

resulted in approximately 80% inhibition of Na absorption. The uptake of Na by bean stem tissue appears to be mediated by metabolic processes.

The possibility of a sodium-specific transport mechanism was tested. Since the whole stem reflects the absorption characteristics of the xylary tissue, whole stem tissue was used in this experiment.

Figure 2 illustrates the results of an experiment on the effect of K on Na absorption by bean stem tissue. The concentration of Na varied from 0.01–0.2 mM in the presence or absence of 0.2 mM K. The presence of 0.2 mM KCl resulted in no depression of Na absorption by stem tissue. This is quite different from what is observed with other plant tissues¹². In root tissue, for instance, K interferes greatly with Na absorption^{13,14}.

The above results seem to support the contention of BERNSTEIN et al.⁶ that the regulation of Na translocation is mediated by cells closely associated with the xylem tissue. These authors suggested that these cells are capable of removing Na from the transpiration stream, thereby diminishing the transport of Na to the tops. The results shown in Figure 2 indicate that the mechanism for

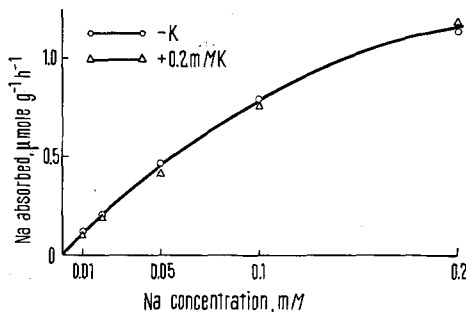


Fig. 2. The rate of Na absorption by stem tissue of bean as a function of increasing Na concentration in the presence and absence of 0.2 mM K. Sodium concentration varied from 0.01–0.2 mM. Ca, 0.5 mM. Absorption time 1 h.

Na transport is quite selective, at least in the range of concentrations used in these experiments. Also the data might reflect an absorption mechanism which appears to saturate at fairly low concentrations, as proposed by JACOBY^{3,4} but the quantitative aspects of this will have to await further investigation.

The data presented do not gainsay the importance of roots in the regulation of Na distribution, and as PEARSON⁵ suggested, both roots and stems are probably involved in the regulation of Na in Na-non-accumulator plants such as beans. The information presented here does suggest that a metabolically mediated specific mechanism for the regulation of Na translocation is located in the bean stems and is closely associated with xylary tissue. The lack of such a mechanism in cotton plants is to be expected since these plants readily translocate Na as well as K¹⁵.

Zusammenfassung. Stengelgewebe von *Phaseolus* und *Gossypium* wurden in einen extrakambialen Teil (Phloem, Rinde und Epidermis) und in einen Xylemteil (Xylem und Mark) getrennt. Die Aufnahme von K und Na in diese Gewebe ist bei *Gossypium* sehr gering, ebenfalls die K-Aufnahme bei *Phaseolus* wegen des Na-Aufnahme-Vermögens der Xylemgewebe wesentlich höher. Die Na-Aufnahme wird durch K nicht beeinflusst und verläuft metabolisch.

D. W. RAINS

Kearney Foundation of Soil Science, University of California, Davis (California 95616, USA),
30 August 1968.

¹² E. EPSTEIN, *Nature* 212, 132 (1966).

¹³ D. W. RAINS and E. EPSTEIN, *Science* 148, 1611 (1965).

¹⁴ D. W. RAINS and E. EPSTEIN, *Pl. Physiol.*, Lancaster 42, 314 (1967).

¹⁵ I thank Dr. E. EPSTEIN and Dr. A. LÄUCHLI for advice on preparation of this manuscript.

Nachweis hoher Aktivitäten von Kreatin-Kinase bei dem Chaetognathen *Sagitta setosa*

Kaum eine Tiergruppe bereitet bei der Einordnung im System der Tiere ähnliche Schwierigkeiten wie die Chaetognathen¹. In der vorliegenden Arbeit wird versucht, zur systematischen Gruppierung der Chaetognathen aus vergleichend biochemischer Sicht Stellung zu nehmen. Bekanntlich ist die Verteilung der Guanidinphosphate im Tierreich verschiedentlich systematisch ausgewertet worden². Kreatinphosphat ist das einzige Phosphagen der Wirbeltiere. Es findet sich, z. T. neben Argininphosphat in der «Chordatenlinie» bei Echinodermen und Prochordaten. Generell besitzen sonst Invertebraten das Argininphosphat, nur Anneliden zeigen eine bemerkenswerte Mannigfaltigkeit anderer Phosphagene³. Wir weisen hier das Vorhandensein hoher Aktivitäten der ATP-Kreatin-Phosphotransferase (Kreatin-Kinase) bei gleichzeitigem Fehlen der ATP-Arginin-Phosphotransferase (Arginin-Kinase) in Geweben der Chaetognathen nach.

Die Kreatin-Kinase-Aktivität wurde im optischen Test bestimmt, wobei Pyruvat-Kinase als Hilfsystem und Laktat-Dehydrogenase als Indikatorsystem dienten⁴.

Einzelheiten der Methode wurden mehrfach beschrieben⁵. Die Bestimmung von Arginin-Kinase-Aktivität erfolgte analog dem Kreatin-Kinase-Ansatz nach WIESMANN und RICHTERICH⁶.

Die Aktivitätsbestimmungen wurden direkt und fortlaufend im Spektrophotometer bei 340 nm und 20°C durchgeführt. Die Küvetten (d = 1 cm) enthielten in 2,4 ml Inkubationsvolumen Homogenat von 1,4 bzw. 0,7 mg Gewebe (s. Figur 1), Glycinpuffer 0,45 M, pH 9,0; ATP 1,25 mM; Kreatin bzw. Arginin 30 mM; Phospho-

¹ W. KÜHL, *Bronn's Kl. Ordn. Tierreichs* 4, Abt. 4, Buch 2, T 1, 1 (1938).

² D. C. WATTS, *Adv. comp. Physiol. Biochem.* 3, 1 (1968).

³ N. VAN THOAI und J. ROCHE, in *Taxonomic Biochemistry* (Ed. C. A. LEONE; The Ronald Press Co., New York 1964).

⁴ M. L. TANZER und C. GILVARG, *J. biol. Chem.* 234, 3201 (1959).

⁵ J. P. COLOMBO, R. RICHTERICH und E. ROSSI, *Klin. Wschr.* 40, 37 (1962).

⁶ U. WIESMANN und R. RICHTERICH, *Helv. Physiol. Acta* 22, 1 (1964).

enolpyruvat 0,4 mM; NADH_2 0,2 mM; Mg^{++} 4 mM; Pyruvat-Kinase 0,3 mg/l; Lactat-Dehydrogenase 20 mg/l.

Beim Blindwert (Figur 1) ergibt sich trotz hoher Verdünnung des Homogenates eine deutliche Extinktionsabnahme, die wahrscheinlich auf ATP-asen oder Phosphatasen zurückzuführen ist. Bei Arginin als Substrat ist der Verlauf der Reaktion mit dem Blindwert identisch. Dies gilt auch bei höheren oder geringeren Homogenatkonzentrationen. Hieraus ist zu schliessen, dass Arginin-Kinase im Homogenat nicht vorhanden ist. Demgegenüber ergibt sich eine im Vergleich zum Blindwert deutlich höhere Extinktionsabnahme bei Anwesenheit von Kreatin im Inkubationsmedium.

Obwohl wegen der Kleinheit der Objekte stets ganze Tiere zur Herstellung der Homogenate benutzt wurden und obwohl die optimalen Reaktionsbedingungen des

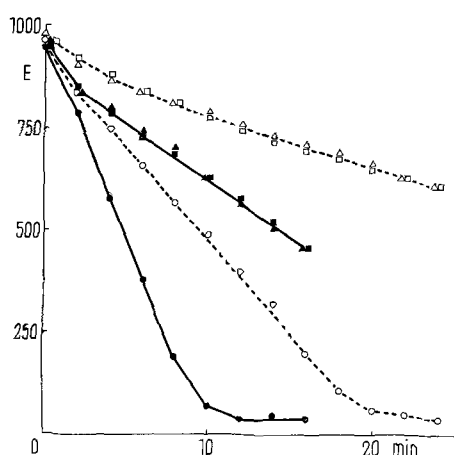


Fig. 1. Bestimmung von Kreatin- und Arginin-Kinase-Aktivität im optischen Test^{5,6} in Homogenaten von *S. setosa*. Kreise, Substrat Kreatin; Dreiecke, Substrat Arginin; Quadrate, Blindwert. Offene Symbole, Homogenat von 0,7 mg Gewebe; ausgefüllte Symbole, Homogenat von 1,4 mg Gewebe in der Küvette, 2,4 ml Analysenvolumen.

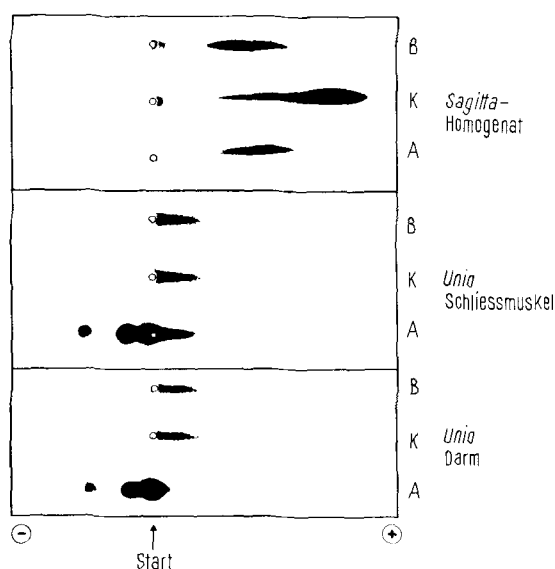


Fig. 2. Elektrophoretische Auftrennung von Homogenaten von *S. setosa* und *Unio* sp. (Flussmuschel)⁸, Anfärbung für Kreatin- bzw. Arginin-Kinase⁹. (Photographie von Agar-Elektrophoresen.) B, Blindwert; K, Substrat Kreatinphosphat; A, Substrat Argininphosphat.

Chaetognathen-Enzyms nicht näher untersucht wurden, ist die Aktivität relativ hoch. Sie betrug in dem in Figur 1 dargestellten Versuch 18600 bzw. 17100 μMol Kreatin umgesetzt/1 min \cdot kg Frischgewicht (20°C). Zum Vergleich sei erwähnt, dass die Kreatin-Kinase-Aktivität in Skelett- und Herzmuskulatur von Wirbeltieren zwischen 2000 und 500000 μMol Kreatin umgesetzt/1 min \cdot kg Frischgewicht (37°C) schwankt⁷. Diese Organe sind bekannt für ihre hohe Aktivität dieses Enzyms.

In elektrophoretischen Untersuchungen wurden *Sagitta*-Homogenate auf Agarose-Gelplatten aufgetrennt⁸ und nach beendeter Elektrophorese die Kreatin- bzw. Arginin-Kinase spezifisch angefärbt⁹. Im Detektor-Gel lagen die zur Sichtbarmachung der Enzyme notwendigen Reagentien in folgenden Konzentrationen vor: Triäthanolamin-Puffer 0,1 M pH 7,0; Glucose 8 mM; Mg^{++} 2,5 mM; ADP 0,4 mM; NADP 0,6 mM; Nitroblue-Tetrazolium 0,2 g/l; Phenazin-Methosulfat 4 mg/l; Hexokinase 6 mg/l; Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase 3 mg/l; für Kreatin-Kinase waren in 5 ml Detektor-Gel 2,5 mg Kreatinphosphat, für Arginin-Kinase 2 mg Argininphosphat gelöst, der Blindwert enthielt keines dieser Salze.

Bei den *Sagitta*-Homogenaten (Figur 2) zeigt sich bei Anwesenheit von Kreatinphosphat ein deutlicher Farbfleck, der auf der Blindwertplatte nicht vorhanden ist. Arginin-Kinase ist auch hier nicht nachweisbar.

Zum Vergleich sind Elektrophoresen von Homogenaten der Flussmuschel (*Unio* sp.) abgebildet, da diese Methode zur Sichtbarmachung von Arginin-Kinase bisher nicht publiziert wurde. Bei Muscheln ist das Vorkommen von Arginin-Kinase und das Fehlen von Kreatin-Kinase bekannt¹⁰. Die Elektrophoresen zeigen multiple Formen der Arginin-Kinase, Kreatin-Kinase ist nicht nachweisbar. Wir finden in einer Untersuchungsreihe an Homogenaten anderer Invertebraten bestätigt, dass die Methode prinzipiell für die Sichtbarmachung der Arginin-Kinase auf Elektrophoresen geeignet ist.

Mit zwei voneinander unabhängigen Methoden wird hier das Vorkommen hoher Aktivitäten von Kreatin-Kinase und das Fehlen von Arginin-Kinase-Aktivität gezeigt. Es versteht sich von selbst, dass aus diesen Befunden keine voreiligen Schlüsse auf die systematische Stellung der Chaetognathen gezogen werden dürfen. Sie legen jedoch die Vermutung nahe, dass die Stellung der Chaetognathen durch vergleichend biochemische Studien weiter geklärt werden kann¹¹.

Summary. Notably high activities of creatine kinase have been shown in tissues of Chaetognaths both by spectrophotometric assays and on agarose-gels, where the enzyme appears as a single band. Arginine kinase activity could not be detected. It is pointed out that these findings might be of significance in elucidating the systematic position of Chaetognaths.

A. SCHOLL

Zoologisches Institut der Universität,
3000 Bern (Schweiz), 9. Oktober 1968.

⁷ R. RICHTERICH, U. WIESMANN und B. CANTZ, NATO meeting on comparative enzymology, Paris (1967).

⁸ H. M. EPPENBERGER, M. EPPENBERGER und A. SCHOLL, Proc. 5th FEBS-meeting, Prag 1968, im Druck.

⁹ D. M. DAWSON, H. M. EPPENBERGER und N. O. KAPLAN, Biochem. biophys. Res. Commun. 21, 346 (1965).

¹⁰ B. MORELAND und D. C. WATTS, Nature 215, 1092 (1967).

¹¹ Mit Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds. Der Biologischen Anstalt Helgoland danke ich herzlich für die Bereitstellung eines Gastlabors.