

Diss ETH

Prom. Nr. 2600 **B**

DER EINFLUSS VON FUSARINSÄURE AUF DIE WASSERPERMEABILITÄT VON PFLANZLICHEN PROTOPLASTEN

VON DER

EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN
HOCHSCHULE IN ZÜRICH

ZUR ERLANGUNG

DER WÜRDE EINES DOKTORS
DER NATURWISSENSCHAFTEN

GENEHMIGTE

PROMOTIONSARBEIT

VORGELEGT VON

ELISABETH BACHMANN

DIPL. NATURWISS. E.T.H.
VON THUNDORF UND STETTFURT (TG)

Referent: Herr Prof. Dr. E. Gäumann

Korreferent: Herr Prof. Dr. A. Frey-Wyssling



1 9 5 6

Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin West

Veröffentlicht in „Phytopathologische Zeitschrift“ Band 27, Heft 3, S. 255—288 (1956)
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule
in Zürich

Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von pflanzlichen Protoplasten

Von

ELISABETH BACHMANN

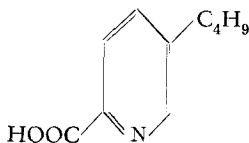
Mit 14 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — 1. Kap.: Methoden. — 2. Kap.: Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoeo*-Protoplasten. — 3. Kap.: Der Einfluß einiger mit Fusarinsäure verwandter Pyridinderivate auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoeo*-Protoplasten. — 4. Kap.: Der Einfluß von Fusarinsäure auf die nicht-osmotische Stoffaufnahme bei *Rhoeo*. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Fusarium lycopersici Sacc. ist einer der Erreger der infektiösen Tomatenwelke. Als Toxine konnten aus dem Kulturfiltrat Fusarinsäure, eine Pyridinmonocarbonsäure, Lycomarasmin, ein Dipeptid, und Vasinfuscarin, ein chemisch noch unbekannter Stoff, isoliert werden (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952; GÄUMANN, NAEF-ROTH und MIESCHER, 1950; GÄUMANN, STOLL und KERN, 1952). Fusarinsäure verursacht Nekrosen an den Blättern und Stengeln, Lycomarasmin nur an den Blättern der Tomatenpflanze. Vasinfuscarin bräunt die Leitungsbahnen der Tomatensprosse. Von den drei vom Organismus in vitro gebildeten Toxinen konnte bis heute erst Fusarinsäure in infizierten Pflanzen nachgewiesen werden (LAKSHMINARAYANAN und SUBRAMANIAN, 1955; KERN und KLÜPPEL, 1956). Damit ist der Beweis erbracht, daß es sich bei Fusarinsäure wirklich um ein Vivotoxin handelt und nicht, wie oft angenommen wurde, um ein nur in vitro gebildetes Stoffwechselprodukt (DIMOND und WAGGONER, 1953).

In der vorliegenden Arbeit soll der Wirkungsmechanismus der Fusarinsäure verfolgt werden.



Fusarinsäure (5 n-Butyl-pyridin-2-carbonsäure)

Fusarinsäure ist eine Pyridin-monocarbonsäure von der Bruttoformel $C_{10}H_{13}O_2N$ und dem Molekulargewicht 179. Sie wurde erstmals von YABUTA, KAMBE und HAYASI (1934) aus dem Kulturfiltrat von *Fusarium heterosporum* Nees., einem Erreger der Bakanaekrankheit des Reises in Japan, rein dargestellt. Die Konstitutionsaufklärung (YABUTA, KAMBE und HAYASI, 1934) ergab, daß es sich um 5n-Butyl-pyridin-2-carbonsäure handelt. PLATTNER, KELLER und BOLLER (1954) gelang es, Fusarinsäure zu synthetisieren. Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Versuche wurden alle mit synthetischer Fusarinsäure ausgeführt, die in ihrer biologischen Aktivität der natürlichen Fusarinsäure entspricht (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952). Die dosis minima des Toxines für Tomatensprosse liegt bei 150 mg/kg Lebendgewicht.

Was man im Welketest 48 Stunden nach der Toxinapplikation als Nekrose bestimmt, ist durch eine Summation von Einzelschädigungen entstanden. Um aber den Wirkungsmechanismus der Fusarinsäure abzuklären, müssen wir die einzelnen Teilschritte kennen, die zu einer Schädigung führen. Wie Transpirationsversuche zeigten, verändert Fusarinsäure die Wasseraufnahme und -abgabe von Tomatenpflanzen schon bevor die Pflanze Krankheitssymptome aufweist (unveröffentlichte Versuche von Dr. H. KERN). Nach der von GÄUMANN und JAAG (1946, 1947 a) aufgestellten Theorie über das Zustandekommen der irreversiblen toxischen Welke ist eine ihrer primären Ursachen in einer Schädigung der Permeabilität der Plasmagrenzschichten zu suchen. Modellversuche (GÄUMANN, JAAG und BRAUN, 1947; GÄUMANN und VON ARX, 1947; GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN, 1952) bestätigten diese Annahme, gaben aber noch keinen Aufschluß über die Wirkungsweise der Fusarinsäure. Die eben genannten Autoren zählen Fusarinsäure zusammen mit Enniatin A, Patulin, Penicillinsäure, Streptomycin und Aureomycin zu den spezifischen Osmosegiften, das heißt zu Giften, die noch in geringen Konzentrationen die osmotischen Eigenschaften der Zelle zu stören vermögen.

Bei der unter Fusarinsäure-Einfluß übersteigerten Transpiration wird nicht nur der Wasserumsatz pathologisch verändert; es werden mit dem Transpirationsstrom auch osmotisch wirksame Stoffe, Aminosäuren und Salze, an die Blattoberfläche gebracht (LINSKENS, 1955). Die Menge der Rekrete ist bei toxisch gewelkten Tomatenpflanzen um ein Vielfaches größer als bei physiologisch gewelkten. Diese pathologisch erhöhte Rekretion ist zum Teil auch die Folge einer Störung der Semipermeabilität der Plasmagrenzschichten.

Die Versuchsergebnisse lassen die Frage offen, wie und in welchem Ausmaße Fusarinsäure die osmotischen Eigenschaften des pflanzlichen Plasmas beeinflusst. Diese Frage abzuklären, war die Aufgabe der nachfolgenden Versuche. THATCHER (1942) fand bei abgeschnittenen Tomatensprossen, die er in das Filtrat einer vier Wochen alten Kultur von *Fusarium lycopersici* Sacc. stellte, nach 48 Stunden die ersten Welkeerscheinungen und gleichzeitig eine gegenüber Kontrollpflanzen stark erhöhte Wasserpermeabilität in den Palisadenzellen der Interkostalfelder. Die Deplasmolyse verlief in den Palisadenzellen

von welkenden Pflanzen ungefähr doppelt so rasch wie in den unvergifteten Kontrollzellen. Der Autor schloß daraus, daß durch das Welketoxin die Wasserpermeabilität der Plasmamembran der Wirtszelle erhöht worden ist. GOTTLIEB (1944) erhielt gleiche Resultate bei infizierten und nichtinfizierten Tomatenpflanzen. ZÄHNER (1955) konnte zeigen, daß die Wasserpermeabilität des Plasmas von Stickstoffmangelpflanzen durch Fusarinsäure in viel geringerem Ausmaße verändert wird als die von normal ernährten Pflanzen (Plasmolyse-Deplasmolyse-Verfahren mit Tomatenblattstielhaaren). Die Wasseraufnahme wird bei normal ernährten Pflanzen durch Fusarinsäure stark erhöht; diese Reaktion bleibt bei Stickstoffmangelpflanzen aus.

1. KAPITEL

Methoden

a) Allgemeines

Untersuchungen über die Stoffaufnahme der lebenden Zelle gehen von der Voraussetzung aus, daß die Stoffaufnahme ein rein osmotischer Vorgang ist. Sie ist identisch mit der Permeation, dem physikalisch definierten Prozeß einer behinderten Diffusion. Die aufgenommene Stoffmenge ist durch die Differenz der osmotischen Werte des Zellsaftes und des Plasmolytikums gegeben. Die Zeit, in der sie aufgenommen wird, ist bestimmt durch die Permeabilität der Grenzschichten.

HUBER und HÖFLER (1930) faßten die Wasserpermeabilität als Druckfiltration auf. FREY-WYSSLING und VON RECHENBERG-ERNST (1943) und FREY-WYSSLING und BOCHSLER (1947) zeigten, daß es sich auch bei der Wasserpermeation um einen Diffusionsvorgang handelt.

BOCHSLER (1948) kann mathematisch und experimentell nachweisen, daß nicht nur die Permeation gelöster Stoffe, sondern auch jene von Wasser dem Fickschen Diffusionsgesetz (FICK, 1855) gehorcht. Die Permeabilitätskonstante für Wasser ist demnach gleich definiert wie jene der gelösten Stoffe und hat auch die Dimension Weg/Zeit. Das Diffusionsgesetz gilt sowohl für die Plasmolyse als auch für die Deplasmolyse. Bei der Deplasmolyse ist das Konzentrationsgefälle bekannt, da der Plasmolyse-Endgrad durch den osmotischen Wert des Plasmolytikums und den des Vakuoleninhaltes bestimmt ist. Es genügt also, die Zeit t zu bestimmen, die der Protoplast braucht um sich wieder voll auszudehnen (DE HAAN, 1935). Die Zeit t ist abhängig vom Diffusionswiderstand des Plasmas. Damit ist es möglich, die Veränderung der Wasserpermeabilität durch Toxine zu messen.

b) Versuchsobjekte

Weder die von THATCHER (1942) noch die von ZÄHNER (1955) benützten pflanzlichen Gewebe eignen sich für große Reihenuntersuchungen: *Solanum Lycopersicum* L. ist ein ungeeignetes Objekt für plasmometrische Untersuchungen. Nur mit großem Material- und Zeitaufwand können statistisch gesicherte Ergebnisse erhalten werden. Die hier beschriebenen Untersuchungen wurden deshalb mit *Spirogyra* und *Rhoeo* ausgeführt, zwei Objekten, die sich

für plasmometrische Versuche eignen. Mit wenigen Versuchen kann dann später abgeklärt werden, ob sich das Plasma von Tomate gegenüber Fusarinsäure wie das Plasma eines der hier geprüften Modell-Objekte verhält.

Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Art konnte als *Spirogyra nitida* (Dillwyn) Link. bestimmt werden. GÄUMANN und VON ARX (1947) benutzten sie als Testobjekt, um den Giftigkeitsgrad einzelner Toxine zu bestimmen. Dabei wurden Fadenstücke von *Spirogyra* in Toxinlösungen verschiedener Konzentration eingelegt, und es wurde die Einwirkungszeit bestimmt, die nötig ist, um eine nachfolgende Plasmolyse in einer 0,8 molaren Saccharoselösung zu verhindern. Die Frage bei meinen Versuchen war, ob bei Permeabilitätsmessungen an *Spirogyra* eine Schädigung der Wasserpermeabilität durch die Toxine von anderen Schädigungen unterschieden werden kann.

Um neben *Spirogyra* auch noch eine Blütenpflanze in die Untersuchungen einzubeziehen, wurde in Anlehnung an die Arbeiten von GUTTENBERG und BEYTHIEN (1951) und BOGEN (1940, 1953) *Rhoeo discolor* (L'Hér.) Hance gewählt. Die untere rotgefärbte Blattepidermis ist für plasmometrische Untersuchungen sehr geeignet.

Die für meine Untersuchungen benötigten Pflanzen wurden im Gewächshaus bei etwa 30 ° C und hoher Feuchtigkeit gehalten. Die Umweltsbedingungen haben aber keinen Einfluß auf die Toxinempfindlichkeit des Plasmas; das zeigten Parallelversuche mit Pflanzen aus dem Kalthaus.

c) Versuchsanordnung

Für die Untersuchungen wurden Chemikalien der Reinheit „pro analysi“ verwendet, von denen mit destilliertem Wasser oder mit Äthanol $1 \cdot 10^{-1}$ molare Stammlösungen hergestellt wurden. Von diesen ausgehend wurden die Testlösungen im Konzentrationsbereich $1 \cdot 10^{-2}$ bis $1 \cdot 10^{-9}$ Mol/Liter zubereitet. Das als Lösungsmittel verwendete Wasser stammte aus einer mit Kupferblech ausgeschlagenen Dampfdestillationsanlage und hatte einen fast konstanten pH-Wert von 5,2.

Für die Überlassung und Herstellung der mit der Fusarinsäure verwandten Pyridinderivate möchte ich Herrn Prof. Dr. R. MEYER, CIBA, Basel, und Herrn Dr. E. HARDEGGER vom Organisch-chemischen Institut der E.H.T., Zürich, bestens danken.

Als Plasmolytikum diente im Falle von *Spirogyra* eine 0,8 molare Saccharoselösung, im Falle von *Rhoeo* eine 0,3 molare Mannitlösung. Auch hier diente destilliertes Wasser als Lösungsmittel. Als Deplasmolytikum wurde Leitungswasser verwendet.

In kleine Feuchtschalen wurden 3 bis 4 ml Toxinlösung gegeben. Darin verblieb das Testobjekt während 30 Minuten und wurde nachher für weitere 30 Minuten in das Plasmolytikum gebracht. Dazwischen wurde es auf Filterpapier leicht abgetrocknet, um zu verhüten, daß wesentliche Mengen Testlösung in das Plasmolytikum mitgeschleppt wurden. Innerhalb von 30 Minuten erreichten alle Protoplasten, wie Vorversuche zeigten, den dem Plasmolytikum entsprechenden Plasmolyse-Endgrad. Auf einem Hohlschliffobjektträger wurde unter dem Mikroskop bei stets gleicher Beleuchtung und Vergrößerung

die Deplasmolyse in Leitungswasser beobachtet. Es wurde die Zeit bestimmt, die ein Protoplast brauchte, um sich wieder voll auszudehnen. Bei *Spirogyra* wurde die Deplasmolysezeit von fünf in einem Fadenstück aufeinanderfolgenden Zellen bestimmt; bei *Rhoeo* jene von einzelnen Zellen in der 20. bis 25. Zellreihe vom Rande des Schnittes entfernt. Die Schnitte der unteren roten Epidermis von *Rhoeo*-Blättern wurden mit einem Rasiermesser hergestellt und ohne vorheriges Wässern direkt in die Testlösungen gebracht. Für jeden Versuch wurde die Epidermis des mittleren Blattdrittels eines einzigen Blattes verwendet.

Bei jeder geprüften Toxinkonzentration wurden 70 bis 100 Messungen gemacht und diese gemittelt. Die Deplasmolysezeiten, gemessen nach der Einwirkung von Leitungswasser, wurden als Kontrollwerte benützt. Die Streuung der einzelnen Messungen war ziemlich groß und konnte bei beiden Objekten 10 bis 20 % betragen. Sie war aber im allgemeinen bei der Kontrolle in Leitungswasser größer als bei den einzelnen Testlösungen. Die gemessenen Werte sowie die daraus berechneten Mittelwerte schwankten besonders bei *Spirogyra* von Tag zu Tag und schienen von äußeren Einflüssen, wie Lichtverhältnissen, Temperatur und Luftdruck, abhängig zu sein. Bei *Rhoeo* traten keine derartigen Schwankungen auf. Die Kontrollwerte lagen während mehreren Wochen immer gleich. Die Versuche wurden allerdings im Verlaufe der Wintermonate und bei stets gleicher Beleuchtung ausgeführt.

Um die Meßresultate bei *Spirogyra* trotzdem vergleichen zu können, wurde, wie es GUTTENBERG und BEYTHIEN (1951) vorschlugen, der Quotient aus dem Mittelwert der Kontrolle mit Leitungswasser und jenem der einzelnen Toxinkonzentrationen berechnet.

$$Q = \frac{D_K}{D_T}$$

D_K = Mittelwert der Deplasmolysezeiten der Kontrolle in Wasser

D_T = Mittelwert der Deplasmolysezeiten der geprüften Toxinkonzentration

Für jede Konzentration wurde Q mindestens drei- bis viermal bestimmt. Die einzelnen Q-Werte einer solchen Gruppe ergaben eine gute Übereinstimmung (vgl. Tabelle 1). Nach Definition bedeuten Q-Werte über 1,00 (die Kontrolle mit Leitungswasser wird immer gleich 1,00 gesetzt) eine Erhöhung, Q-Werte unter 1,00 eine Herabsetzung der Wasserpermeabilität.

Tabelle 1

Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoeo*-Protoplasten

Fusarinsäurekonzentration in Mol/Liter	<i>Spirogyra</i>					<i>Rhoeo</i>				
	Einzelne Q-Werte				Q_M	Einzelne Q-Werte				Q_M
$5 \cdot 10^{-4}$	0,87	0,95	0,93	0,91	0,91	0,86	0,81	0,88	0,89	0,86
$5 \cdot 10^{-5}$	0,91	0,86	0,96	0,94	0,92	1,06	0,97	1,03	0,98	1,01
$5 \cdot 10^{-6}$	1,23	1,27	1,26	1,25	1,25	1,11	1,14	1,07	1,10	1,10
$5 \cdot 10^{-7}$	1,25	1,18	1,30	1,26	1,25	1,51	1,49	1,57	1,55	1,53

Nach LINDER (1951) wurde berechnet, wie groß die Differenz zwischen 1,00 und dem für jede Toxinkonzentration bestimmten Q-Wert sein muß, damit diese Differenz als statistisch gesichert betrachtet werden konnte. Für $P = 0,01$ muß die Differenz von Q gegenüber der Kontrolle bei *Spirogyra* mindestens -12% und $+15\%$, bei *Rhoeo* mindestens -11% und $+25\%$ betragen.

2. KAPITEL

Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von Spirogyra- und Rhoeo-Protoplasten

§ 1. Störung der Wasserpermeabilität in Abhängigkeit von der Toxinkonzentration

Versuchsfrage:

Vermag synthetische Fusarinsäure die Wasseraufnahme von *Spirogyra* und *Rhoeo* zu beeinflussen?

Versuchsergebnisse:

Bei der Beschreibung der Versuchsergebnisse sollen die beiden Objekte, *Spirogyra* und *Rhoeo*, getrennt besprochen werden (Abb. 1, Kurve I u. II).

Spirogyra:

Die Störung der Wasseraufnahme durch Fusarinsäure läßt sich bei *Spirogyra* deutlich in drei Abschnitte gliedern.

1. Abschnitt: Fusarinsäurekonzentrationen $1 \cdot 10^{-7}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ molar. Hier stellen wir eine Erhöhung der Wasserpermeabilität fest, die sehr plötzlich und deutlich ausgeprägt auftritt. Sie erreicht bei $1 \cdot 10^{-6}$ Mol/Liter mit $+42\%$ ihr Maximum, bezogen auf die Kontrolle mit Leitungswasser.

In diesem Konzentrationsbereich kann keine Veränderung der Chloroplasten wahrgenommen werden. Eine mit Fusarinsäure vergiftete Zelle läßt sich nicht von einer unvergifteten unterscheiden.

2. Abschnitt: Dieser Bereich umfaßt die Konzentrationen $1 \cdot 10^{-5}$ bis $7,5 \cdot 10^{-4}$ molar. Die Wasserpermeabilität wird auf $\frac{3}{4}$ des Kontrollwertes herabgesetzt.

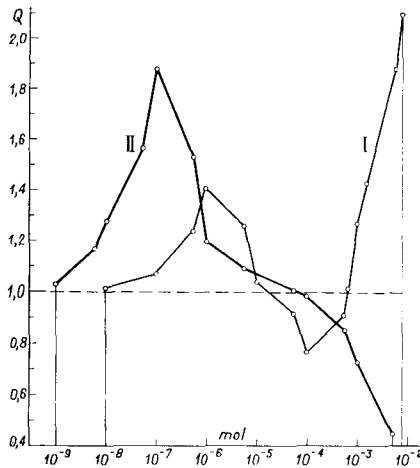


Abb. 1. Der Einfluß von Fusarinsäure verschiedener Konzentration auf die Wasserpermeabilität. I = *Spirogyra*. II = *Rhoeo*. Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

3. Abschnitt: Dieser Bereich umfaßt die Konzentrationen $1 \cdot 10^{-5}$ bis $7,5 \cdot 10^{-4}$ molar. Die Wasserpermeabilität wird auf $\frac{3}{4}$ des Kontrollwertes herabgesetzt.

Die spiralgig aufgerollten Chloroplasten bleiben intakt, dehnen sich aber nicht mehr mit dem Protoplasten bis zur Zellwand aus.

3. Abschnitt: Fusarinsäurekonzentrationen $7,5 \cdot 10^{-4}$ bis $7,5 \cdot 10^{-3}$ molar. In diesem Abschnitt läßt sich mit steigender Fusarinsäurekonzentration eine starke Zunahme der Wasserpermeabilität nachweisen. Sie erreicht bei $7,5 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter + 100 % der Kontrolle mit Leitungswasser.

Unter der Einwirkung steigender Fusarinsäurekonzentrationen lösen sich die Chloroplasten langsam auf, verlieren ihre sattgrüne Farbe und werden gelb bis leicht braun. Bei der Deplasmolyse wandern die Chloroplastenbänder an die beiden Zellenden. Die Einwirkung noch höherer Konzentrationen führt zur Koagulation des Protoplasten.

Rhoeo:

Auch bei *Rhoeo* lassen sich die Versuchsergebnisse in drei Abschnitte gliedern.

1. Abschnitt: Dieser erste Abschnitt umfaßt die Konzentrationen $1 \cdot 10^{-9}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter. Übereinstimmend mit den Ergebnissen bei *Spirogyra* tritt auch hier eine starke Erhöhung der Wasserpermeabilität auf. Sie hat ihr Maximum mit + 88 % bei $1 \cdot 10^{-7}$ Mol/Liter. Beiderseits fällt die Wasserpermeabilität ziemlich steil ab und erreicht bei $1 \cdot 10^{-9}$ Mol/Liter einerseits und bei $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter andererseits die Höhe der Kontrolle mit Leitungswasser.

Eine Veränderung der Protoplasten kann nicht wahrgenommen werden. Plasmolyse und Deplasmolyse sind konvex und im ganzen Schnitt außerordentlich gleichmäßig.

2. Abschnitt: Dieser zweite Abschnitt umfaßt nur einen kleinen Konzentrationsbereich ($1 \cdot 10^{-5}$ bis $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter). Die Wasseraufnahmegeschwindigkeit der *Rhoeo*-Protoplasten wird durch Fusarinsäure dieser Konzentrationen gegenüber Kontrollschnitten nicht verändert.

3. Abschnitt: Wird die Konzentration von Fusarinsäure weiterhin erhöht, so tritt ganz plötzlich eine Herabsetzung der Wasserpermeabilität ein. Sie beträgt, bezogen auf die Kontrolle mit Leitungswasser, bei $5 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter — 14 % und erreicht bei $5 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter — 56 %, was mehr als einer Verdoppelung der Deplasmolysezeiten entspricht.

In diesem Falle ist der Protoplast während der Deplasmolyse nicht mehr konvex; doch rundet sich der Protoplast ab, sobald er ins Deplasmolytikum gebracht wird. Neben den normal deplasmolysierenden Zellen treten auch solche auf, deren Protoplasten sich zu Beginn der Deplasmolyse noch abrunden; aber dann platzt der Protoplast, und der Vakuoleninhalt ergießt sich über die ganze Zelle. In anderen Zellen ist der Protoplast schon derart geschädigt, daß er noch plasmolysiert, aber nicht mehr deplasmolysiert. Wird die Toxinkonzentration auf $1 \cdot 10^{-2}$ Mol/Liter erhöht, so findet keine Plasmolyse mehr statt.

Bei hohen Fusarinsäurekonzentrationen, die zum Absterben der Zellen führen, verhalten sich *Spirogyra* und *Rhoeo* also entgegengesetzt.

Diskussion der Versuchsergebnisse

Vergleichen wir die Kurvenbilder von *Spirogyra* und *Rhoeo*, so zeigt sich im ersten Bereiche ein gemeinsames Merkmal. Unter dem Einfluß von Fusarinsäure, im Konzentrationsbereich $1 \cdot 10^{-9}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter, wird bei beiden Objekten die Geschwindigkeit der Wasseraufnahme stark erhöht. Diese Steigerung ist ganz unerwartet, wurde doch festgestellt, daß die durch Welktoxine hervorgerufene Permeabilitätsschädigung mit zunehmender Verdünnung der Toxine verschwindet (GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN, 1952). Auffallend ist, daß die Steigerung der Wasseraufnahme bei beiden Objekten mit der durch Hetero-auxin hervorgerufenen Steigerung übereinstimmt (GUTTENBERG und BEYTHIEN, 1951; eigene Versuche an *Spirogyra* und *Rhoeo*).

GUTTENBERG und MEINL (1952) erklärten die durch Hetero-auxin ausgelöste Steigerung der Wasseraufnahme mit einer Plasmaquellung. Der Steigerung der Wasserpermeabilität geht eine Zunahme der Atmung parallel (LOOMIS und LIPMANN, 1948). Die Wirkung von Hetero-auxin ist an aerobe Versuchsbedingungen geknüpft (BRAUNER und HASMAN, 1952). Ob es sich bei der durch Fusarinsäure ausgelösten Steigerung der Aufnahmegeschwindigkeit von Wasser um eine ähnliche Erscheinung handelt, soll im Verlaufe der Arbeit weiter untersucht werden.

Fusarinsäure wirkt im zweiten Bereiche (Konzentrationen über $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter) verschieden auf die Wasserpermeabilität der beiden Objekte. Bei *Spirogyra* wird die Herabsetzung der Wasserpermeabilität später abgelöst von einem neuen Anstieg der Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser, der das erste Maximum weit übersteigt. Bei *Rhoeo* tritt in diesem Bereich nur eine Wirkung auf, nämlich eine Herabsetzung der Wasserpermeabilität. Beide Formen der Plasmaschädigung führen zur Koagulation des Protoplasmas und damit zum Tod der Zelle.

Diese Unterschiede in der Schädigung sind vielleicht damit zu erklären, daß die beiden Objekte nicht denselben Plasmatypes angehören (HÖFLER, 1950; COLLANDER und WIKSTRÖM, 1949). *Rhoeo* ist ein Vertreter des amidophoben Lösungstypes. *Spirogyra* hingegen gehört auf Grund ihrer Plasmadurchlässigkeit für Harnstoff und Methylharnstoff zum amidophilen Porentyp. Nach neueren Untersuchungen gehört auch *Solanum tuberosum* zu diesem Typ (COLLANDER und WIKSTRÖM, 1949). Auf Grund dieser Feststellung dürfen vielleicht Vergleiche gezogen werden zwischen dem Verhalten von *Solanum Lycopersicum* und *Spirogyra* gegenüber Fusarinsäure.

§ 2. Die Abhängigkeit der Permeabilitätsstörung von der Einwirkungszeit des Toxines

Bei den bisherigen Untersuchungen betrug die Toxineinwirkung 30 Minuten, in der Annahme, daß in dieser Zeit bereits eine maximale

Schädigung erreicht wird. Dies soll in einer weiteren Versuchsreihe überprüft werden. In der neuen Versuchsanordnung wurde die Einwirkungszeit des Toxines variiert. Sowohl bei *Spirogyra* als auch bei *Rhoec* wurden nur einige wichtige Toxinkonzentrationen geprüft.

Versuchsfrage:

Wie ist die Schädigung der Wasserpermeabilität, ausgelöst durch Fusarinsäure verschiedener Konzentration, von der Einwirkungszeit des Toxines abhängig?

Versuchsergebnisse:

Alle Versuche (Abb. 2 und 3) zeigen, daß die maximale Schädigung bei beiden Objekten schon innerhalb zehn Minuten erreicht wird. Eine längere Einwirkungszeit kann die Störung der

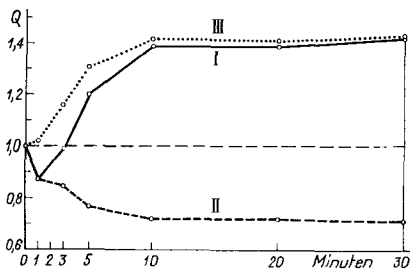


Abb. 2. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit. I = Fusarinsäure $2,5 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter. II = Fusarinsäure $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter. III = Fusarinsäure $1 \cdot 10^{-6}$ Mol/Liter. Abszisse: Einwirkungszeit in Minuten. Ordinate: Q-Werte

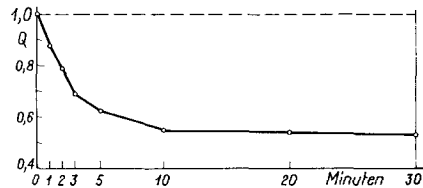


Abb. 3. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Rhoec* in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit. Fusarinsäure $1 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter. Abszisse: Einwirkungszeit in Minuten. Ordinate: Q-Werte

Wasserpermeabilität nicht mehr verändern; doch können durch eine längere Toxineinwirkung Mechanismen geschädigt werden, die sich nicht auf die Wasserpermeabilität auswirken. Das zeigt sich deutlich bei *Spirogyra*. Eine $2,5 \cdot 10^{-3}$ molare Lösung von Fusarinsäure bewirkt nach 10 Minuten die maximale Störung der Wasserpermeabilität. In diesem Zeitpunkt zeigen die Chloroplasten noch keine Schädigung. Erst bei längerer Einwirkungszeit treten auch hier Veränderungen auf. Bei *Rhoec* treten keine sichtbaren Schädigungen auf.

Eine $2,5 \cdot 10^{-3}$ molare Lösung von Fusarinsäure löst bei *Spirogyra* nach einer Minute genau dieselbe Störung der Wasseraufnahme aus wie eine $1 \cdot 10^{-4}$ molare Lösung. In beiden Fällen haben wir eine durch Fusarinsäure bedingte Herabsetzung der Wasserpermeabilität, die mit -13% eben noch statistisch gesichert ist. Erst bei längerer Einwirkung von Fusarinsäure ($2,5 \cdot 10^{-3}$ molar) steigt die Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser wieder an, erreicht nach drei Minuten wieder den Ausgangswert und nach zehn Minuten die

endgültige Höhe von + 40 %. Hier scheint es sich um mehrere Schädigungsmechanismen zu handeln, die sich gegenseitig überlagern. Offenbar besteht eine primäre Schädigung in einer Veränderung der äußern Plasmagrenzschicht (Herabsetzung der Wasserpermeabilität). Erst ein längeres Einwirken des Toxines ruft dann Schädigungen des Protoplasten hervor, die zu einer Erhöhung der Wasserpermeabilität führen.

§ 3. Die Abhängigkeit der Permeabilitätsstörung vom pH-Wert der Toxinlösung

GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL (1952) stellten fest, daß die Ausprägung der von Fusarinsäure ausgelösten Krankheitssymptome von der Wasserstoffionenkonzentration der Toxinlösung abhängig ist. Die Autoren zeigten, daß Fusarinsäure mit steigendem pH-Wert der Lösung stärker dissoziiert, und nehmen an, daß das dissoziierte Molekül nicht im gleichen Maße in die Zelle eindringen kann wie das undissoziierte Fusarinsäuremolekül. NAEF-ROTH und REUSSER (1955) stellten fest, daß auch die durch Fusarinsäure verursachte Störung des Gaswechsels (O_2 -Aufnahme und CO_2 -Abgabe) von Tomatenblattgewebe vom pH-Wert der Toxinlösung abhängig ist. Die durch eine Fusarinsäurelösung verursachte Schädigung sinkt mit steigendem pH-Wert der Lösung; die Schädigung ist also auch hier abhängig vom Dissoziationsgrad der Fusarinsäure. Die gleichen Beobachtungen konnten bei der Bäckerhefe, *Saccharomyces cerevisiae* Hans. gemacht werden (REUSSER und NAEF-ROTH, 1956).

Ein möglicherweise analoger Fall von selektivem Eindringungsvermögen zeigte HÖFLER (1952) am Beispiel der Vitalfärbung von Lebermoosen: die basischen Vitalfarbstoffe können nur als undissoziierte Moleküle durch das Plasma hindurch in die Vakuole eindringen. Die dissoziierten Farbstoffmoleküle werden schon vom Plasmalemma abgestoßen. Er schloß daraus, daß die undissoziierten Farbstoffmoleküle lipoidlöslich sind und auf dem Lipoidweg ins Plasma eindringen können. Die dissoziierten Farbstoffmoleküle sind als Ionen lipoidunlöslich und sind auf den Porenweg angewiesen.

Versuchsfrage:

Ist die schädigende Wirkung der Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoo*-Protoplasten vom pH-Wert der Testlösung abhängig?

Versuchsmethode:

Für *Spirogyra* (SEEMANN, 1949) und *Rhoo* (KACZMAREK, 1929) ist eine Abhängigkeit der Wasseraufnahme von der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung nachgewiesen. Bei beiden Objekten ergeben sich eingipflige Kurven, die ihr Maximum für *Spirogyra* bei $pH = 7$, für *Rhoo* bei pH 4,7 bis 5,2 erreichen. Die Geschwindigkeit der Wasseraufnahme fällt bei beiden Objekten nach der sauren und der alkalischen Seite hin ab. SEEMANN (1949) und KACZMAREK (1929) verwendeten für ihre Untersuchungen verschiedene Puffergemische (Phosphatpuffer nach SÖRENSEN, 1909, Citratpuffer

nach McILVAIN). Diese und andere Puffergemische (KLEIN, 1932) eigneten sich für unsere Untersuchungen nicht. Sie erwiesen sich als zu starke Plasma-gifte für die hier untersuchte Alge *Spirogyra*. Auch *Rhodo* litt unter der Pufferwirkung; der Protoplast plasmolysiert nicht mehr konvex. Dadurch werden die Voraussetzungen für die Wirkung von Fusarinsäure ganz wesentlich verändert. Die auf diese Art gewonnenen Versuchsergebnisse könnten nicht mit den bisherigen verglichen werden.

Um die Frage der pH-Abhängigkeit der Fusarinsäureschädigung trotzdem zu untersuchen, wurden die Testlösungen mit 0,1 n NaOH oder 0,1 n HCl auf den gewünschten pH-Wert eingestellt. Bezugswert für die Berechnung von Q war bei diesen Versuchen nicht mehr die Einwirkung von Wasser, sondern diejenige von destilliertem Wasser, das mit 0,1 n NaOH oder 0,1 n HCl auf den gleichen pH-Wert eingestellt wurde wie die Toxinlösung. Die pH-Werte wurden mit einem pH-Meßgerät eingestellt (Polymetron). Vor und nach dem Einlegen der Objekte wurde der pH-Wert der Testlösung bestimmt. Dabei zeigt es sich, daß *Spirogyra* die Testlösung leicht zu verändern vermag. Im pH-Bereich 4 bis 5 erhöht sie den pH-Wert (maximal 0,4 Einheiten), im pH-Bereich 6 bis 8 wird er leicht erniedrigt (maximal 0,4 Einheiten). Wurden die Epidermisschnitte von *Rhodo* direkt in die auf verschiedene pH-Werte eingestellten Testlösungen gelegt, so stellte sich innerhalb von 30 Minuten ein pH-Wert von 5,2 ein, dies ganz unabhängig davon, welchen pH-Wert die Lösung zu Beginn des Versuches hatte. Versuche zeigten, daß die Veränderung der pH-Werte der Testlösung durch den Inhalt der angeschnittenen Zellen verursacht wurde. Für diese Versuche wurden die Epidermisschnitte von *Rhodo* während 12 Stunden gewässert und erst nachher in die auf verschiedene pH-Werte eingestellten Testlösungen gebracht. Wie Voruntersuchungen zeigten, verändert

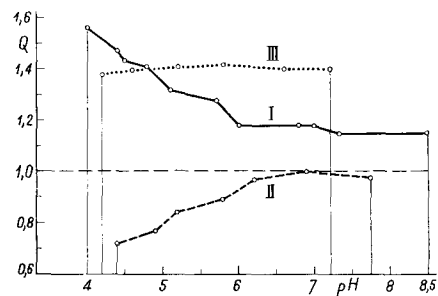


Abb. 4. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* in Abhängigkeit vom pH-Wert der Toxinlösung. I = Fusarinsäure $2,5 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter. II = Fusarinsäure $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter. III = Fusarinsäure $1 \cdot 10^{-6}$ Mol/Liter. Abszisse: pH-Wert der Toxinlösung. Ordinate: Q-Werte

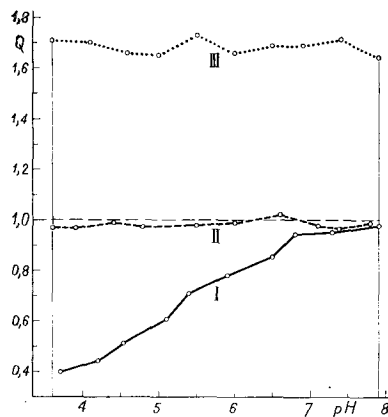


Abb. 5. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Rhodo* in Abhängigkeit vom pH-Wert der Toxinlösung. I = Fusarinsäure $1 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter. II = Fusarinsäure $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter. III = Fusarinsäure $1 \cdot 10^{-7}$ Mol/Liter. Abszisse: pH-Wert der Toxinlösung. Ordinate: Q-Werte

ein 12stündiges Wässern die Empfindlichkeit des Plasmas für Fusarinsäure nicht. Bei dieser Versuchsanordnung verschob sich der pH-Wert der Testlösung im Verlaufe der Toxineinwirkung nur noch um höchstens 0,2 Einheiten. In den Abbildungen ist der mittlere pH-Wert, aus Anfangs- und Endwert berechnet, eingetragen.

Versuchsergebnisse:

Die durch Fusarinsäure ausgelöste Schädigung der Wasserpermeabilität ist bei beiden Objekten im Konzentrationsbereich über $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter vom pH-Wert der Toxinlösung abhängig. Bei *Spirogyra* nimmt die Schädigung bei $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter mit steigendem pH-Wert ab und verschwindet bei pH 6. Die Schädigung einer $2,5 \cdot 10^{-3}$ molaren Toxinlösung kann durch steigende pH-Werte gedämpft, aber nicht zum Verschwinden gebracht werden. Auch bei *Rhoeo* geht die Drosselung der Aufnahmegeschwindigkeit des Wassers bedingt durch Fusarinsäure ($1 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter) mit steigendem pH-Wert der Toxinlösung zurück (Abb. 4 und 5).

Bei beiden Objekten ist die Veränderung der Wasseraufnahme, ausgelöst durch Fusarinsäure von Konzentrationen unter $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter, nicht vom pH-Wert der Testlösung abhängig, das heißt, der Dissoziationsgrad der Fusarinsäure ist nicht mehr ausschlaggebend. Es kann angenommen werden, daß bei so großer Verdünnung alle Fusarinsäuremoleküle dissoziiert sind, ganz unabhängig von pH-Wert der Toxinlösung. Die undissoziierten, leicht eindringenden Toxinmoleküle schädigen demnach das Protoplasma auf eine andere Art als die dissoziierten.

Die hier beschriebenen Versuchsergebnisse decken sich mit denen von NAEF-ROTH und REUSSER (1955) und REUSSER und NAEF-ROTH (1956) und bestätigen die Annahme von GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL (1952).

§ 4. Ist die Fusarinsäureschädigung bei *Spirogyra* und *Rhoeo* reversibel?

Die bisherigen Versuche ließen die Vermutung aufkommen, daß die sowohl bei *Spirogyra* als auch bei *Rhoeo* durch große Verdünnungen von Fusarinsäure ($1 \cdot 10^{-9}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter) ausgelöste Erhöhung der Wasserpermeabilität eine ähnliche Ursache hat wie die unter dem Einfluß von Hetero-auxin gleicher Konzentration auftretende Erhöhung der Wasserpermeabilität (GUTTENBERG und BEYTHIEN, 1951). Die durch Hetero-auxin hervorgerufene Erhöhung der Wasserpermeabilität ist reversibel; denn sie verschwindet nach einer gewissen Zeit wieder. 24 Stunden nach der Einwirkung von Hetero-auxin ist sie abgeklungen.

Es war nachzuprüfen, ob es sich bei der Erhöhung der Wasserpermeabilität durch Fusarinsäure (Konzentrationsintervall wie oben) um eine vorübergehende oder bleibende Schädigung handelt. Zwischen der Toxineinwirkung und dem Messen der Wasserpermeabilität wurde

das Testobjekt während 24 Stunden in Leitungswasser belassen, wie das auch bei den Versuchen mit Hetero-auxin der Fall war.

Versuchsergebnisse:

Tabelle 2 gibt die Versuchsergebnisse wieder. Sie zeigen, daß die Schädigung der Wasserpermeabilität durch Fusarinsäure, im Gegensatz zu Hetero-auxin, irreversibel ist.

Tabelle 2

Schädigung der Wasseraufnahme durch Fusarinsäure und Hetero-auxin unmittelbar nach der Toxineinwirkung und 24 Stunden später

Ablesezeit nach	Spirogyra Q-Werte			Rhoee Q-Werte			
	Fusarinsäure		Hetero-auxin	Fusarinsäure			Hetero-auxin
	$2,5 \cdot 10^{-3}$ m.	$1 \cdot 10^{-6}$ m.	$1 \cdot 10^{-7}$ m.	$1 \cdot 10^{-3}$ m.	$1 \cdot 10^{-5}$ m.	$1 \cdot 10^{-7}$ m.	$1 \cdot 10^{-7}$ m.
0 Stunden	1,41	1,42	1,62	0,53	1,03	1,71	1,85
24 Stunden	1,43	1,42	1,05	0,54	1,02	1,70	1,02

Diskussion der Versuchsergebnisse von Kapitel 2

Die durch Fusarinsäure ausgelöste Schädigung der Wasserpermeabilität kann am besten mit der Transpiration von vergifteten Tomatenpflanzen verglichen werden. GÄUMANN und JAAG (1947 a; 1950) unterscheiden im Verlaufe der Transpiration drei Phasen der Giftwirkung: eine Schockphase, eine Phase der Transpirationsübersteigerung und eine Lähmungsphase. Die Schockphase äußert sich in einer Drosselung der Wasseraufnahme und -abgabe unmittelbar nach Beginn der Toxineinwirkung. Auf diesen Schock folgt eine Phase der übersteigerten Transpiration, die von einer übersteigerten Wasseraufnahme begleitet sein kann. In der Lähmungsphase gehen Wasseraufnahme und -abgabe ständig zurück.

Bei der toxigenen Welke, ausgelöst durch Lycomarasin (GÄUMANN und JAAG, 1947) und Alternariasäure (GÄUMANN, KERN und SAUTHOFF, 1952), zeigt der Verlauf des Wasserhaushaltes von Tomatenpflanzen eine auffallende Übereinstimmung mit der bei *Spirogyra* durch Fusarinsäure ausgelösten Schädigung der Wasserpermeabilität. Die Transpirationskurve nimmt bei Vergiftung der Tomatenpflanze mit Fusarinsäure einen ganz ähnlichen Verlauf (mündliche Mitteilung von Dr. H. KERN).

Eine $2,5 \cdot 10^{-3}$ molare Fusarinsäurelösung ruft bei *Spirogyra* innerhalb einer Minute eine Drosselung der Wasserpermeabilität hervor, die bei längerer Toxineinwirkung durch eine Erhöhung der Wasserpermeabilität abgelöst wird. Ausdehnung der Toxineinwirkung auf über eine Stunde führt zur Koagulation des Plasmas und damit zum Absterben der Zelle (vgl. Abb. 2, I).

Dieser zeitliche Ablauf der Permeabilitätsstörung kann vielleicht einen Hinweis auf die Erklärung der Schockphase geben. Versuche mit Eosin

zeigten, daß sich ein in Wasser gelöster Stoff, wird er von der Pflanze aufgenommen, sehr rasch über die ganze Pflanze ausbreitet (GÄUMANN und JAAG, 1947). Das Toxin hat demnach alle Teile der Pflanze erreicht, lange bevor die Schockphase durch eine Übersteigerung des Wasserumsatzes abgelöst wird.

In beiden erwähnten Fällen (Transpiration einer vergifteten Tomatenpflanze und Störung der Wasserpermeabilität bei *Spirogyra*) handelt es sich um eine Herabsetzung der Wasseraufnahme und -abgabe. Da diese mit dem Beginn der Toxineinwirkung auftritt, muß sie durch eine Reaktion der Toxine an den äußern Plasmagrenzschichten ausgelöst sein. Sie kann ihre Ursache in einem rein physikalischen Verstopfen der Plasmagrenzschichten oder in einer Schädigung von Stoffwechselforgängen haben, die an der Oberfläche des Protoplasten ablaufen und den Wasserhaushalt der Zelle kontrollieren.

Auf die Herabsetzung der Wasseraufnahme und -abgabe folgt bei beiden Objekten eine Übersteigerung derselben, die aber erst nach längerer Toxineinwirkung auftritt. Lange Einwirkungszeiten machen es möglich, daß sich die Toxinmoleküle in der Zelle anhäufen, das Plasma in der Tiefe schädigen und die Wasserpermeabilität stören. Ob die von LINSKENS (1955) nachgewiesene Lyse von Proteinen die Permeabilität der Protoplasten verändert, oder ob noch andere Schädwirkungen als Ursache auftreten, konnte im Verlaufe dieser Untersuchungen nicht abgeklärt werden.

Kann eine $2,5 \cdot 10^{-3}$ molare Toxinlösung länger als eine Stunde auf *Spirogyra* einwirken, so koaguliert der Protoplast, und die Zelle stirbt ab. Dasselbe gilt wohl auch für die vergiftete Tomatenpflanze. Eine große Zahl von abgestorbenen Zellen wird als Nekrose sichtbar.

In der Lähmungsphase gehen Wasseraufnahme und -abgabe ständig zurück, wobei die Wasserabgabe immer über der Wasseraufnahme liegt. Diese Erscheinung kann wohl damit erklärt werden, daß immer größere Gewebestücke der Pflanze abgestorben sind und kein Wasser mehr umsetzen.

Bei *Rhoeo* führt nicht, wie bei *Spirogyra*, eine Erhöhung der Wasserpermeabilität, sondern eine Herabsetzung derselben zum Absterben der Zelle. Auch bei diesem Objekt darf eine vom Tonoplasten her in die Tiefe fortschreitende Schädigung angenommen werden, da unter dem Einfluß von Toxinkonzentrationen über $5 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter immer häufiger Protoplasten im Verlaufe der Deplasmolyse platzen. Die innere Plasmamembran (Tonoplast) ist in diesem Falle noch weniger geschädigt als das Mesoplasma und das Plasmalemma. Diese beiden Plasmaschichten reißen in hypotonischen Lösungen, da sie die Ausdehnung des Tonoplasten nicht mehr mitmachen können.

Die hier beschriebene Störung der Wasserpermeabilität durch Fusarinsäure ist sicher eine Ursache für das Auftreten von Nekrosen an vergifteten Pflanzen, doch kann auch sie nicht den ganzen Vorgang der Giftwirkung erklären.

3. KAPITEL

Der Einfluß einiger mit Fusarinsäure verwandter Pyridinderivate auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoco*-Protoplasten

1. Pyridinderivate mit verschiedenartigen Seitenketten

GÄUMANN, NAEF-ROTN und KOBEL (1952) prüften bei ihren Untersuchungen über die Fusarinsäure auch chemisch verwandte Stoffe auf ihre toxische Wirkung auf Tomatensprosse. So wurden neben Fusarinsäure (5 n-Butylpyridin-2-carbonsäure) α -Picolinsäure (Pyridin-2-carbonsäure), 5-Äthyl-pyridin-2-carbonsäure, 5 n-Hexyl-pyridin-2-carbonsäure und Nicotinsäure (Pyridin-3-carbonsäure) dem Welketest unterworfen. Die Ergebnisse zeigten, daß die dosis minima für Tomatensprosse mit zunehmender Länge der Seitenkette am Pyridinring steigt, die Giftigkeit also abnimmt. Bei Nicotinsäure liegt die dosis minima bedeutend höher als bei den andern geprüften Pyridin-derivaten.

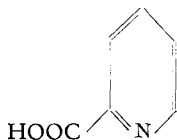
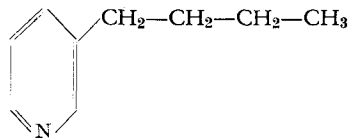
§ 5. Pyridin, α -Picolinsäure und 3 n-Butyl-pyridin

SANWAL (1956) konnte nachweisen, daß die der Pflanze applizierte Fusarinsäure innert kürzester Frist verändert wird. Verabreichte er der Pflanze Fusarinsäure, die in der Säuregruppe mit einem radioaktiven C-Atom markiert ist, so zeigte sich, daß etwa 10 % davon innert weniger Stunden dekarboxyliert werden. Als mögliches Abbauprodukt vermutete er 3 n-Butyl-pyridin; doch gelang es bis jetzt noch nicht, 3 n-Butyl-pyridin in der Pflanze nachzuweisen.

Im vorliegenden Versuch soll deshalb der Einfluß verschiedener Spaltprodukte von Fusarinsäure, nämlich Pyridin, α -Picolinsäure und 3 n-Butyl-pyridin, auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoco*-Protoplasten untersucht werden. Die Versuchsanordnung ist dieselbe wie bisher.



Pyridin

 α -Picolinsäure

3 n-Butyl-pyridin

Versuchsfrage:

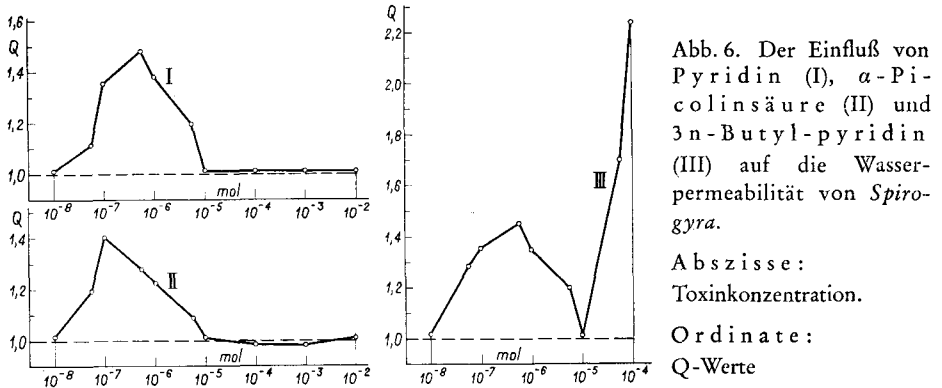
Wie beeinflussen Pyridin, α -Picolinsäure und 3 n-Butyl-pyridin die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoco*-Protoplasten?

Versuchsergebnisse:

Spirogyra:

Pyridin: Wie der Verlauf der Plasmaschädigung zeigt (Abb. 6, I), kann Pyridin die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* nur in sehr großer Verdünnung verändern. Pyridin in

Konzentrationen zwischen $1 \cdot 10^{-8}$ und $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter vermag die Wasserpermeabilität in demselben Maße zu erhöhen, wie das auch bei Fusarinsäure der Falle ist. Die Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser erreicht bei $5 \cdot 10^{-7}$ Mol/Liter mit + 48 % ihr Maximum. Unter dem Einfluß von höheren Konzentrationen hingegen verändert sich die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*-Protoplasten nicht.



α -Picolinsäure: Die durch α -Picolinsäure verursachte Änderung der Wasserpermeabilität entspricht genau derjenigen von Pyridin (Abb. 6, II). Unter dem Einfluß von α -Picolinsäure tritt im Konzentrationsbereich $1 \cdot 10^{-8}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter eine Beschleunigung der Wasseraufnahme auf, die bei $1 \cdot 10^{-7}$ Mol/Liter mit + 40 % ihr Maximum erreicht. Eine Wirkung höherer Konzentrationen von α -Picolinsäure auf die Wasserpermeabilität ist nicht festzustellen.

3 n-Butyl-pyridin: Wie aus Abbildung 6, III hervorgeht, verändert 3 n-Butyl-pyridin die Wasseraufnahme von *Spirogyra*-Protoplasten in ganz ähnlicher Art wie Fusarinsäure. Unter der Einwirkung von Konzentrationen zwischen $1 \cdot 10^{-8}$ und $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter tritt, wie das bei Fusarinsäure und den andern bisher geprüften Pyridinderivaten der Fall ist, eine Beschleunigung der Wasseraufnahme auf, die bei $5 \cdot 10^{-7}$ Mol/Liter mit + 45 % das Maximum erreicht. Wird die Konzentration von 3 n-Butyl-pyridin über $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter erhöht, so tritt als Folge der Vergiftung eine erneute starke Erhöhung der Wasserpermeabilität auf, die bei $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter + 125 % beträgt. Wird das Testobjekt höheren Toxinkonzentrationen ausgesetzt, so koagulieren die Protoplasten.

Im Verlaufe der ersten Permeabilitätsstörung, die unter dem Einfluß von Konzentrationen zwischen $1 \cdot 10^{-8}$ und $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter auftritt, ist bei keinem der bis jetzt geprüften Pyridinderivate eine Veränderung der Chloroplasten wahrzunehmen. Bei Versuchen mit Pyridin und α -Picolinsäure ergibt sich auch bei höheren Konzentrationen keine sichtbare Schädigung. Bei der Verwendung von 3 n-Butyl-pyridin hingegen verfärbten sich die Chloroplasten unter der Einwirkung von höheren Konzentrationen, werden gelb,

dann hellbraun und können sich nicht mehr mit dem Protoplasten bis zur Zellwand ausdehnen.

Rhoeo:

Pyridin: Pyridin (Abb. 7, I) steigert bei *Rhoeo* die Wasserpermeabilität im Konzentrationsbereich $1 \cdot 10^{-8}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter. Das Maximum von + 85 % wird durch die Einwirkung einer $1 \cdot 10^{-7}$ molaren Toxinlösung erreicht. Beiderseits fällt die Kurve steil ab. Die Wasseraufnahme von *Rhoeo*-Protoplasten wird durch Konzentrationen über $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter gegenüber den Kontrollen nicht verändert.

α -Picolinsäure: α -Picolinsäure bewirkt bei *Rhoeo* die gleichen Veränderungen der Wasserpermeabilität wie Pyridin (Abb. 7, II). Das Maximum von + 90 % wird durch eine $1 \cdot 10^{-7}$ molare Lösung hervorgerufen.

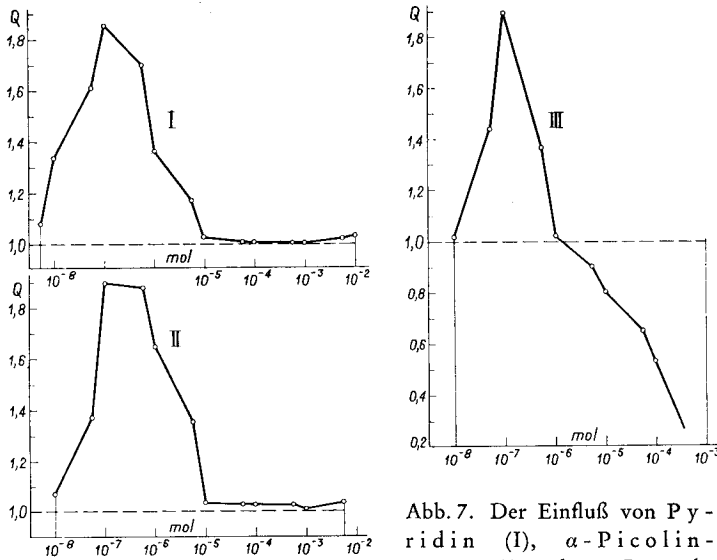
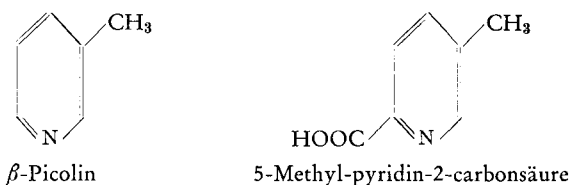


Abb. 7. Der Einfluß von Pyridin (I), α -Picolinsäure (II) und 3n-Butylpyridin (III) auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*. Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

3n-Butylpyridin: Abbildung 7, III, zeigt, daß im Bereiche kleiner Toxinkonzentrationen die Kurve gleich verläuft wie bei den andern geprüften Substanzen. Unter dem Einfluß von Konzentrationen über $1 \cdot 10^{-6}$ Mol/Liter hingegen wird die Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser stark herabgesetzt. Die Drosselung erreicht bei einer Toxinkonzentration von $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter — 20 %, bei einer $1 \cdot 10^{-4}$ molaren 3n-Butylpyridinlösung — 47 %. Wird die Konzentration von 3n-Butylpyridin weiter erhöht, so wird die Herabsetzung der Wasseraufnahme und -abgabe so stark, daß die Protoplasten sichtbar geschädigt sind. Nur ein Teil der Protoplasten kann noch plasmolysieren; der Vorgang ist aber irreversibel.

§ 6. β -Picolin und 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure

Versuchsreihe 5 führt auf die Vermutung, daß die n-Butyl-Gruppe in β -Stellung der für die Protoplasten von *Rhoeo* und *Spirogyra* giftige Bestandteil des Fusarinsäuremoleküls ist. Die Aufgabe dieser Versuchsreihe ist es, diese Frage weiter zu verfolgen. Zu diesem Zwecke werden noch andere Substanzen, β -Picolin und 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure, auf ihre Einwirkung auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoeo*-Protoplasten untersucht. Die beiden Substanzen unterscheiden sich dadurch von 3-n-Butyl-pyridin und Fusarinsäure, daß die n-Butyl-gruppe durch eine Methyl-gruppe ersetzt worden ist.



Versuchsfrage:

Wie beeinflussen β -Picolin und 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoeo*-Protoplasten?

Versuchsergebnisse:

Wie Abb. 8 und 9 zeigen, vermögen weder β -Picolin (Kurve I) noch 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure (Kurve II) in Konzentrationen über $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter die Wasserpermeabilität der beiden Testobjekte zu verändern.

Diskussion der Versuchsergebnisse:

Vergleichen wir die Ergebnisse der fünften und sechsten Versuchsreihe mit jenen von Fusarinsäure, so läßt sich folgendes festhalten:

1. Toxinkonzentrationen zwischen $1 \cdot 10^{-8}$ und $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter lösen bei allen bisher geprüften Pyridinderivaten eine Erhöhung der Wasserpermeabilität aus. Diese ist durch den Pyridinring allein bedingt; denn Pyridin kann sowohl bei *Spirogyra* als auch bei *Rhoeo* innerhalb dieser Konzentrationen genau dieselbe Reaktion hervorrufen. In den geprüften Substanzen bildet der Pyridinring das Grundgerüst. Es wäre zu prüfen, ob diese Wirkung durch das im Ring enthaltene Stickstoffatom verursacht wird. Als vergleichende Modells-substanzen könnten Benzol, Pyran und Thiopyran herangezogen werden.

2. Die Säuregruppe in α -Stellung hat auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* und *Rhoeo* keinen Einfluß. Ob das allgemein für eine Säuregruppe am Pyridinring gilt, läßt sich aus diesen und den mit Nicotinsäure und Iso-nicotinsäure ausgeführten Versuchen, über die an anderer Stelle berichtet werden soll, nichts aussagen.

3. Die *n*-Butyl-gruppe in β -Stellung ist nach den bisherigen Versuchen die Gruppe des Fusarinsäuremoleküls, die den Protoplasten bei höheren Konzentrationen schädigt. 3*n*-Butyl-pyridin löst bei beiden Objekten im Bereiche von Konzentrationen über $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter dieselbe Veränderung der Wasserpermeabilität aus wie Fusarinsäure (vergleiche Abb. 1). Da die Säuregruppe in α -Stellung in diesem Konzentrationsbereich die Wasserpermeabilität bei beiden Ob-

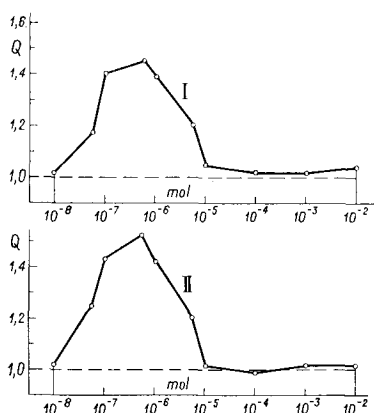


Abb. 8. Der Einfluß von β -Picolin (I) und 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure (II) auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*. Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

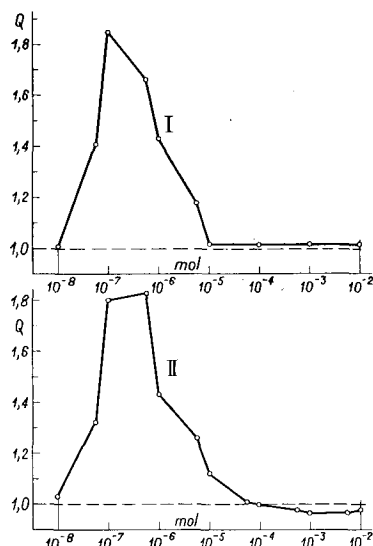


Abb. 9. Der Einfluß von β -Picolin (I) und 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure (II) auf die Wasserpermeabilität von *Rhoococcus*. Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

jekten nicht verändert, kann die durch Fusarinsäure ausgelöste Schädigung der Wasserpermeabilität nur durch die *n*-Butyl-gruppe in β -Stellung bedingt sein. Die Versuche mit β -Picolin und 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure (Abb. 8 und 9) bestätigen diese Vermutung. Wird bei Fusarinsäure die *n*-Butyl-gruppe durch eine Methyl-gruppe ersetzt, so tritt in Konzentrationen über $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter keine Schädigung der Wasserpermeabilität mehr auf. Dasselbe Resultat erhalten wir, wenn bei 3*n*-Butyl-pyridin die *n*-Butyl-gruppe durch eine Methyl-gruppe ersetzt ist. Diese Tatsache stimmt mit den von SANWAL (1956) aufgestellten Vermutungen überein, wonach nicht die Fusarinsäure, sondern das durch Decarboxylierung entstandene 3*n*-Butyl-pyridin das eigentliche toxische Produkt ist. Ob dabei die Stellung der *n*-Butyl-gruppe am Ring von Bedeutung ist, konnte nicht untersucht werden.

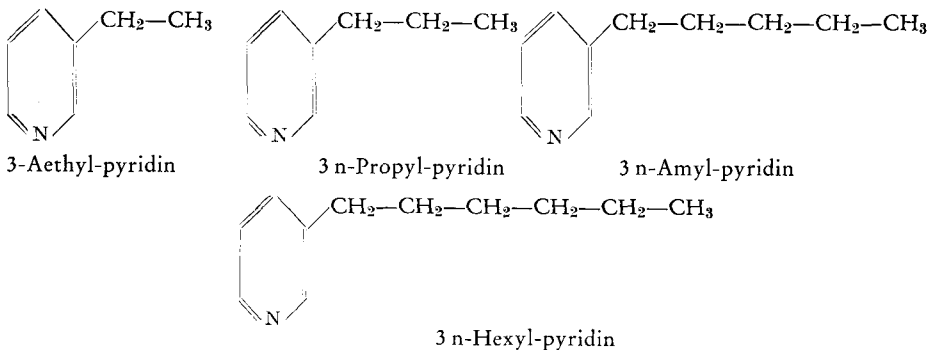
2. Pyridinderivate mit verschieden langer Seitenkette in β -Stellung

§ 7. Die Abhängigkeit der biologischen Aktivität von Pyridin-Derivaten von der Länge der aliphatischen Seitenkette in β -Stellung

Die bisherigen Versuche zeigten, daß die n-Butyl-gruppe in β -Stellung der Bestandteil des Fusarinsäuremoleküls ist, der die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* und *Rhoëo* in höheren Konzentrationen verändert. Abb. 8 und 9 haben gezeigt, daß die Giftigkeit der Fusarinsäure verschwindet, wenn die n-Butyl-gruppe durch eine Methyl-gruppe ersetzt wird. Die Vermutung lag deshalb nahe, daß die Toxizität der Pyridin-monocarbonsäure mit zunehmender Länge der aliphatischen Seitenkette in β -Stellung steigt. In der folgenden Versuchsreihe soll diese Frage abgeklärt werden. Die für diese Versuchsreihe benötigten Substanzen wurden mir in liebenswürdiger Weise von Herrn Dr. E. HARDEGGER vom Organisch-chemischen Institut der E.T.H. hergestellt.

Versuchsfrage:

Wie beeinflussen 3-Aethyl-pyridin, 3 n-Propyl-pyridin, 3 n-Amyl-pyridin und 3 n-Hexyl-pyridin die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoëo*-Protoplasten?



V Versuchsergebnisse:

Die Ergebnisse zeigen deutlich, daß mit zunehmender Länge der aliphatischen Seitenkette in β -Stellung die Schädigung der Wasserpermeabilität der beiden Objekte unter dem Einfluß einer bestimmten höheren Toxinkonzentration stark zunimmt. Die Ergebnisse von Pyridin, β -Picolin und 3 n-Butyl-pyridin sind schon vorher besprochen worden (Abb. 6, I und III; Abb. 7, I und III; Abb. 8, I; Abb. 9, I). In Abb. 10 sind jene Konzentrationen eingetragen, unter deren Einwirkung bei *Spirogyra* (Kurve I) die Erhöhung der Wasserpermeabilität mehr als + 100 %, bei *Rhoëo* (Kurve II) der Rückgang der Wasserpermeabilität mehr als - 40 % ausmacht. Bei *Spirogyra* nimmt die Giftigkeit mit steigender Zahl von C-Atomen in der Seitenkette von Methyl- bis n-Hexyl-pyridin konstant zu. Bei *Rhoëo* hingegen steigt die Toxizität nur bis zur Butyl-Gruppe (4 C-Atome) und bleibt bei n-Amyl- und n-Hexyl-

pyridin konstant. Offenbar wird bei *Rhoeo* mit der n-Butyl-Gruppe ein Maximum der Schädigung erreicht. Bei *Spirogyra* hingegen scheint das Maximum an Schädigung mit 6 C-Atomen in der aliphatischen Seitenkette noch nicht erreicht zu sein.

3. Schädigt Fusarinsäure die Wasserpermeabilität durch die Bildung von Metallchelaten?

Japanische Forscher (TAMARI und KAJI, 1952) berichteten, daß die Wirkung veresterter Fusarinsäure auf die Katalase- und Peroxydase-Aktivität auf einen kleinen Bruchteil absinkt, verglichen mit der Wirkung von Fusarinsäure. Auf Grund dieser Ergebnisse vermuteten sie, daß die Schädigung der pflanzlichen Zelle durch eine Chelatbildung der Fusarinsäure zustande kommt. Sie nahmen an, daß die Fusarinsäure mit den Schwermetallionen der Enzyme Komplexe bilde, sie damit dem betreffenden Enzym entziehe und so dieses inaktiviere. DEUEL (1955) spricht der Fusarinsäure und anderen Pyridincarbonsäuren ein starkes Komplexbildungsvermögen zu. Durch die Veresterung der Säuregruppe wird die Chelatbildung unmöglich. Meine bisherigen Versuche schließen einen Einfluß der Komplexbildung auf die Wasserpermeabilität nicht aus, machen ihn aber sehr unwahrscheinlich. Versuche mit α -Picolinsäure zeigten ja, daß die Säuregruppe in α -Stellung die Wasserpermeabilität bei keinem der beiden Objekte beeinflusst (vgl. Abb. 6 und 7); doch ist bis jetzt nicht erklärlich, warum Fusarinsäure die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* im Konzentrationsbereich $1 \cdot 10^{-5}$ bis $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter nicht verändert.

§ 8. Fusarinsäure-äthylester

In einem weiteren Versuch wird der Einfluß von Fusarinsäure-äthylester auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten untersucht.

Versuchsfrage:

Wie beeinflusst Fusarinsäure-äthylester die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten?

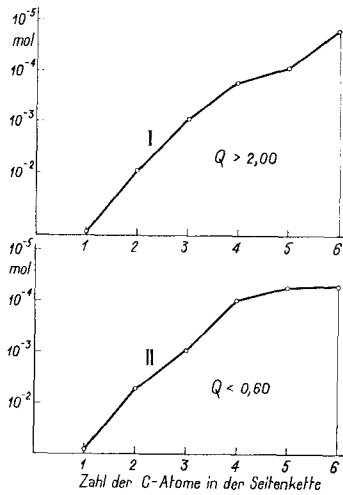
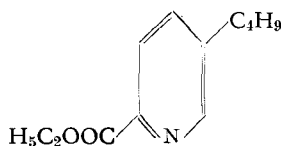


Abb. 10. Die Abhängigkeit der biologischen Aktivität von Pyridinderivaten von der Länge der aliphatischen Seitenkette in β -Stellung. Abszisse: Anzahl der C-Atome der aliphatischen Seitenkette. Ordinate: Kurve I: Toxinkonzentration, bei der die Q-Werte von *Spirogyra* über 2,00 liegen. Kurve II: Toxinkonzentration, bei der die Q-Werte von *Rhoeo* unter 0,60 liegen

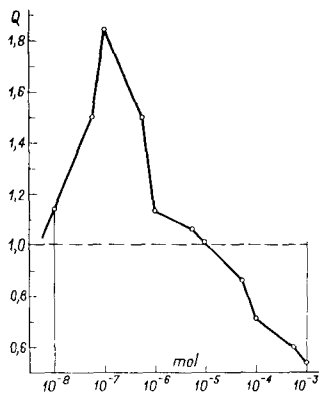


Abb. 11. Der Einfluß von Fusarinsäure-äthylester auf die Wasserpermeabilität von *Rhoë*. Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

Versuchsergebnisse:

Das Versuchsergebnis ist in Abbildung 11 dargestellt. Das Ausmaß der durch Fusarinsäure-äthylester verursachten Drosselung der Wasseraufnahme liegt genau zwischen der durch Fusarinsäure und der durch 3n-Butyl-pyridin ausgelösten Drosselung (vgl. Abb. 1 und 7). Die Einwirkung einer möglichen Chelatbildung auf die Wasserpermeabilität kann deshalb weder verneint noch bejaht werden.

Andererseits lassen am gleichen Objekt ausgeführte Versuche mit Lycomarasmin und Komplexon III vermuten, daß das Komplexbildungsvermögen der Toxine keinen Einfluß auf die Wasserpermeabilität hat (über die Ergebnisse dieser Versuche wird später berichtet).

Diskussion der Versuchsergebnisse von Kapitel 3

Die bisherigen Versuche bestätigen die von SANWAL (1956) geäußerte Vermutung, wonach 3n-Butyl-pyridin das eigentliche Toxin ist, das in der Pflanze durch Decarboxylierung der Fusarinsäure entsteht. Die n-Butyl-gruppe in β -Stellung ist die einzige Gruppe des Fusarinsäuremoleküls, die in Konzentrationen über $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter die Wasserpermeabilität der beiden Objekte schädigt. Weder der Pyridinring noch die Säuregruppe in α -Stellung vermögen die Wasserpermeabilität in diesem Konzentrationsbereich zu verändern. Vergleicht man die in diesem Konzentrationsbereich durch Fusarinsäure (Abb. 1) und 3n-Butyl-pyridin (Abb. 6, III und 7, III) ausgelösten Schädigungen der Wasserpermeabilität, so ist 3n-Butyl-pyridin rund 100mal giftiger als Fusarinsäure; es ist dies eine Differenz in der Toxizität, die niemals mit der Dissoziation der Fusarinsäure erklärt werden kann.

OVERTON (1895) weist darauf hin, daß ein Stoff die Plasmamembran um so besser durchdringt, je lipophiler er ist. 3n-Butyl-pyridin ist bedeutend schlechter wasserlöslich als Fusarinsäure; es kann nur mit Hilfe von Äthanol in Wasser gelöst werden. Die erhöhte Lipoidlöslichkeit von 3n-Butyl-pyridin im Vergleiche zu Fusarinsäure ermöglicht es vielleicht diesem Stoff, schneller in die Zelle einzudringen und den Protoplasten zu schädigen, als dies für Fusarinsäure der Fall ist. Genaue Angaben darüber können aber weder mit *Spirogyra* noch mit *Rhoë* erhalten werden.

OVERTONS Lipoidtheorie kann vielleicht auch einen Hinweis darauf geben, warum Pyridin-homologe die Wasserpermeabilität der

beiden Objekte mit zunehmender Länge der aliphatischen Seitenkette stärker schädigen. Mit zunehmender Länge der aliphatischen Seitenkette steigt die Lipoidlöslichkeit der Substanzen und parallel dazu das Eindringungsvermögen. Auch in diesem Falle kann aber keine sichere Aussage gemacht werden, da die Anzahl der ins Plasma eingedrungenen Moleküle nicht bestimmt werden kann.

4. KAPITEL

Der Einfluß von Fusarinsäure auf die nicht-osmotische Stoffaufnahme

Die quantitative Auswertung von Plasmolyse- und Deplasmolyseversuchen erfolgt nach der osmotischen Zustandsgleichung

$$G = \frac{O}{C}$$

G = Plasmolysegrad der Zelle
 O = osmotischer Wert des Zellsaftes
 C = osmotischer Wert des Plasmolytikums

Untersuchungen von BOGEN (1950), BOGEN und PRELL (1953) und PRELL (1953) zeigten, daß der Plasmolysegrad G einer Zelle durch das Verhältnis O/C nicht genügend definiert ist. Der theoretisch berechnete und experimentell gemessene Plasmolysegrad und die daraus bestimmbaren Permeabilitätskonstanten deckten sich in keinem der von ihnen geprüften Fälle. Die Differenzen führten zur Aufdeckung eines „osmotisch nicht veränderlichen Volumenanteils“ und ließen vermuten, daß neben der osmotischen Stoffaufnahme auch noch andere, von BOGEN (1950) als meta- und nicht-osmotisch bezeichnete Aufnahmemechanismen vorhanden sein müssen. Ähnliche Prozesse vermutete LUNDEGÄRDH (1950) bei der Ionenaufnahme. REINDERS (1942) und HACKETT und THIMANN (1950; 1952) diskutierten die Existenz nichtosmotischer Potentiale bei der Steigerung der Wasserpermeabilität durch Hetero-auxin.

BOGEN und PRELL (1953) teilten die Stoffaufnahme in mindestens drei Komponenten auf:

1. Osmotische Stoffaufnahme

Sie stellt die rein permeatorische Stoffaufnahme, ausgelöst durch eine Konzentrationsdifferenz beiderseits der Plasmagrenzschichten, dar, wobei alle aufgenommenen Substanzen an der Einstellung des osmotischen Gleichgewichtes beteiligt sind.

2. Meta-osmotische Stoffaufnahme

Bei der meta-osmotischen Stoffaufnahme handelt es sich um Vorgänge, die nach dem osmotischen Stoffeintritt in die Vakuole ablaufen. Durch Adsorption und chemische Bindung der aufgenommenen Stoffe an Kolloide in der Vakuole und Plasmaproteine des Tonoplasten werden diese dem osmotischen Gleichgewicht entzogen. In diesem Moment stehen sie beim Ausgleich des osmotischen Konzentrationspotentials nicht mehr zur Verfügung und müssen ständig ersetzt werden.

Dieser Vorgang entspricht keinem neuen Aufnahmemechanismus; die Bezeichnung meta-osmotisch ist deshalb nicht richtig. Durch die Bindung osmotisch wirksamer Substanzen wird ja bloß die Potentialdifferenz erhöht und damit der gewöhnliche osmotische Austausch gefördert.

3. Nicht-osmotische Stoffaufnahme

Transportmechanismus ist nicht die Diffusion, sondern ein System von „carrier“-Molekülen (GOLDACRE, 1952). Dabei werden die aufzunehmenden Moleküle vorübergehend an Proteine gebunden und so ins Zellinnere gebracht. Für die nicht-osmotische Stoffaufnahme ist Energie nötig, die durch Stoffwechselforgänge geliefert werden muß. Der Transport kann in diesem Falle auch gegen ein Konzentrationsgefälle erfolgen. Ionen (LUNDEGÅRDH, 1950), Anelektrolyte (LE FÈVRE und LE FÈVRE, 1950) und Wasser (HACKETT und THIMANN, 1950) können auf diesem Wege aufgenommen werden.

In einer weiteren Arbeit versuchte BOGEN (1953) abzuklären, welche Enzymsysteme des Stoffwechsels an der nicht-osmotischen Aufnahme von Wasser beteiligt sind. Er stützte sich dabei auf die von HACKETT und THIMANN (1952) angestellten Untersuchungen über den Einfluß von Heteroauxin auf die Wasseraufnahme von pflanzlichem Speichergewebe. Zu diesem Zwecke setzte er dem Plasmolytikum nach Beginn der Plasmolyse Stoffwechselfgifte zu und beobachtete das weitere Verhalten der Protoplasten. Veränderte sich der Protoplast, so zeigte das, daß die durch das Blockierungsmittel inaktivierte Gruppe von Enzymsystemen an der nicht-osmotischen Wasseraufnahme und -abgabe beteiligt ist.

Im vorliegenden Kapitel wird untersucht, ob die nicht-osmotische Wasseraufnahme durch Fusarinsäure beeinflusst wird. Zu diesem Zwecke wurden bei *Rhoeo* mit Stoffwechselfgiften, wie sie in der Enzymforschung verwendet werden, die gewünschten Enzymgruppen blockiert. Nachher wurden die Zellen der Einwirkung verschiedener Toxinkonzentrationen ausgesetzt. Erst jetzt wurde die Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser bestimmt. Verschwindet bei diesem Vorgehen ein Teil der bekannten Toxinwirkung, so kann daraus geschlossen werden, daß in diesem Konzentrationsbereich ein Einfluß des Toxines auf die blockierte Enzymgruppe vorhanden ist. Daß Fusarinsäure die nicht-osmotische Stoffaufnahme beeinflusst, war anzunehmen, da NAEF-ROTH und REUSSER (1955) und REUSSER und NAEF-ROTH (1956) zeigten, daß Fusarinsäure den Gaswechsel sowohl von Tomatenblattgewebe als auch von Bäckerhefe zu hemmen vermag.

§ 9. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Cytochrom-Oxydase

Natriumazid hemmt oxydative Fermente, die Eisen als Katalysator enthalten. HOFFMANN-OSTENHOFF (1954) und BOGEN (1953) geben an, daß speziell die Cytochrom-Oxydase durch Natriumazid blockiert werde. Es ist aber noch nicht abgeklärt, ob Natriumazid auf ungeschädigte Pflanzenzellen ebenso spezifisch wirkt wie

auf Enzympräparate. BOGEN (1953) zeigte, daß Natriumazid $1 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* und *Taraxacum* erhöht, und schloß daraus, daß die Atmung an der nicht-osmotischen Wasseraufnahme mitbeteiligt ist.

Um für unsere Versuche Vergleichswerte zu erhalten, wurde mit der bisher angewandten Methode der Einfluß von Natriumazid verschiedener Konzentration auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* untersucht.

Tabelle 3
Einfluß von Natriumazid auf die Wasserpermeabilität
von *Rhoeo*

NaN ₃ Konzentration Mol/Liter	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-5}$
Q-Werte	2,13	1,77	1,54	1,32	1,04	1,07	1,02

Die in Tabelle 3 angegebenen Werte stellen die Mittelwerte aus vier Parallelversuchen dar. Wie die Versuchsergebnisse zeigen, steigert Natriumazid in höheren Konzentrationen die Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser und führt bei Einwirkung von Konzentrationen über $1 \cdot 10^{-2}$ Mol/Liter durch Koagulation des Plasmas zum Zelltod.

Versuchsfrage:

Ändert eine vorausgehende Blockierung der Cytochrom-Oxydase durch Natriumazid die bekannte Wirkung von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten?

Methode:

Für die Versuche wird eine $1 \cdot 10^{-3}$ molare Lösung von Natriumazid verwendet, die eine Erhöhung der Wasserpermeabilität von + 50 % hervorruft. Die Schnitte der Blattepidermis von *Rhoeo* werden zuerst für 30 Minuten in eine $1 \cdot 10^{-3}$ molare Lösung von Natriumazid gelegt und erst nachher dem Einfluß der Fusarinsäure verschiedener Konzentration ausgesetzt. Ein Teil der mit Natriumazid behandelten Schnitte wird als Kontrolle verwendet.

Versuchsergebnisse:

Abbildung 12, I zeigt, wie die Wirkung der Fusarinsäure durch die Blockierung der Cytochrom-Oxydase beeinflusst wird. Die erhöhte Geschwindigkeit der Wasseraufnahme, ausgelöst durch Konzentrationen von $1 \cdot 10^{-8}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter, bleibt in vollem Umfange erhalten. Dagegen verschwindet die durch höhere Konzentrationen bedingte Drosselung der Wasserpermeabilität vollständig. Sogar nach der Einwirkung einer Toxinkonzentration von $5 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter beträgt die Differenz der Wasserpermeabilität gegenüber der Kontrolle nur - 4 %.

Stimmt die vorher aufgestellte Hypothese, wonach die unter dem Einfluß hoher Fusarinsäurekonzentrationen festgestellte Herabsetzung der Wasserpermeabilität durch die n-Butyl-gruppe bedingt ist, so ist zu erwarten, daß nach Blockierung

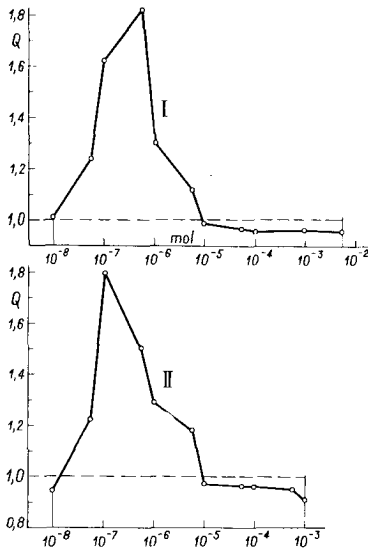


Abb. 12. Der Einfluß von Fusarinsäure (I) und 3n-Butyl-pyridin (II) auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* nach Blockierung der Cytochrom-Oxydase mit Hilfe von Natriumazid ($1 \cdot 10^{-3}$ Mol/Liter). Abszisse: Toxin-konzentration. Ordinate: Q-Werte

daß nach Blockierung der Cytochrom-Oxydase auch die durch 3n-Butyl-pyridin in hohen Konzentrationen verursachte Drosselung der Wasserpermeabilität verschwindet (beide aliphatischen Seitenketten sind gleich).

Abbildung 12, II stellt das Ergebnis einer Reihe von Versuchen mit 3n-Butyl-pyridin dar. Die durch geringe Konzentrationen hervorgerufene Erhöhung der Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser bleibt voll erhalten. Weiter verschwindet auch hier die sonst unter dem Einfluß höherer Toxinkonzentrationen auftretende Herabsetzung der Wasserpermeabilität.

Die n-Butyl-Gruppe vermag also, vielleicht im Zusammenhang mit dem Pyridinring, die Cytochrom-Oxydase in ihrer Aktivität zu verändern.

§ 10. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die oxydative Phosphorylierung

LOOMIS und LIPMANN (1948) zeigten, daß mit Hilfe von 2,4-Dinitrophenol, in der Folge nur noch als DNP bezeichnet, die oxydative Phosphorylierung unterbunden werden kann.

Als Grundlage wurde wieder erst die Veränderung der Wasserpermeabilität durch DNP allein untersucht (Tabelle 4). Dabei zeigte es sich, daß die Wirkung von DNP sehr verschieden ist, je nach der Tageszeit, zu der die Blätter von *Rhoeo* geschnitten worden sind. Wurden die Blätter am frühen Morgen geschnitten (im Winter vor 8 Uhr), also bevor die Assimilation voll eingesetzt hatte, so bewirkte DNP eine Erhöhung der Wasserpermeabilität. Am Mittag oder Nachmittag geschnittene Blätter verhielten sich gerade umgekehrt: es trat eine Herabsetzung der Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser ein (vergleiche Tabelle 4).

Auch diese Werte sind die Mittelwerte aus je vier Parallelversuchen. BOGEN (1953) fand nur eine Erhöhung der Wasserpermeabilität unter dem Einfluß von DNP; doch wässerte er seine Epidermisschnitte während 12 bis

Tabelle 4

Einfluß von 2,4-Dinitrophenol auf die Wasserpermeabilität von *Rhodo*-Protoplasten in Abhängigkeit von der Schnittzeit der Blätter

Schnittzeit	Q-Werte nach der Einwirkung verschiedener DNP-Konzentrationen							
	$1 \cdot 10^{-2}$ m.	$5 \cdot 10^{-3}$ m.	$1 \cdot 10^{-3}$ m.	$5 \cdot 10^{-4}$ m.	$1 \cdot 10^{-4}$ m.	$5 \cdot 10^{-5}$ m.	$1 \cdot 10^{-5}$ m.	$1 \cdot 10^{-6}$ m.
8 Uhr	+	+	2,02	1,73	1,47	1,33	1,11	1,03
12 Uhr	—	—	0,55	0,68	0,92	1,02	1,05	

14 Stunden, bevor sie untersucht wurden. Für die weiteren Versuche verwendete ich eine $1 \cdot 10^{-4}$ molare Lösung von DNP und *Rhodo*-Blätter, die morgens 8 Uhr geschnitten worden sind.

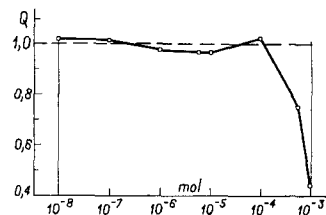
Versuchsfrage:

Verändert eine vorausgehende Blockierung der oxydativen Phosphorylierung durch 2,4-Dinitrophenol die bekannte Wirkung von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Rhodo*-Protoplasten?

Versuchsergebnisse:

Abbildung 13 zeigt den Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Rhodo* nach der Blockierung der oxydativen Phosphorylierung durch DNP. Die von niedrigen Toxinkonzentrationen ($1 \cdot 10^{-9}$ bis $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter) hervorgerufene Erhöhung der Wasserpermeabilität ist vollständig verschwunden. In diesem Konzentrationsbereich ist keine Veränderung der Wasserpermeabilität gegenüber der Kontrolle mehr festzustellen. Dagegen bleibt die unter dem Einfluß höherer Konzentrationen auftretende Drosselung voll erhalten. So wurde für den nächsten Versuch die Annahme gemacht, daß der Pyridinring auf eine noch nicht bekannte Art und Weise die oxydative Phosphorylierung beeinflusst. Stimmt diese Annahme, so muß nach Blockierung der oxydativen Phosphorylierung auch die durch Pyridin ausgelöste Steigerung der Wasserpermeabilität verschwinden.

Abb. 13. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Rhodo* nach Blockierung der oxydativen Phosphorylierung mit Hilfe von 2,4-Dinitrophenol ($1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter).
Abszisse: Toxinkonzentration.
Ordinate: Q-Werte



Bei gleicher Versuchsanordnung wird die Wirkung von Pyridin untersucht. In Tabelle 5 sind die Versuchsergebnisse zusammengestellt. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus fünf Parallelversuchen.

Aus diesen Versuchen geht deutlich hervor, daß Pyridin, wie vorher angenommen wurde, die oxydative Phosphorylierung beeinflusst. Nach einer Blockierung derselben durch DNP verschwindet die Erhöhung der Wasserpermeabilität, die sonst durch Pyridin niedriger Konzentrationen hervorgerufen wird.

Tabelle 5

Einfluß von Pyridin auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten nach der Blockierung der oxydativen Phosphorylierung durch DNP $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter

Pyridinkonzentr. Mol/Liter	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-7}$	$1 \cdot 10^{-7}$	$5 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$
Q-Werte	1,01	1,00	1,01	1,02	1,05	0,99	1,00	1,01	1,00	1,01

§ 11. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Atmung

Kaliumcyanid ist als Atmungsgift bekannt und wurde von BOGEN (1953) auch in seine Untersuchungen einbezogen. Er konnte aber keine durch Kaliumcyanid verursachte Änderung der Wasserpermeabilität nachweisen und schloß daraus, daß die Atmung als ganze die Aufnahme von Wasser nicht beeinflusst. Dies ist um so überraschender, weil das Atmungsenzym Cytochrom-Oxydase an der nicht-osmotischen Wasseraufnahme beteiligt ist.

Entgegen den Versuchen von BOGEN (1953) kann mit der hier verwendeten Methode eine Veränderung der Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten durch KCN festgestellt werden. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengestellt. Die angegebenen Werte sind wiederum die Mittelwerte aus vier Parallelen.

Tabelle 6

Einfluß von Kaliumcyanid verschiedener Konzentration auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten

KCN-Konzentr. Mol/Liter	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-7}$
Q-Werte	2,22	1,88	1,35	1,04	1,00	1,01	1,00	1,00

Für die weiteren Versuche verwendete ich eine $1 \cdot 10^{-3}$ molare Lösung von Kaliumcyanid.

Versuchsfrage:

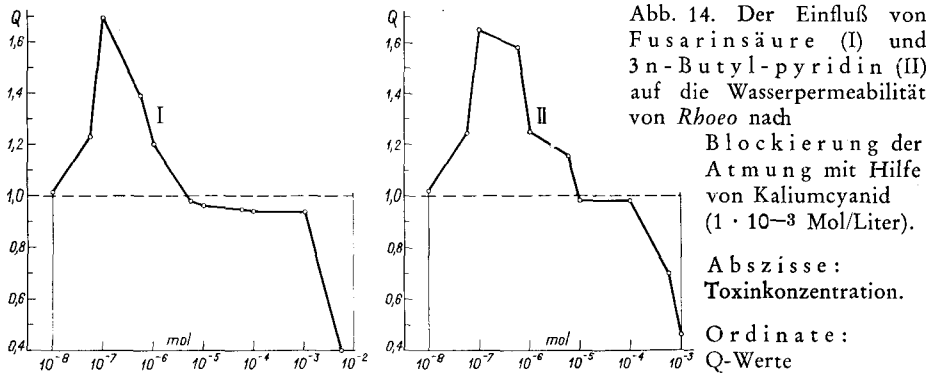
Ändert eine Blockierung der Atmung durch Kaliumcyanid die bekannte Wirkung von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten?

Versuchsergebnisse:

Wie Abbildung 14, I zeigt, wird die Fusarinsäurewirkung durch die vorausgehende Blockierung der Atmung nicht verändert. Sowohl die Steigerung als auch die Drosselung der Wasserpermeabilität stimmen mit der Kontrollkurve überein (vergleiche Abb. 1, II). Das gleiche gilt für die mit 3n-Butyl-pyridin (Abb. 14, II) erhaltene Kurve (vergleiche Abb. 7, III).

Diskussion der Versuchsergebnisse von Kapitel 4

Die Ergebnisse der in diesem Kapitel beschriebenen Versuche zeigen, daß die durch Fusarinsäure verursachte Störung der Wasser-



permeabilität zur Hauptsache auf der Schädigung der nicht-osmotischen Stoffaufnahme beruht. Der im Toxinmolekül eingebaute Pyridinring stört die oxydative Phosphorylierung; die n-Butyl-Gruppe in β -Stellung verändert die Aktivität der Cytochrom-Oxydase. Ob dabei die Stoffwechselvorgänge unterbrochen oder umgeleitet werden, können erst weitere Versuche zeigen. Wie diese Reaktionen zustande kommen, ist bis heute nicht erklärbar, da auch nicht bekannt ist, wie die durch Inhibitoren ausgelöste Blockierung der Fermentsysteme abläuft (HOFFMANN-OSTENHOFF, 1954). Es wird die Aufgabe weiterer Versuche sein, mit Hilfe von Enzympräparaten abzuklären, wie Fusarinsäure die einzelnen Schritte des Stoffwechsels und damit den Wasserhaushalt der Zelle schädigt.

Zusammenfassung

Fusarinsäure ist eines der drei von *Fusarium lycopersici* Sacc., einem Erreger der infektiösen Tomatenwelke, gebildeten Welketoxine. Sie schädigt die Tomatenpflanze unter anderem durch eine Störung der Transpiration und der Atmung.

In der vorliegenden Arbeit ist der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität pflanzlicher Protoplasten untersucht worden.

1. Fusarinsäure, 5n-Butyl-pyridin-2-carbonsäure, schädigt die Wasserpermeabilität sowohl von *Spirogyra*- als auch von *Rhoeo*-Protoplasten. Die Störung der Wasserpermeabilität ist von der Toxinkonzentration abhängig (vgl. Abb. 1). Hohe Toxinkonzentrationen bewirken bei den beiden Objekten entgegengesetzte Störungen der Wasserpermeabilität. Eine Erklärung für das verschiedene Verhalten liegt vielleicht in der Zugehörigkeit der beiden Objekte zu verschiedenen Plasmatyphen.
2. Die Veränderung der Wasserpermeabilität wird in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit der Toxinlösung untersucht. Bei bei-

den Objekten wird die maximale Störung innerhalb 10 Minuten erreicht (vgl. Abb. 2 und 3). Konzentrationen über $1 \cdot 10^{-4}$ Mol/Liter führen bei längerer Einwirkung zum Absterben der Zelle; der Protoplast koaguliert. Die Zahl der in die Zelle eingedrungenen Toxinmoleküle steigt mit der Einwirkungszeit.

3. Die von Fusarinsäure ausgelöste Störung der Wasserpermeabilität ist im Konzentrationsbereich über $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter bei beiden Objekten vom pH-Wert der Toxinlösung abhängig (pH-Bereich 3,5 bis 8,5). Die Störung der Wasserpermeabilität sinkt mit steigendem Dissoziationsgrad des Toxines (vgl. Abb. 4 und 5). Im Konzentrationsbereich unter $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/Liter spielt der pH-Wert der Toxinlösung für die Veränderung der Wasserpermeabilität keine Rolle mehr. Das dissoziierte Toxinmolekül schädigt also die Zelle anders als das undissoziierte Molekül.
4. Die durch Fusarinsäure ausgelöste Störung der Wasserpermeabilität ist irreversibel (vgl. Tabelle 2).
5. Der Einfluß von verschiedenen mit Fusarinsäure chemisch verwandten Pyridin-derivaten auf die Wasserpermeabilität der beiden Objekte, *Spirogyra* und *Rhoecydia*, wird untersucht. So werden Pyridin, α -Picolinsäure, 3-Methyl-pyridin, 3-n-Butyl-pyridin und 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure geprüft. Alle Substanzen vermögen in niedrigen Konzentrationen die Wasserpermeabilität der beiden Objekte zu erhöhen (vgl. Abb. 6, 7, 8 und 9). Diese Erhöhung der Wasserpermeabilität wird durch den allen Stoffen gemeinsamen Pyridin-ring ausgelöst. Pyridin allein bewirkt dieselbe Erhöhung der Wasserpermeabilität. Die Säuregruppe in α -Stellung vermag die Wasserpermeabilität nicht zu beeinflussen. Auch die Methyl-gruppe in β -Stellung hat keinen Einfluß auf die Wasserpermeabilität.

3-n-Butyl-pyridin ist das einzige der geprüften Pyridin-derivate, das die Wasserpermeabilität ähnlich verändert wie Fusarinsäure. Die n-Butyl-gruppe in β -Stellung ist demnach jene Gruppe des Fusarinsäuremoleküls, die die Wasserpermeabilität der beiden Objekte in höheren Konzentrationen schädigt und die Zellen zum Absterben bringt. 3-n-Butyl-pyridin ist ungefähr 100mal giftiger als Fusarinsäure. Diese Differenz der Toxizität kann nicht mit der Dissoziation der Fusarinsäure erklärt werden. Die Lipoidlöslichkeit von 3-n-Butyl-pyridin ist größer als jene von Fusarinsäure. 3-n-Butyl-pyridin kann deshalb schneller in die Zelle eindringen als Fusarinsäure. Der Unterschied der Giftigkeit der beiden Substanzen hat vielleicht seine Ursache in der verschiedenen großen Lipoidlöslichkeit derselben.

6. Die Störung der Wasserpermeabilität durch Pyridin-homologe steigt mit zunehmender Anzahl von C-Atomen in der aliphatischen Seitenkette (vgl. Abb. 10). Mit zunehmender Länge der aliphatischen Seitenkette in β -Stellung steigt die Lipoidlöslichkeit der Pyridin-homologen und damit ihr Eindringungsvermögen. Bei *Rhoeo* wird mit 3-n-Butyl-pyridin (4-C-Atome in der aliphatischen Seitenkette) ein Maximum an Störung erreicht. 5- und 6-C-Atome in der Seitenkette vermögen die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* nicht weiter zu verändern. Bei *Spirogyra* hingegen wird auch mit 6-C-Atomen in der Seitenkette noch kein Maximum an Schädigung erreicht.
7. Es ist nicht wahrscheinlich, daß Fusarinsäure die Wasserpermeabilität durch Bildung von Metallchelaten stört. Fusarinsäure-äthylester löst bei *Rhoeo* eine ähnliche Störung der Wasserpermeabilität aus wie Fusarinsäure, obwohl der Äthylester von Fusarinsäure keine Chelate mehr bilden kann (vgl. Abb. 11).
8. Die bei *Rhoeo* durch Fusarinsäure ausgelöste Störung der Wasserpermeabilität läßt sich auf eine Schädigung der nicht-osmotischen Wasseraufnahme zurückführen. Die nicht-osmotische Stoffaufnahme wird durch Energie ermöglicht, die von Stoffwechselfvorgängen geliefert wird. Dieser Vorgang erlaubt es der Zelle, Stoffe auch gegen ein Konzentrationsgefälle aufzunehmen. Durch Enzyminhibitoren können Stoffwechselfvorgänge blockiert werden. Damit kann ihr Anteil an der nicht-osmotischen Stoffaufnahme bestimmt werden.
 - a) Blockierung der Cytochrom-Oxydase mit Hilfe von Natriumazid. Nach Blockierung der Cytochrom-Oxydase mit Natriumazid verschwindet die durch hohe Fusarinsäurekonzentrationen bewirkte Herabsetzung der Wasserpermeabilität (vgl. Abb. 12). Dasselbe gilt für 3-n-Butyl-pyridin. Fusarinsäure schädigt demnach durch ihre n-Butyl-gruppe in β -Stellung die Cytochrom-Oxydase.
 - b) Blockierung der oxydativen Phosphorylierung durch 2,4-Dinitrophenol. Nach einer Blockierung der oxydativen Phosphorylierung durch 2,4-Dinitrophenol verschwindet die durch Fusarinsäure niedriger Konzentration ausgelöste Erhöhung der Wasserpermeabilität (vgl. Abb. 13). Dasselbe ist bei der durch Pyridin bewirkten Erhöhung der Wasserpermeabilität der Fall (vgl. Tabelle 5). Pyridin stört demnach den Ablauf der oxydativen Phosphorylierung.
 - c) Blockierung der Atmung mit Hilfe von Kaliumcyanid. Nach Blockierung der Atmung durch Kaliumcyanid ändert sich weder die durch Fusarinsäure noch die durch 3-n-Butyl-pyridin bewirkte Störung der Wasserpermeabilität (vgl. Abb. 14).

Die durch Kaliumcyanid blockierten Enzymsysteme werden also durch Fusarinsäure nicht beeinflusst.

Wie Fusarinsäure die einzelnen Enzymsysteme beeinflusst, ist bis heute noch nicht bekannt.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. GÄUMANN, möchte ich für die Förderung dieser Arbeit herzlich danken.

Literaturverzeichnis

- BOCHSLER, A., 1948: Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas auf Grund des Fickschen Diffusionsgesetzes. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 58, 73—122.
- BOGEN, H. J., 1940: I. Ionenwirkung auf die Permeabilität von *Rhoeo discolor*. Ztschr. Bot. 36, 65—106.
- —, 1953: Beiträge zur Physiologie der nicht-osmotischen Wasseraufnahme. Planta 42, 140—155.
- — und PRELL, H., 1953: Messung nicht-osmotischer Wasseraufnahme an plasmolytierten Protoplasten. Planta 41, 459—479.
- BRAUNER, L. und HASMAN, M., 1952: Weitere Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus des Hetero-auxins bei der Wasseraufnahme von Pflanzenparenchym. Protoplasma 41, 3, 302—326.
- COLLANDER, R. und WIKSTRÖM, B., 1949: Die Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Harnstoff und Alkylharnstoff. Physiologia plant. 2, 235—246.
- DEUEL, H., 1954: Über Störungen des Spurenelementhaushaltes der Pflanzen durch Welketoxine. Phytopath. Z. 21, 337—348.
- DIMOND, A. E. and WAGGONER, P. E., 1953: On the nature and role of vivo-toxins in plant disease. Phytopathology 43, 229—235.
- FICK, A., 1855: Über Diffusion. Poggendorffs Ann. 94, 59—86.
- FREY-WYSSLING, A. und BOCHSLER, A., 1947: Zur Bestimmung der Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Experientia 3, 30.
- — und v. RECHENBERG-ERNST, V., 1943: Über die Wasserpermeabilität der Epithemzellen von Hydathoden. Flora N. F. 37, 193—215.
- GÄUMANN, E. und v. ARX, A., 1947: Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte II. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 57, 174—183.
- — und JAAG, O., 1946: Über das Problem der Welkekrankheiten bei Pflanzen. Experientia 2, 215—220.
- —, — —, 1947: Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens I—III. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 57, 3—34, 132—148, 227—241.
- —, — —, 1950: Über das toxigene und das physikalisch induzierte Welken. Phytopath. Z. 16, 226—256.
- —, — — und BRAUN, R., 1947: Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte I. Experientia 3, 70—71.
- —, KERN, H. und SAUTHOFF, W., 1952: Untersuchungen über Welketoxine. Phytopath. Z. 18, 404—415.
- —, NAEF-ROTH, St. und MIESCHER, G., 1950: Untersuchungen über das Lycomarasin. Phytopath. Z. 16, 257—288.
- —, — — und KOBEL, H., 1952: Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin von *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. 20, 1—38.
- —, — —, REUSSER, P. und AMMANN, A., 1952: Über den Einfluß einiger Welketoxine und Antibiotica auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen. Phytopath. Z. 19, 160—220.
- —, STOLL, Ch. und KERN, H., 1953: Über Vasinfuscarin, ein drittes Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. 20, 445—447.

- GOLDACRE, R. I., 1952: The folding and unfolding of protein molecules as a basis of osmotic work. *Int. Rev. Cytol.* **1**, 135—164.
- GOTTLIEB, D., 1944: The presence of a toxin in tomato wilt. *Phytopathology* **33**, 126—135.
- GUTTENBERG, H. v. und BEYTHIEN, H., 1951: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. *Planta* **40**, 36—39.
- — und MEINL, G., 1952: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. II. Mitteilung: Über den Einfluß des pH-Wertes und der Temperatur auf die durch Hetero-auxin bedingten Veränderungen der Wasserpermeabilität. *Planta* **40**, 431—442.
- HAAN, IZ. DE, 1935: Ionenwirkung und Wasserpermeabilität. Ein Beitrag zur Koazervattheorie der Plasmagrenzschichten. *Protoplasma* **24**, 185—197.
- HACKETT, D. P. und THIMANN, K. V., 1950: The action of inhibitors on water uptake by potato tissue. *Plant. Physiol.* **25**, 648—652.
- —, — —, 1952: The nature of the auxin-induced water uptake by potato tissue. *Amer. J. Bot.* **39**, 553—560.
- HOFFMANN-OSTENHOFF, O., 1954: *Enzymologie*. Springer-Verlag, Wien. 772 S.
- HÖFLER, K., 1949: Über Wasser- und Harnstoffpermeabilität des Protoplasmas. *Phyton* (Wien) **1**, 105—121.
- —, 1950: New facts on water permeability. *Protoplasma* **39**, 677—683.
- —, 1952: Zur Kenntnis der Plasmahautschichten. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* **65**, 10, 391—399.
- —, 1952: Über die Farbionenpermeabilität der Tonoplastenmembran. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* **65**, 6, 183—187.
- HUBER, B. und HÖFLER, K., 1930: Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. *Jb. wiss. Bot.* **73**, 351—511.
- KACZMAREK, A., 1929: Untersuchungen über Plasmolyse und Deplasmolyse in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration. *Protoplasma* **6**, 209—301.
- KERN, H. und KLÜPFEL, D., 1956: Der Nachweis von Fusarinsäure in mit *Fusarium lycopersici* Sacc. infizierten Tomatenpflanzen. *Experientia* **12**, 181—182.
- KLEIN, G., 1932: *Handbuch der Pflanzenanalyse*. 3 Bände. Verlag J. Springer, Wien.
- KOBEL, F., 1951: Untersuchungen über toxische Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. *Phytopath. Z.* **18**, 157—195.
- LAKSHMINARAYANAN, K. and SUBRAMANIAN, D., 1955: Is Fusaric Acid a Vivotoxin: *Nature* **176**, 697—698.
- Le FÈVRE, P. G. and Le FÈVRE, M. E., 1952: The mechanism of glucose transfer into and out of the human cell. *J. Gen. Physiol.* **35**, 891—906.
- LINDER, A., 1951: *Statistische Methoden*. 2. Auflage. Birkhäuser, Basel.
- LINSKENS, H. F., 1955: Der Einfluß der toxigenen Welke auf die Blattausscheidungen der Tomatenpflanze. *Phytopath. Z.* **23**, 89—106.
- LOOMIS, W. F. and LIPMANN, F., 1948: Reversible inhibition of coupling between phosphorylation and oxydation. *J. Biol. Chem.* **173**, 807—808.
- —, — —, 1949: Inhibition of phosphorylation by azide in kidney homogenate. *J. Biol. Chem.* **179**, 503—504.
- LUNDEGÅRDH, H., 1950: The translocation of salts and water through wheat roots. *Physiologia plant.* **3**, 103—151.
- NAEF-ROTH, St. und REUSSER, P., 1955: Über die Wirkung der Fusarinsäure auf den Gaswechsel von Tomaten-Blattgewebe. *Phytopath. Z.* **22**, 281—287.
- OVERTON, R., 1895: Über die osmotischen Eigenschaften der lebenden Pflanzen- und Tierzelle. *Vierteljahrsh. d. Naturf. Ges. Zürich* **40**, 159—201.
- —, 1899: Über die allgemeinen osmotischen Eigenschaften der Zelle, ihre vermutlichen Ursachen und ihre Bedeutung für die Physiologie. *Vierteljahrsh. d. Naturf. Ges. Zürich* **44**, 88—135.
- PLATTNER, PL. A., KELLER, W. und BOLLER, A., 1954: Konstitution und Synthese der Fusarinsäure. *Helv. Chim. Acta* **37**, 1379—1392.

- PRELL, H., 1953: Untersuchungen über die Aufnahme von Anelektrolyten in Zellen di- und polyploider Pflanzen. *Planta* 41, 480—508.
- REINDERS, D. E., 1942: Intake of water by parenchymatic tissue. *Rev. Trav. bot. néerl.* 39, 1—140.
- REUSSER, P. und NAEF-ROTH, St., 1956: Über den Einfluß der Fusarinsäure auf den Gaswechsel von *Saccharomyces cerevisiae* Hans. *Phytopath. Z.* 26, 273—296.
- RUHLAND, W., 1912: Studie über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut. *Jb. f. wiss. Bot.* 51, 376—398.
- —, 1950: Zur Ultrafiltertheorie. *Proc. VIIthe Int. Congr. of Botany, Stockholm.*
- SANWAL, B. D., 1956: Investigations on the metabolism of *Fusarium lycopersici* Sacc. with the aid of radioactive carbon. *Phytopath. Z.* 25, 333—384.
- SEEMANN, F., 1949: Zur cH-Abhängigkeit der Wasserpermeabilität. *Protoplasma* 39, 147—175.
- TAMARI, K. and KAJI, J., 1952, 1953: Studies on the mechanism of injourious action of fusarinic acid on plant growth. Parts 1—8. *J. Agr. Chem. Soc. Japan* 26, 223—227, 295—298, 298—303, 345—349, 349—353; 27, 245—249, 249—252, 302—306.
- THATCHER, F. S., 1942: Further studies of osmotic and permeability relation in parasitism. *Canadian J. Res.* 20 C, 283—311.
- WARTIOVAARA, V., 1950: Zur Erklärung der Ultrafilterwirkung der Plasmahaut. *Physiologia plant.* 3, 462—478.
- YABUTA, T., KAMBE, K. and HAYASI, T., 1934: Biochemistry of the bakanae fungus. I. Fusaric acid, a new product of the bakanae fungus. *J. Arg. Chem. Soc. Japan* 10, 1059—1069 (cited from *Chem. Abs.* 29, 1132, 1935).
- ZÄHNER, H., 1955: Über den Einfluß der Ernährung auf die Toxinempfindlichkeit von Tomatenpflanzen. *Phytopath. Z.* 23, 49—88.

Lebenslauf

Am 29. August 1929 wurde ich in Boston, Mass., USA., geboren. In Zürich aufgewachsen, besuchte ich hier die Primarschule von 1936 bis 1942 und darauf das Gymnasium A der Töcherschule der Stadt Zürich. Die Maturität, Typus B, erwarb ich im Herbst 1948. Im Anschluß daran besuchte ich das Oberseminar des Kantons Zürich und erhielt im März 1950 den Fähigkeitsausweis als Primarlehrerin. Bis zum Herbst 1950 war ich an verschiedenen Orten des Kantons Zürich als Vikarin tätig. Im Oktober 1950 trat ich in die Abteilung für Naturwissenschaften an der Eidg. Technischen Hochschule ein und erwarb im Herbst 1954 ihr Diplom. Seit Dezember 1953 arbeite ich als Assistentin im Institut für spezielle Botanik (Direktor Prof. Dr. E. GÄUMANN).