

## Fehlen der Ascorbinsäure in *Rhodospirillum rubrum*

Ascorbinsäure wurde bisher in allen grünen Pflanzen gefunden. Möglicherweise kommt dem Redoxsystem Ascorbinsäure/Dehydroascorbinsäure in diesen Organismen eine regulatorische Funktion zu<sup>1</sup>. Die Morphogenese der Thylakoide (Chromatophoren) von *Rhodospirillum rubrum* kann in Dunkelkulturen während der logarithmischen Wachstumsphase durch Absenken des Sauerstoffpartialdruckes induziert werden<sup>2</sup>. Es wäre denkbar, dass an diesem Regulationsprozess ein Redoxsystem der Zelle beteiligt ist<sup>3</sup>. Es war deshalb von Interesse, zu untersuchen, ob Ascorbinsäure in diesem potentiell phototrophen Bakterium nachweisbar ist. Die Untersuchungen wurden mit aeroben (thylakoidfreien), semiaeroben (thylakoidhaltigen) Kulturen und an anaeroben (thylakoidhaltigen) Lichtkulturen durchgeführt.

Die Bakterien wurden vor dem Ende der logarithmischen Wachstumsphase geerntet, mit einer eiskalten Mischung von Methanol und wässriger Metaphosphorsäure versetzt, durch Ultraschall unter N<sub>2</sub> homogenisiert und nach Zentrifugation (0°C, 20000 g) im Überstand die Reduktion von 2,6-Dichlorphenolindophenol gemessen (pH 2,5; 578 nm)<sup>1</sup>. Extrakte aus Zellen mit Thylakoiden reduzierten unter diesen Bedingungen etwa doppelt so stark wie Zellen ohne Thylakoide aus aeroben Kulturen.

Da diese Methode jedoch nicht völlig spezifisch für Ascorbinsäure ist, wurde versucht, die Ascorbinsäure chromatographisch zu identifizieren. Der Zellextrakt wurde durch absteigende Papierchromatographie mit dem Laufmittel *n*-Butanol-Eisessig-H<sub>2</sub>O (4:1:5) aufgetrennt und die Ascorbinsäure auf dem Chromatogramm durch sofortiges Entfärben einer äthanolischen Lösung von 2,6-Dichlorphenolindophenol nachgewiesen<sup>4</sup>. Jedoch liess sich im Bakterienextrakt keine der Testsubstanz Ascorbinsäure entsprechende Verbindung nachweisen.

Zur Sicherung wurde noch ein chemischer Nachweis durchgeführt<sup>5</sup>. Der Bakterienextrakt wurde mit Brom zur Oxydation der Ascorbinsäure behandelt. Unter sauren Bedingungen wird dabei der Lactonring geöffnet und mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin das orangefarbene Osazon der Diketogulonsäure gebildet. Dieses wurde mit Äthylacetat extrahiert und mit Hilfe einer Kieselgelsäule von den Osazonen anderer Zucker abgetrennt. Die endgültige

Identifizierung des Osazons wurde über Dünnschicht- oder Papierchromatographie erreicht.

Mit dieser Methode konnten zwar die in Senfkeimlingen unter verschiedenen Lichtprogrammen (Dauerdunkel oder Dunkelrot)<sup>1</sup> nachgewiesenen Ascorbinsäuremengen quantitativ (Fehler < ± 10%) bestimmt werden. Bei Zellen von *R. rubrum* verliefen jedoch alle Nachweisversuche negativ, ganz gleich, unter welchen Bedingungen sie angezogen wurden.

Die papierchromatographische Methode weist spezifisch Ascorbinsäure nach, während bei dem chemischen Nachweis auch Dehydroascorbinsäure und Diketogulonsäure miterfasst werden. Da Versuche mit beiden Methoden in jedem Fall negativ verliefen, muss man daraus schliessen, dass *R. rubrum* weder in aeroben und semiaeroben Kulturen noch in anaeroben Lichtkulturen dazu fähig ist, Ascorbinsäure oder ihre unmittelbaren Vorstufen zu synthetisieren. Die Resultate der photometrischen Methode widersprechen diesem Ergebnis nicht, da die Reduktion von 2,6-Dichlorphenolindophenol auch durch andere Substanzen verursacht werden kann.

**Summary.** Cells of *Rhodospirillum rubrum* were cultured aerobically or semiaerobically in the dark and anaerobically in the light. The investigation of acid extracts of these cells showed, that this bacterium contained no ascorbic acid under all conditions of cultivation.

J. SCHRÖDER

Botanisches Institut, Lehrstuhl für Mikrobiologie der Universität, 78 Freiburg i.Br. (Deutschland), 14. Juli 1967.

<sup>1</sup> P. SCHOPFER, *Planta* 69, 158 (1966); *Planta* 74, 210 (1967).

<sup>2</sup> M. BIEDERMANN, G. DREWS, R. MARX und J. SCHRÖDER, *Arch. Mikrobiol.* 56, 133 (1967).

<sup>3</sup> G. COHEN-BAZIRE, W. R. SISTROM und R. Y. STANIER, *J. cell. comp. Physiol.* 49, 25 (1957).

<sup>4</sup> L. W. MAPSON und S. M. PARTRIDGE, *Nature* 164, 479 (1949).

<sup>5</sup> M. FREED, *Methods of Vitamin Assay*, 3rd edn (Interscience Publishers, New York, London, Sydney 1966), p. 332.

## Mechanical Properties of the Radula Protractor of *Busycon canaliculatum*

Cardiac muscle of the prosobranch gastropod *Busycon* (*Busycotypus*) *canaliculatum* Linné 1758, has been shown to possess those properties in its contractility cycle<sup>1</sup> and its length-tension diagram<sup>2</sup> which one might expect to be typical of heart muscle as contrasted to skeletal muscle or smooth muscle. It is possible to compare cardiac muscle of *Busycon* directly with phasic muscle of the same animal, since the buccal mass of gastropods contains 'voluntary'<sup>3</sup> musculature.

Isolated radula protractors of *B. canaliculatum* were maintained at 15°C in a jacketed bath of artificial sea water aerated by a slow stream of air bubbles (Figure 1). Isometric tension was picked up on a Statham strain gauge and recorded on a Grass polygraph while the muscle was stretched by lowering the bath in 1 mm increments on a Palmer screw stand. A standardized method was adopted for measuring active tension at each length in which the muscle was first caused to twitch by

a 40 volt, 5 msec pulse from a Grass stimulator, allowed to rest 4 sec, tetanized at 6 pulses/sec, allowed to rest 4 sec again, and then caused to twitch once more. Nine muscles were used in all.

The results are displayed as a length-tension diagram in Figure 2. Active tetanic tension has a peak at about the length at which passive tension begins to rise steeply with further elongation (55 mm for this muscle). There is then a sharp drop in active tetanic tension as passive tension continues to increase. Attention is drawn to the twitch tension curve as well as the tetanic tension curve, since the object of this paper is to contrast the properties

<sup>1</sup> R. B. HILL, *Experientia* 23, 570 (1967).

<sup>2</sup> R. B. HILL, *Experientia* 23, 772 (1967).

<sup>3</sup> H. LACAZE-DUTHIERS, *Arch. Zool. exp. gén.* (3) 6, 331 (1898).