Fritz-Hoffmann-La-Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz ermöglicht. Wir danken bestens für die Unterstützung.

² A. FREY-WYSSLING, Ber. schweiz. bot. Ges. 42, 109 (1933). – G. P. WOLFF, Bot. Arch. 8, 305 (1924).

³ C. AGTHE, Ber. schweiz. bot. Ges. 61, 240 (1951). – E. FREI, Diplomarbeit ETH, Zürich 1952. – A. FREY-WYSSLING und C. AGTHE, Verh. schweiz. naturf. Ges. 1950, 175.

⁴ M. ZIMMERMANN, Ber. schweiz. bot. Ges. 63, 402 (1953).

⁵ M. ZIMMERMANN, Exper. 10, 145 (1954).

⁶ H. WANNER, Ber. schweiz. bot. Ges. 63, 162, 201 (1953).

⁷ R. W. SHUEL, Plant Physiol. 27, 95 (1952). – R. BEUTLER, Bee World 34, 106, 128, 156 (1953). J. BOETIUS, Beih. schweiz. Bienenz. 2, H. 17, 257 (1948); siehe auch die dort zitierte Literatur.

¹ N. NELSON, J. Biol. Chem. 153, 375 (1944). – M. SOMOGYI, J. Biol. Chem. 160, 61 (1945).

² C. CZARNOWSKI, Arch. Geflügelzucht und Kleintierk. 1952, H. 1.

³ M. ZIMMERMANN, Exper. 10, 145 (1954).

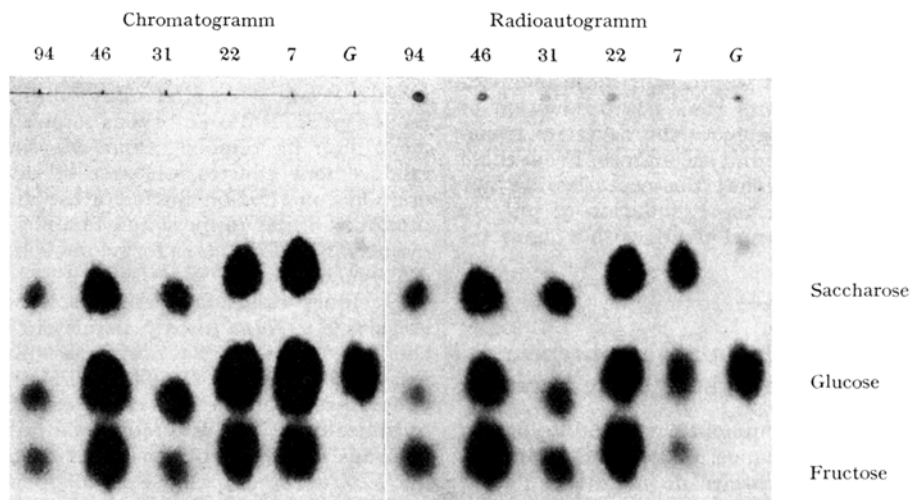


Abb. 3. Nektar eines abgeschnittenen und auf 5% C^{14} -Glucose schwimmenden Nektariums 7, 22, 31, 46 und 94 h nach dem Auflegen. G = Glucoselösung (Unterlage) am Schluss des Versuchs. Links: Chromatogramm, entwickelt mit Anilin-Oxalsäure¹. Rechts: Radioautographie des selben Chromatogramms.

an freier Glucose während des ganzen Sekretionsverlaufes grösser ist als jener von Fructose. Tatsächlich sind auf den Chromatogrammen Flecken über der Saccharose sichtbar, die vermutlich durch die Anlagerung von Fructose an Saccharose gebildete Oligosaccharide vorstellen. Ihre Menge ist jedoch sehr klein.

Lässt man abgeschnittene Nektarien von *Euphorbia pulcherrima* auf Zuckerlösungen oder Wasser schwimmen, so sezernieren sie einige Zeit weiter. Nach AGTHE² und WYKES³ gleicht sich bei solchen Versuchen die Konzentration des Nektars im Verlaufe von 18 bis 20 h dem Zuckergehalte der Unterlage an. Die Papierchromatographie zeigt nun, dass eine Zuckelumwandlung stattfindet, indem unabhängig davon, ob die Nektarien auf einer 5%-Saccharose-, einer 5%-Glucose- oder einer 5%-Fructoselösung schwimmen, immer alle drei Zucker ausgeschieden werden (Abb. 2). Im Falle der Saccharose ist dies verständlich, da ja mit dem Zucker Invertase ausgeschieden wird. Bei Glucose oder Fructose als Unterlage muss im Nektarium jedoch eine teilweise Umwandlung dieser Hexosen und eine Saccharosesynthese stattfinden. Lässt man nämlich die Nektarien auf Wasser schwimmen, so ist ihr Zuckervorrat nach 40 h erschöpft (Abb. 2), während bei Schwimmversuchen auf Glucose oder Fructose nach 40 h immer noch ansehnliche Zuckermengen ausgeschieden werden. Die sezernierte Menge ist für alle drei Zuckerarten von der gleichen Grössenordnung; meist liegt etwas mehr Saccharose vor, während von den beiden Hexosen bald die eine, bald die andere etwas überwiegt. Es scheint sich unabhängig vom offerierten Zucker im Sekretionsgewebe ein Gleichgewicht zwischen Saccharose, Glucose und Fructose einzustellen.

Eine Umwandlung von Pentosen in Hexosen durch das Nektarium scheint nicht möglich zu sein. Denn wählt man als Unterlage Ribose, so sinkt die Ausscheidung der nektareigenen Zucker wie bei den Schwimmversuchen auf Wasser in 40 h auf Null ab, während sich eine nachhaltige Riboseseekretion einstellt (Abb. 2). Die Ribose passiert also das Nektarium unverändert. Analoge Ergebnisse wurden mit Arabinose erhalten.

Um einwandfrei zu beweisen, dass das Sekretionsgewebe imstande ist, die drei Zucker Glucose, Fructose und Saccharose ineinander überzuführen, liessen wir die Nektarien auf einer 5%-Lösung von C^{14} -Glucose¹ schwimmen. Die Sekretion verlief normal, und es konnte 7, 22, 31, 46 und 94 h nach dem Auflegen der Honigdrüsen auf die Radiozucker-Lösung Nektar abgenommen werden. Das erhaltene Chromatogramm wurde dann radiographiert. In Abbildung 3 ist links das Chromatogramm und rechts dessen Radiogramm wiedergegeben. Es wird nicht nur radioaktive Glucose ausgeschieden, sondern von Anbeginn an erscheinen etwa gleiche Mengen Radiofructose und Radiosaccharose. Die Zuckerlösung der ersten Abnahme nach 7 h ist noch wenig radioaktiv, das heisst, die Zucker stammen zum grössten Teil aus der Pflanze selbst. Später werden fast nur noch radioaktive Zucker sezerniert, die also von der angebotenen C^{14} -Glucose herrühren.

Im Chromatogramm wurde ganz links am Schluss des Versuches zur Kontrolle von der Glucoselösung aufgetragen, auf der die Nektarien geschwommen waren; es scheint, dass etwas Radiosaccharose aus den Schnittwunden zurück in die Lösung diffundiert ist.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Nektarsekretion keineswegs ein so einfacher Vorgang ist, wie häufig angenommen wird. Die eingangs erwähnte physiologische Deutung der Nektarausscheidung wird vielfach als Saftventiltheorie bezeichnet. Dies erweckt die Vorstellung, dass Phloemsaft passiv durch das Nektargewebe hindurchfiltriert. Wie die vorliegende Studie zeigt, ist dies jedoch keineswegs der Fall. Denn das Sekretionsgewebe mischt dem Zuckersaft Enzyme, im vorliegenden Falle Invertase bei und vermag angebotene Glucose in Fructose und Saccharose überzuführen. Die Nektarien sind daher nicht nur Ventile, sondern echte Drüsen mit einem eigenständigen aktiven Stoffwechsel.

A. FREY-WYSSLING, M. ZIMMERMANN²
und A. MAURIZIO

Institut für allgemeine Botanik der Eidg. Technischen Hochschule Zürich und Bienenabteilung der Eidg. Versuchsanstalt Liebefeld, Bern, den 29. Juli 1954.

¹ S. M. PARTRIDGE, Biochem. Soc. Symp. 1951, Nr. 3, 52.

² C. AGTHE, Ber. schweiz. bot. Ges. 61, 240 (1951).

³ G. R. WYKES, The New Phytologist 51, 294 (1952).

¹ Nuclear Instrument & Chemical Corp., Chicago, Ill., U.S.A.

² Present address: Harvard University, Cabot Foundation, Petersham, Mass., U.S.A.

Summary

The nectaries of *Euphorbia pulcherrima* secrete small quantities of invertase. This secretion is more independent of environmental factors than the production of sugar sap. Floating on C¹⁴-glucose the nectaries transform this sugar into fructose and saccharose. From these statements it is concluded that the nectaries are not merely valvelike organs for the exudation of phloem sap, but that they represent real glands with a characteristic active metabolism.

Constitution anormale du noyau et teneur en acide adénosine-triphosphorique de la cellule

Nous avons montré récemment¹ que l'ablation du noyau produit à brève échéance, chez l'amibe, une diminution marquée de la capacité de maintenir l'acide adénosinetriphosphorique (ATP) sous sa forme phosphorylée en anaérobiose: en effet, après 16 h d'anaérobiose, les fragments nucléés conservent 82% de la teneur initiale en ATP, alors que cette teneur s'abaisse à 31% dans le cas des moitiés anucléées.

Il convenait de rechercher si cette anomalie biochimique consécutive à l'enlèvement du noyau a une signification générale ou s'il ne s'agit que d'un cas fortuit: des observations de BARTH et JAEGER² montrant que, chez des hybrides létaux interspécifiques de grenouille, la capacité de maintenir l'ATP sous sa forme phosphorylée en anaérobiose est également diminuée, plaident en faveur de la première alternative.

Nous avons repris la question, avec les mêmes techniques que chez l'amibe¹, sur les embryons létaux qu'on obtient en fécondant des œufs de grenouille (*Rana fusca*) avec du sperme ypérité; ces embryons ont fait récemment l'objet d'une étude détaillée au point de vue cyto-logique et cytochimique et leur métabolisme (consommation d'oxygène, incorporation de phosphate et de glyocolle radioactifs, synthèse de l'acide désoxyribonucléique) commence à être bien connu (BRACHET³).

Le tableau I donne, exprimés en γ d'ATP/10 embryons, les résultats obtenus en présence d'air (moyenne de 6 expériences différentes, effectuées en double).

Tableau I

Témoins		Œufs fécondés par du sperme ypérité	
Stade	Teneur en ATP	Stade	Teneur en ATP
Blastulas	3,6	Blastulas	3,6
Gastrulas	6,4	Blastulas bloquées	6,4
Neurulas	6,1	Blastulas bloquées	9,0

On remarquera qu'il se produit, dans les embryons létaux, une accumulation aérobie d'ATP au moment où le développement se bloque: tout se passe donc comme si ces embryons étaient incapables d'utiliser l'ATP pour leurs synthèses.

En anaérobiose, dans 6 expériences d'une durée de 17 h à 20°, nous avons observé une chute de 62% de la teneur en ATP, tant chez les témoins que les létaux; mais si on réduit la durée de l'anaérobiose à 8 h, de

façon à ne produire qu'un retard modéré du développement des embryons témoins, une nette différence apparaît entre les deux lots: 6 expériences, effectuées en double, donnent en effet une diminution de 60% de la teneur en ATP des embryons létaux contre 37% seulement pour les témoins. Pour des durées d'anaérobiose relativement courtes, on observe donc, chez les œufs dont la constitution nucléaire est anormale, une forte diminution, par rapport aux témoins, de la capacité de maintenir l'ATP sous sa forme phosphorylée en l'absence d'oxygène.

Quelques essais faits sur des hybrides létaux *Bufo vulgaris* ♀ × *Rana fusca* ♂, paraissent confirmer ces conclusions: chez cet hybride, la durée d'anaérobiose essayée (16 h à 12°) était trop brève pour produire une chute mesurable de la teneur en ATP, tant chez les hybrides que chez les témoins. Ce fait doit être rapproché sans doute des observations de SPIRITO¹ montrant que les œufs de crapaud se développent beaucoup mieux en anaérobiose que ceux de la grenouille. Mais, en aérobie, ces hybrides létaux *Bufo* ♀ × *Rana* ♂ présentent à nouveau une teneur exagérée en ATP, comme le montre le tableau II:

Tableau II

Témoins		Hybrides létaux	
Stade	γ ATP/10 œufs	Stade	γ ATP/10 œufs
Morulas	1,2	Morulas	1,8
Gastrulas	1,0	Blastulas	1,5
Jeunes gastrulas	0,9	Blastulas	1,5

Il semble donc que les anomalies de la constitution du noyau conduisent, chez les hybrides et les œufs fécondés par du sperme ypérité, à une accumulation aérobie de l'ATP, qui serait mal utilisé; on note, au contraire, une utilisation exagérée de l'ATP en anaérobiose. Ce double effet s'explique aisément si on admet que, comme l'ont montré HOGBOOM et SCHNEIDER² dans le foie, la synthèse de la co-déshydrogénase I (DPN) aux dépens de l'ATP se produit dans le noyau. Une altération de ce dernier entraverait la synthèse du DPN; il en résulterait à la fois une décroissance de l'utilisation aérobie de l'ATP et une diminution de la glycolyse anaérobie, nécessaire au maintien de l'ATP en l'absence d'air.

J. BRACHET

Laboratoire de morphologie animale, Université de Bruxelles, le 2 juillet 1954.

Summary

In frogs' eggs fertilized with nitrogen mustard treated sperm, there is an aerobic accumulation of ATP when development stops; in anaerobiosis, the capacity to maintain ATP in the phosphorylated condition is decreased in the lethal embryos. The results are compatible with HOGBOOM and SCHNEIDER's finding that synthesis of glycolytic co-enzymes (DPN) occurs in the nucleus.

¹ A. SPIRITO, Arch. Sci. biol. 23, 185 (1937).

² G. H. HOGBOOM et W. C. SCHNEIDER, J. biol. Chem. 197, 611 (1952).

¹ J. BRACHET, Nature 173, 725 (1954).

² L. G. BARTH et L. JAEGER, Physiol. Zool. 20, 133 (1947).

³ J. BRACHET, Arch. Biol. 65, 1 (1954).