

Table I. Intestinal sugar transport in normal and protein-depleted rats

Duration of diet (days)	D-glucose			D-fructose		
	Normal	Protein-depleted	p	Normal	Protein-depleted	p
10	2.1 (4)	5.0 (8)	< 0.01	5.0 (4)	6.4 (8)	> 0.4
20	2.4 (3)	5.6 (7)	< 0.05	7.0 (3)	8.4 (7)	> 0.9
30	1.9 (3)	3.9 (5)	< 0.05	4.0 (4)	7.4 (3)	> 0.05
40	2.0 (3)	5.6 (7)	< 0.05	8.1 (4)	8.5 (7)	> 0.7

Mean results; figures in parentheses indicate number of animals.

differences in its metabolism and intestinal transport pathway which is separate from that used by other actively transported sugars¹³.

Zusammenfassung. An jungen Ratten wurde eine bedeutende Steigerung der Absorption von D-Glukose beobachtet, jedoch keine solche der D-Fruktose. Offenbar ist der Effekt an D-Glukose ein adaptives Phänomen, ver-

Table II. Small-intestinal mucosa /wet weight (g/cm) in normal and protein-depleted rats

Duration of diet (days)	Normal diet	Low-protein diet	p
10	15.9 ± 1.3 (4)	10.0 ± 1.6 (8)	< 0.001
20	12.3 ± 1.0 (3)	7.5 ± 1.1 (7)	< 0.001
30	19.4 ± 2.6 (3)	12.2 ± 0.8 (5)	< 0.01
40	16.1 ± 1.2 (3)	11.9 ± 1.6 (7)	< 0.01

Mean values and S.D.; figures in parentheses indicate number of animals.

bunden mit einem veränderten Zellmetabolismus im Dünndarm.

M. GRACEY¹⁴ and B. LEVIN

Department of Pathology, Queen Elizabeth Hospital for Children, Hackney Road, London E2 8PS (England),
10 July 1972.

- 1 J. G. PRINSLOO, W. WITTMANN and P. J. PRETORIUS, Archs Dis Childh. 44, 593 (1969).
- 2 M. D. BOWIE, G. L. BRINKMAN, J. D. HANSEN, J. Pediat. 66, 1083 (1966).
- 3 G. SOLIMANO, E. A. BURGESS and B. LEVIN, Br. J. Nutr. 21, 55 (1967).
- 4 D. S. MILLER and P. R. PAYNE, J. Nutr. 74, 413 (1961).
- 5 H. A. KREBS and K. HENSELEIT, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 210, 33 (1932).
- 6 D. S. PARSONS, in *Handbook of Physiology, Section 6, Alimentary Canal* (Ed. C. F. CODE; American Physiological Society, Washington 1968), p. 1177.
- 7 S. HYDEN, K. Lantbr Högsk. Annlr., 22, 139 (1955).

- 8 A. St. G. HUGGETT and D. A. NIXON, Lancet 2, 368 (1957).
- 9 J. H. ROE, J. biol. Chem. 107, 15 (1934).

- 10 D. Y. HSIA and T. INOWYE in *Inborn Errors of Metabolism, Laboratory Methods* (Year Book Publishers, Chicago 1966), Part 2, p. 119.

- 11 R. E. KIRSCH, J. F. BROCK and S. J. SAUNDERS, Am. J. clin. Nutr. 21, 820 (1968).

- 12 A. F. HOPPER, R. W. WANNAMACKER and P. A. McGOVERN, Proc. Soc. exp. biol. Med. 128, 695 (1968).

- 13 M. GRACEY, V. BURKE and A. OSHIN, Biochim. biophys. Acta 266, 397 (1972).

- 14 Present address: Gastroenterological Research Unit, Princess Margaret Hospital for Children, Perth (Western Australia).

Die Notwendigkeit einer Lichtreaktion für die Induktion photosynthetischer Aktivität

Alle zur Sauerstoffentwicklung fähigen Pflanzen zeigen bei Belichtungsbeginn verschiedene Induktionsphänomene über mehrere Sekunden, bis eine konstante, kontinuierliche Photosyntheseaktivität erreicht ist. Diese Einschwingvorgänge wurden vor allem anhand von Fluoreszenzmessungen eingehend untersucht und werden meistens als variable Fluoreszenz bezeichnet¹. Sehr charakteristisch zeigt sich der Übergang von Dunkel- zum Lichtzustand auch in der Sauerstoffproduktion. Es wurde gezeigt², dass der unmittelbar bei Belichtung beobachtete Sauerstoffausstoss mit anschliessendem Sauerstoffproduktionsabfall und Wiederanstieg auf ein konstantes Niveau als unmittelbare Reaktionsfolge des angeregten Photosystem-II anzusehen ist.

Werden höhere Pflanzen (Bohnen, Gerste, Lemnaceen) unter Flashbedingungen kultiviert (Dunkelkulturen, beleuchtet alle 15 min mit einem polychromatischen Blitz von 1 msec Dauer) so entwickeln sich Chloroplasten vom Lamellentyp³ mit ausschliesslicher PS-I-Aktivität⁴. Es konnte gezeigt werden, dass die so kultivierten Organismen bei Lichtbeginn⁵ keine Sauerstoffentwicklung und keine variable Fluoreszenz zeigen⁶. Bei andauernder Belichtung dagegen setzt eine Induktion der Sauerstoffentwicklung ein, die erst nach 6 bis 8 min zum Stillstand kommt⁷. Es

stellt sich nun die Frage, ob der Induktionsmechanismus eine selbstständige lichtregulierte Reaktion darstellt und dabei die potentielle Aktivität von Photosystem-II bestimmt.

Material und Methoden. Die Kultivierung von *Phaseolus vulgaris* und die Experimentieranordnung wurden beibehalten wie früher mitgeteilt^{6,4}. Die Pflanzen wurden 7 Tage im Dunkeln gehalten, dann 7 Tage unter Blitzlichtbedingungen (alle 15 min ein starker Weißlichtblitz von 1 msec Dauer) kultiviert. Von den Primärblättern der 14

- 1 U. SCHREIBER, R. BAUER und U. FRANK, Z. Naturforsch. 26b, 1195 (1971).
- 2 A. P. JOLIOT, Thèse de la Faculté des Sciences de l'Université de Paris (1960).
- 3 C. SIRONVAL, J. M. MICHEL, R. BRONCHART, und E. ENGLERT-DU JARDIN, Progress in Photosynthesis Research (Ed. H. METZNER; Tübingen 1969), vol. 1, p. 47.
- 4 S. PHUNG NHU HUNG, A. HOARAU und A. MOYSE, Z. Pflanzenphysiol. 62, 245 (1970).
- 5 R. J. STRASSER, Verh. schweiz. naturf. Ges. 71, 104 (1971).
- 6 E. DUJARDIN, Y. DE KOUCHKOVSKY und C. SIRONVAL, Photosynthesis 4, 223 (1970).
- 7 R. J. STRASSER und C. SIRONVAL, FEBS Lett., 28, 56 (1972).

Tage alten Pflanzen, welche insgesamt 0,7 sec Licht erhalten hatten wie früher mitgeteilt mittels einer Clark-Elektrode der Sauerstoffgaswechsel unter physiologischen Bedingungen gemessen^{7,8}. Die Lichtintensität auf der Blattoberfläche betrug für $I_1 = 2 \times 10^4 \text{ erg/cm}^2/\text{sec}$ und für $I_2 = 4 \times 10^4 \text{ erg/cm}^2/\text{sec}$ einer polychromatischen Weisslichtquelle Intralux 500-H (Volpi AG Urdorf-Zürich). Die Temperatur betrug 25°C.

Resultate. Wird die Sauerstoffentwicklung bei beblitzten Bohnenblättern, welche nach der Kultivierungszeit ein inaktives Photosystem-II aufweisen durch Belichtung mit I_1 einmalig induziert, so zeigen sie eine PS-II-Aktivität im «steady state» von V_1 , welche ihrer PS-II-Aktivitätskapazität für diese Lichtstärke I_1 entspricht. Wird nun die Lichtintensität verdoppelt auf I_2 , so sind prinzipiell zwei Verhaltensweisen möglich.

1. Es wird sogleich bei Steigerung der Lichtintensität von I_1 auf I_2 auch eine sofortige Steigerung der Sauerstoffproduktionsrate von V_1 auf V_2 beobachtet, ohne längere Induktionsphase, obwohl der Organismus noch nie zuvor mit einer Photosyntheseaktivitätsrate von V_2 gearbeitet hatte.

2. Es wird bei Steigerung der Lichtintensität von I_1 auf I_2 eine weitere Induktionsphase beobachtet, welche den Organismus von einer Sauerstoffproduktionsaktivität von V_1 auf eine solche von V_2 induziert.

Figur 1 zeigt deutlich, dass die erste Annahme zutrifft. Bei Erhöhen der Lichtintensität von I_1 auf I_2 ist innerhalb der Ansprechbarkeit der Elektrode (10–15 sec) sogleich eine Erhöhung der Sauerstoffproduktionsrate von V_1 auf V_2 zu beobachten. Diese Unabhängigkeit zwischen Induktionsgrad (dargestellt als Quotient aus momentaner Sauerstoffproduktionsaktivität und «steady-state»-Sauerstoffproduktionsaktivität bei vollständiger Induktion) v/V und momentaner Photosyntheseaktivität wird durch eine andere Experimentierreihe dargestellt, wobei mehrere Lichtwechsel von I_1 zu I_2 zu I_1 etc. während der ersten Beleuchtungsperiode vorgenommen wurden (Figur 2).

Eine dritte Experimentierreihe lässt gleiche Schlussfolgerungen zu. Hier wurde der beblitzte Organismus 6 min einer Belichtung von $I_1/10$ ausgesetzt und anschliessend mit I_2 belichtet. Während der Vorbelichtung mit $I_1/10$ konnte keine signifikante Photosyntheseaktivität festgestellt werden. Dennoch zeigt die anschliessende Belichtung mit I_2 , dass die potentielle PS-II-Aktivität durch die schwache Vorbelichtung weitgehend induziert wurde, d.h. die Zeit für eine 50% Induktion τ ist wesentlich verkürzt. Das Auftreten (unmittelbar bei Belichtungsbeginn mit I_2) des Sauerstoffausstosses, wie er anderswo beschrieben wurde, ist eine notwendige Grundbedingung für die Aussagekraft dieses Experimentes. Figur 3 zeigt, dass eine schwache Vorbelichtung, welche nicht ausreicht einen eventuell potentiell arbeitsfähigen Photosyntheseapparat in Aktion zu halten, ein inaktives PS-II in die aktive Form überzuführen vermag. Infolge Fehlen von photosynthetisch aktinischen Licht reichert sich PS-II in dem Zustand an, indem es für aktinisches Licht sensibel ist. Die anschliessende Beleuchtung mit I_2 entwickelt somit sogleich einen Sauerstoffausstoss mit anschliessender Restinduktion bis die «steady state» Sauerstoffproduktionsrate erreicht ist.

Bei längerer Dunkelperiode (15–20 min) verändert sich das induzierte potentiell aktive PS-II partiell in seinen inaktiven Zustand. Bei Wiederbelichtung mit I_2 verhält sich dann der Organismus wie ein unter kontinuierlichen Lichtbedingungen kultivierter Organismus nach einer analogen Dunkelperiode.

Diskussion. Die dargestellten Untersuchungen lassen darauf schliessen, dass die früher mitgeteilte Induktion der PS-II-Aktivität an beblitzten Blättern höherer Pflan-

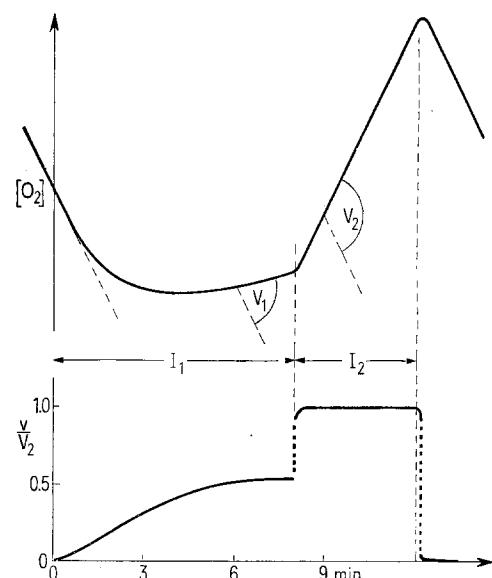


Fig. 1. Sauerstoffgaswechsel eines unter Blitzlichtbedingungen kultivierten Bohnenblattes während seiner ersten Belichtung mit $I_1 = 2 \times 10^4 \text{ erg/cm}^2/\text{sec}$ mit anschliessender Belichtung mit $I_2 = 4 \times 10^4 \text{ erg/cm}^2/\text{sec}$. Oben: dargestellt als Veränderung der Sauerstoffkonzentration an der Elektrodoberfläche. Unten: dargestellt als relative Sauerstoffproduktionsrate.

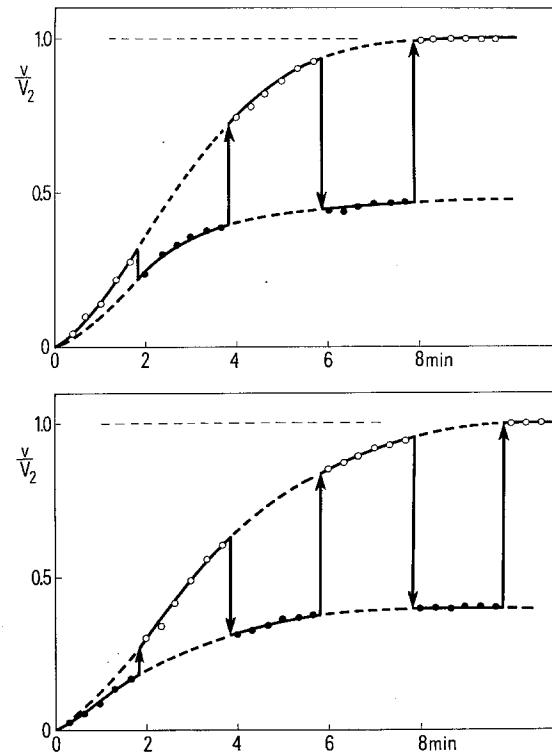


Fig. 2. Relative Sauerstoffproduktionsraten von Bohnenblättern, welche unter Blitzlichtbedingungen kultiviert wurden, während ihrer ersten Belichtung mit kontinuierlichem Licht. Intensitäten wie in Figur 1 für ●, = I_1 ; und ○, = I_2 .

zen einem lichtabhängigen Mechanismus zuzuschreiben ist. Es wird vermutet, dass die spezielle Kultivierungsmethode unter Blitzlichtbedingungen es ermöglicht, die Induktion der photosynthetischen Aktivität von der Aktion derselben zu trennen. Noch können wir kein Wirkungsspektrum dieser Induktionsreaktion angeben, welche das inaktive PS-II in einen aktiven Zustand überführt. Da die Kinetik der Induktion von der Temperatur abhängig ist und im Dunkeln sich langsam rückläufig verhält, vermuten wir photoenzymatische Reaktionsmechanismen.

Aus den vorliegenden Daten ziehen wir folgende Schlussfolgerungen: Ein aktives PS-II benötigt minde-

stens zwei prinzipiell verschiedene Lichtmechanismen. 1. einen Lichtmechanismus, welcher das Gleichgewicht zwischen potentiell aktivem und inaktivem PS-II zu Gunsten der aktiven Form verlagert, also eine Regulatorfunktion ausübt. 2. Einen Lichtmechanismus, welcher für die PS-II-Aktivität verantwortlich ist⁹.

Lichtquanten, welche den Induktionsmechanismus auslösen, tragen somit nicht direkt zur Wasserspaltung bei, sind aber notwendig, damit das PS-II dauernd in einem sensiblen Zustand gehalten wird, welcher bei Anregung durch weitere photosynthetisch wirksame Photonen die Sauerstoffentwicklung ermöglicht. Ein aktives Photosystem II würde sich somit aus einem lichtabhängigen Regulationsmechanismus und einem lichtabhängigen Sauerstoff entwickelnden Mechanismus zusammensetzen¹⁰.

Summary. Beans grown under a flash regime never show a PS-II activity at their first illumination with photosynthetically actinic light. But immediately when light is on, an induction period takes place for some 6 min. In this paper we show, by oxygen measurements and different light conditions, that the induction of PS-II activity is due to a photosynthetically independent light reaction.

R. J. STRASSER¹¹ und C. SIRONVAL

Institut de Photobiologie, Département de Botanique, Université de Liège, Sart-Tilman-Liège (Belgien), 14 September 1972.

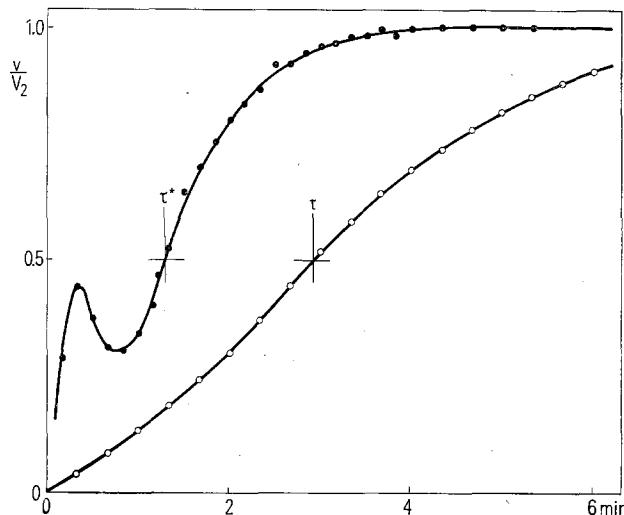


Fig. 3. Relative Sauerstoffproduktionsraten von Bohnenblättern, welche unter Blitzlichtbedingungen kultiviert wurden, während ihrer ersten Belichtung mit $I_2 = 4 \times 10^4 \text{ erg/cm}^2/\text{sec}$. ○, ohne Vorbelichtung; ●, mit 6 min Vorbelichtung mit $I_2/20$; τ^* , τ , notwendige Zeit für 50% Induktionsgrad.

⁹ B. KOK, B. FORBUSH und M. McGLOIN, Photochem. Photobiol. 11, 457 (1970).

¹⁰ R. J. STRASSER, VI. Int. Congr. on Photobiology, Bochum (1972), Abstract 244.

¹¹ Die Arbeiten wurden mittels eines Forschungsstipendiums an R. STRASSER des Patrimoine de l'Université de Liège unterstützt. Frau F. HAYET sei für die Kultivierung der Organismen und J. F. OHN für technische Konstruktionen gedankt.

Changes in the Ultrastructure of Erythrocyte Membrane Subjected to UV-Irradiation in vitro

Some studies of the last years indicate that metabolic activity of erythrocytes is closely connected to their structure^{1,2}. The defined physiological activities of these cells depend not only on their shape but also on the specific ultrastructure of the membrane^{3,4}. UV-irradiation, acting on enzymes and other proteins and on adenyl nucleotides and other phosphate esters, influences energy metabolism of erythrocytes, which is responsible for maintenance of the normal structure and function of the cell^{5,6}. Irradiation also affects membrane permeability, erythrocyte volume and ultrastructure of the membrane⁵⁻⁷.

Introduction of electron microscope techniques gave a new approach to the studies on erythrocyte structure^{1,8-10}. Electron microscope methods allow the observation of the surface structures of the red blood cell and demonstrate a relation between these structures and activity of metabolic processes of erythrocytes¹¹⁻¹³.

Material and methods. The study material consisted of pig, bovine and human blood, which have different ADP, ATP and 2,3-DPG levels. Blood was irradiated for 300 min in silica cuvettes with UV-rays, using Hanau S-500 lamp with efficiency $4.34 \times 10^8 \text{ erg/sec}$ in the range of 248 nm-436 nm¹⁴.

Erythrocyte membranes were obtained by the method of DAWSON and ELFORD¹⁵, modified by TAYLOR and KWIATKOWSKI¹⁶. For further studies of membranes, the negative staining method of BRENNER and HORNE¹⁷ was used.

¹ H. BAUM, E. MURER, D. B. SLAUTTERBACK and D. G. McCONNELL, Archs Biochem. Biophys. 113, 487 (1966).

² D. E. GREEN, E. MURER, H. O. HULTIN, S. H. RICHARDSON, B. SALMON, G. P. BRIERLEY and H. BAUM, Archs Biochem. Biophys. 112, 635 (1965).

³ D. DANON and K. PERK, J. Cell. Physiol. 59, 117 (1962).

⁴ J. R. GOODMAN, E. B. REILLY and R. E. MOORE, Blood. 10, 428 (1955).

⁵ I. A. KABAT, A. J. HŁYŃCZAK, A. SYSZA, B. KWIATKOWSKI and J. SYSZA, Acta Med. Pol. 2, 297 (1967).

⁶ I. A. KABAT, A. SYSZA, J. SYSZA, A. J. HŁYŃCZAK and J. KEDZIORA, VI Berlin Symposium on Structure and Function of Erythrocytes, (Humboldt University, Berlin 1970), p. 425.

⁷ J. SYSZA, A. J. HŁYŃCZAK, A. SYSZA, I. A. KABAT, W. and LEJKO, XI Congress of the Polish Physiological Society, Szczecin 1969. Abstract of lectures p. 93.

⁸ M. BESSIS, Blood 10, 272 (1955).

⁹ H. J. KAYDEN and M. BESSIS, Blood 4, 427 (1970).