

Untersuchungen zur Verbreitung von Indolglucosinolaten in höheren Pflanzen: *Moringa oleifera* Lam.

Im Rahmen einer systematischen Untersuchung der Verbreitung von Indolglucosinolaten (Glucobrassicin, Neoglucobrassicin), zeigte sich, dass die Präsenz dieser Senfölglycoside als charakteristisch für folgende Familien der Rhoadales (sensu Wettstein) angesehen werden kann: Cruciferae, Resedaceae, Capparidaceae und Tovariaceae^{1,2}. Beide Verbindungen stellen in allen bislang untersuchten Arten der genannten Familien, speziell in Keimlingen, das Hauptglucosinolat dar, und in diesen werden aus ihren Vorstufen Tryptophan bzw. Indol mit hoher Umsetzungsrate gebildet^{3,4}. Da speziell Indolglucosinolate in anderen, gleichfalls Senfölglycoside führenden Familien (Tropaeolaceae, Caricaceae) nicht nachgewiesen werden konnten¹, kann angenommen werden, dass es sich bei diesen Verbindungen um eine für den Verwandtschaftskreis der Capparidinae charakteristische Stoffgruppe handelt.

Da die taxonomische Stellung der Moringaceae, die nicht zuletzt wegen ihres Senfölglycosid- und Myrosinasevorkommens den Rhoadales zugeordnet werden, immer wieder umstritten ist⁵, schien es uns von Interesse, Vertreter

auch dieser Familie auf ein Indolglucosinolatvorkommen zu überprüfen.

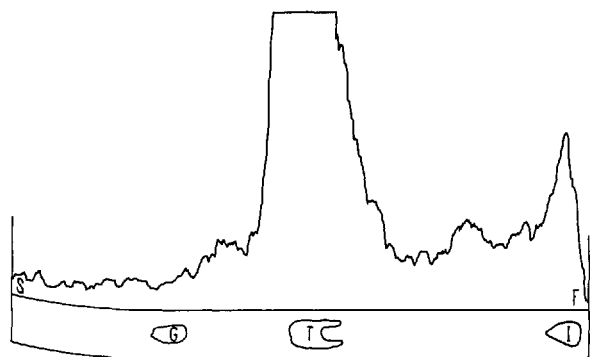
Sowohl nach Fütterung von C¹⁴-D,L-Tryptophan, wie auch nach Applikation hoher Aktivitäten von C¹⁴-Indol beziehungsweise S³⁵-Sulfat am Spross 8 Tage alter, etiolierter Keimlinge von *Moringa oleifera* ist eine Markierung weder im Bereich von Glucobrassicin noch von Neoglucobrassicin nachweisbar. Negativ sind auch alle Farbreaktionen auf Indolglucosinolate in Extrakten unbehandelter und mit Vorstufen gefütterter Sprosse (Figur). Ein Vorkommen dieser Glucosinolate in Keimlingen von *Moringa oleifera* kann demnach mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden. Tryptophansynthetase und Sulfat reduzierendes Enzymsystem sind dagegen in dieser Species in hoher Aktivität vorhanden, ebenso indolfreie Glucosinolate und Myrosinase.

Durch das Fehlen der Indolverbindungen nimmt zumindest diese Species innerhalb der Gruppe der Capparidinae eine Sonderstellung ein. Wenn dieses biochemische Merkmal für eine taxonomische Abgrenzung der Moringaceae von anderen Familien der Rhoadales nicht ausreicht, muss es bei der Eingruppierung dieser Familie doch Berücksichtigung finden⁶.

Summary. *Moringa oleifera* (Moringaceae, Rhoadales) does not synthesize indolglucosinolates. This is in contrast to all other mustard oil-containing families of the Rhoadales (sensu Wettstein). Experimental proof was provided by the application of C¹⁴-indole, C¹⁴-tryptophan, and S³⁵-sulphate. This lack of ability to synthesize glucobrassicin or neoglucobrassicin may be of taxonomic importance.

H. SCHRAUDOLF

Botanisches Institut der Universität, Giessen
(Deutschland), 3. Oktober 1966.



Papierchromatographische Verteilung der Radioaktivität des Methanol-extrakts aus *Moringa*-Keimlingen, gefüttert mit Indol-2-C¹⁴. Umsetzungszeit 96 h. Lösungsmittel Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:2). Vergleichssubstanzen G = Glucobrassicin, T = Tryptophan, I = Indol.

- ¹ H. SCHRAUDOLF, *Experientia* 21, 520 (1965).
- ² M. KUTACEK, *Fiziologiya Rast.* 11, 867 (1964).
- ³ H. SCHRAUDOLF, *Phytochemistry* 5, 83 (1966).
- ⁴ H. SCHRAUDOLF und F. BERGMANN, *Planta* 67, 75 (1965).
- ⁵ F. PAX, in *Die natürlichen Pflanzenfamilien* (Ed. A. ENGLER und K. PRANTL; Dunker und Humblot, Berlin 1936), Band 17b, p. 696.
- ⁶ Die Untersuchung wurde unterstützt durch das Ministerium für wissenschaftliche Forschung. Herrn Dr. C. D. ADAMS danke ich für Überlassung des Samenmaterials.

Immunofluorescent and Immunophoretic Data on Antigenic Properties of *Candida albicans*

Application of antibiotic therapy on a large scale in everyday practice rendered the question of scrutinizing antigenic properties of *Candida albicans* more and more pressing and important. Recently, extensive research work has been done in this field. Substantial progress was made in separating the polysaccharides, protein and lipoprotein fractions of *C. albicans* by means of electrophoresis and immunoelectrophoresis^{1,2}.

Authors are at variance in determining the number of precipitations in the immunogram^{1,2} and the intensity as well as the degree of immune response concerning *C. albicans*. Further research work detected that, in the wall of the cellular membrane of *C. albicans*, 2 antigen groups

are extant, both of them thermostable polysaccharides³ which contain considerable quantities of mannose as structural constituents⁴.

Materials and methods. To obtain antiserum, a culture of *C. albicans* was prepared in 3 ways after PROOM's method⁵: (1) A culture of the density of 10⁷ cells/ml,

- ¹ J. BIGUET, R. HAVEZ, TRAN VAN KY, and R. DEGAEV, *Annls Inst. Pasteur, Paris* 100, 13 (1961).
- ² T. TSUCHIYA, Y. FUKAZAWA, and S. KAWAKITA, *Mycopath. Mycol. appl.* 10, 190 (1959).
- ³ F. C. STALLYBRASS, *J. Path. Bact.* 90, 205 (1965); 87, 89 (1964).
- ⁴ P. F. SUMMERS, A. P. GROLLMAN, and H. F. HASENCLEVER, *J. Immun.* 92, 491 (1964).
- ⁵ R. PROOM, *J. Path. Bact.* 55, 419 (1943).

heated to 80°C for 60 min; (2) a culture of the density of 10^6 living cells/ml; (3) a culture of the density of 12 million living cells/ml. Rabbits were injected i.m. twice, at 5-day intervals, with 5 ml of culture (1), 2 ml of culture (2), and 5 ml of culture (3) respectively, all of them in the hind legs.

Antiserum so obtained was conjugated with fluorescein-isothiocyanate after the method proposed by MARSHALL et al.⁶, then purified after the method of GORDON et al.⁷ and COONS et al.⁸.

C. albicans antigen for immunoelectrophoresis was prepared from 0.025 g of a 48 h culture in blood agar. Im-

munograms were obtained after the method of GRABAR⁹. Rabbits were inoculated once only with 0.5 ml/kg of a culture containing 10^9 cells/ml. Animals died within 15–24 h after inoculation. Cryostat sections were prepared from the kidneys, liver, spleen, and lungs¹⁰ for immunofluorescent assay.

Results and Discussion. 4 precipitations were ascertained: (a) in the zone of albumins, (b) in the zone of α_1 - α_2 -globulins, (c) in the zone of α_2 - β_1 -globulins, and (d) from the zone of albumins to that of γ_1 -macroglobulins (Figure 1).

By means of Schiff's reagent, an intense staining of the precipitate situated in the zone from the albumins to that of γ_1 M-globulins was obtained. This precipitate occupies the most space in the immunogram. The fact that no small part of it is intensely Schiff positive, and that the whole precipitate is stained with amido black, seems a good reason for presuming that the antigen is a mixture of molecules with equal antigen determinant groups, though with relatively different physicochemical properties. The central part stains most intensely with Schiff's reagent. To a certain extent, one can connect this fact with the nature of the antigen which is constituted chiefly of polysaccharides, on the one hand, and with its specificity, on the other hand. The α_1 - α_2 -precipitate too stains intensely with amido black. This is indicative of its specificity. The other 2 precipitates are by far less intense. Findings gathered from immunoelectrophoresis do not agree with those published by these authors^{1,2}. Most likely, the various methods of immunization account for the discrepancies.

Candida cells, chlamydospores, mycelia, and pseudomycelia were established in kidneys, liver, spleen, and lungs, in the lumen of blood vessels and renal tubules, in glomerules, and in the interstitial tissue. All parts of *Candida* cells fluoresced. Here and there, a more intense fluorescence of cellular membrane was remarked in comparison with that of central cytoplasmatic and nuclear portions. Pseudomycelia and mycelia fluoresced less intensely in comparison with *Candida* cells (Figures 2 and 3).

At the present stage of research by means of immunofluorescent observations, we may venture the assertion that antigenic properties of *C. albicans* are best clear-cut in the cellular membrane where fluorescence is also most strongly marked.

Zusammenfassung. Mit Immunelektrophorese erhaltene 4 Präzipitate der Zonen Albumin bis γ_1 M-Globulin, legen die Annahme der Spezifität der Elemente nahe. Die Immunofluoreszenz ist in der Zellmembran am ausgeprägtesten.

K. BERCHEV and I. IZMIROV

Central Histochemical and Cytochemical Laboratories of the Sofia Higher Institute of Medicine, Sofia (Bulgaria), July 1, 1966.

⁶ J. D. MARSHALL, W. C. EVELAND, and W. SMITH, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 98, 898 (1958).

⁷ M. A. GORDON, N. R. EDWARDS, and V. N. TOMPKINS, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 109, 96 (1962).

⁸ A. H. COONS, E. LEDUC, and J. W. CONOLLY, *J. exp. Med.* 102, 49 (1955).

⁹ P. GRABAR and P. BOURTEN, *Immunoelectrophoretic Analysis* (Russian translation, Moscow 1963).

¹⁰ A. G. E. PEARSE, *Histochemistry - Theoretical and Applied* (second Edition, London 1960).

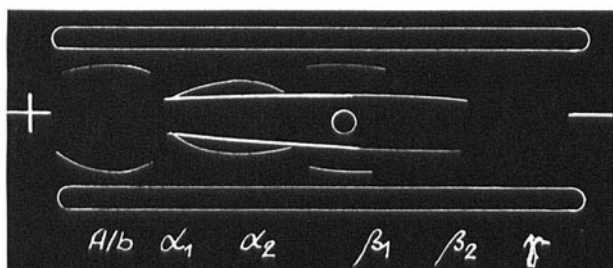


Fig. 1

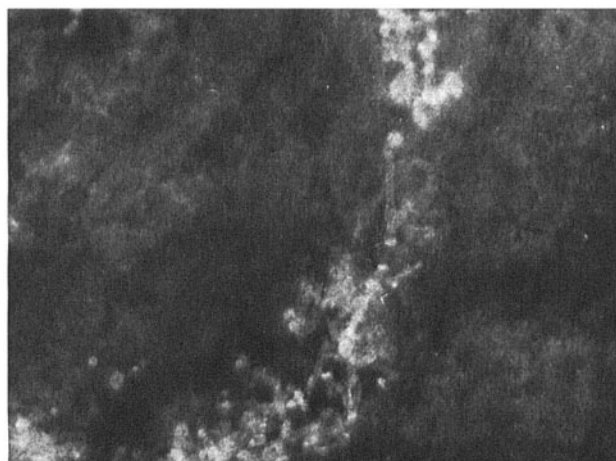


Fig. 2



Fig. 3