

## Die Jahresperiodik einiger nichtflüchtiger Carbonsäuren in *Sempervivum tectorum* L.\*

U. KULL

Botanisches Institut der Universität Stuttgart

Eingegangen am 18. September 1967

### *Seasonal Variations in Contents of Some Non-Volatile Carboxylic Acids in Sempervivum tectorum L.*

*Summary.* Isocitric, citric, malic, and succinic acids are found in *S. tectorum*. Their contents, measured at various times during the year, show remarkable changes. Isocitric acid always dominates and reaches distinct maxima in December and June. During the winter and in the course of summer the quantity decreases, and in February and August there are minima of the amounts of this acid. The contents of citric and malic acids show a maximum during the winter months. The quantity of succinic acid increases in winter, too, but the highest values are found in the beginning of spring. The variations in the quantity of total acids are, as a result of the very high percentage of isocitric acid, essentially in accordance with the variations of the latter. The amount of total acids is highest in June and smallest in August.

The factors temperature, photoperiodism, and endogenous annual rhythm are suggested to be responsible for the fluctuations in contents of the acids. A comparison with the behaviour of soluble carbohydrates suggests that acids take part in the regulation of storage of carbohydrates. Definite statements cannot be made, because the distribution of acids in the compartments of the cell is not known.

### Einleitung

Über den Säurestoffwechsel von Crassulaceen liegen zahlreiche Untersuchungen vor. Nahezu alle Arbeiten beschäftigen sich jedoch mit dem diurnalen Säurerhythmus und dessen Bedingungen (Zusammenfassung vgl. WOLF, 1960; RANSON u. THOMAS, 1960). Hingegen findet man nur wenige Angaben über das jahresperiodische Verhalten der Säuren. Neben einer umfangreichen älteren Arbeit von BENDRAT (1929), die mit *Sempervivum glaucum* durchgeführt wurde, aber aus methodischen Gründen nur heute nicht mehr zureichende Aussagen ermöglichte, liegt vor allem die Untersuchung von WOOD (1952) an *Sedum praealtum* vor. Stichprobenhafte Angaben bezüglich Veränderungen der Säuregehalte findet man ferner bei GNEDKOV (1963b) für *Sempervivum ruthenicum*. Für *Sempervivum tectorum* wurden Hinweise auf jahresperiodische

\* Herrn Prof. Dr. A. ARNOLD zum 65. Geburtstag gewidmet.

Schwankungen durch einige eigene Untersuchungen im Rahmen einer Arbeit über den Kohlenhydrathaushalt dieser Art erhalten (KULL, 1967). Daher wurde nunmehr die Jahresperiodik der mengenmäßig vorherrschenden nichtflüchtigen Carbonsäuren in *S. tectorum* genauer untersucht.

## Material und Methoden

### *Material*

Die Versuche wurden durchgeführt mit jüngeren Rosetten von *Sempervivum tectorum* L., die aus einem einheitlichen, SE-exponierten Bestand des Botanischen Gartens stammten. Die Ernte erfolgte in monatlichen Abständen (jeweils in der Monatsmitte) um 11.00 Uhr, um Störungen durch die tagesperiodischen Gehaltsschwankungen gering zu halten.

Von den drei vorherrschenden Säuren Äpfel-, Citronen- und Isocitronensäure zeigt letztere keine oder nur sehr schwache diurnale Schwankungen (WOOD, 1952; VICKERY, 1954). Diejenigen des Citrats sind deutlicher (VICKERY, 1959). Bei der Äpfelsäure, die am diurnalen Säurerhythmus der Crassulaceen führend beteiligt ist, wie schon KRAUS (1886) festgestellt hat, ließen sich Störungen, vor allem infolge der erheblichen Abhängigkeit der Anhäufung von Temperatur und Photoperiode (GREGORY et al., 1954; NUERNBERGK, 1962 u. QUEIROZ, 1966, dort weitere Lit.) nicht völlig vermeiden.

Es wurde darauf geachtet, daß von den Rosetten stets nur ausgewachsene, aber noch völlig grüne Blätter Verwendung fanden, da Blätter verschiedenen Alters erhebliche Unterschiede im Säurestoffwechsel aufweisen können (BENDRAT, 1929; POHLOUDEK-FABINI u. PAPKE, 1964). An demselben Material war früher bereits das jahresperiodische Verhalten der Kohlenhydrate untersucht worden (KULL, 1967), so daß unmittelbare Vergleichsmöglichkeiten bestehen.

### *Methoden*

Die Blätter wurden nach mehrfachem Zerschneiden sofort in einem 60° C (nicht höher, vgl. WOLF, 1955) warmen Luftstrom getrocknet und dann zu feinem Pulver zermahlen.

*Extraktion.* Zur Extraktion der Säuren werden 1 g Trockenmaterial zunächst mit 1 ml 0,5 n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> angefeuchtet (DUPÉRON, 1956); nach 30 min gibt man 14 ml heißes Wasser zu (vgl. SCHEFFER et al., 1965) und schüttelt  $\frac{1}{2}$  Std. Nach Abzentrifugieren und nochmaliger Extraktion des Rückstandes in gleicher Weise mit 30 ml heißem Wasser wird abfiltriert. Die Extrakte werden vereinigt und auf 50 ml Gesamtvolumen gebracht. Daß ein solches Verfahren zur quantitativen Extraktion organischer Säuren geeignet ist, wurde von PALMER u. WYMAN (1965) nachgewiesen. Der säurehaltige Extrakt passiert eine Säule mit stark basischem Anionenaustauscher, dann wird mit destilliertem Wasser nachgewaschen. Die Elution erfolgt, indem jeweils abwechselnd 20 ml 5n Ameisensäure und 20 ml Wasser die Säule durchlaufen, bis ein Gesamtvolumen von 100 ml erreicht ist (BRYANT u. OVERELL, 1951; SCHWEPPE, 1959, vgl. auch RANSON, 1955). Die so erhaltene Lösung wird im Rotationsverdampfer bei 40° C eingengt und auf ein geeignetes Volumen gebracht.

*Papierchromatographie.* Die Trennung der Säuren erfolgte durch absteigende Chromatographie auf gewaschenem Papier. Als Laufmittel wurden nach jeweils 4stündiger Äquilibration verwendet: Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5, v) und Buta-

nol-Ameisensäure-Wasser (18:2:9, v) (vgl. SCHWEPPE, 1959). Die Trennung von Citronen- und Isocitronensäure gelang mit dem von POHLOUDEK-FABINI et al. (1959) für diesen Zweck angegebenen Gemisch Isoamylalkohol-Chloroform-Ameisensäure (4:1:1, v). Allerdings konnte nicht immer eine vollständige Trennung der beiden Säuren erzielt werden, so daß insbesondere ein Teil der Angaben über Citratgehalte mit einem relativ hohen Fehler behaftet sein können.

*Qualitative Bestimmung.* Die Chromatogramme wurden dann in einem Luftstrom bei ca. 80° C etwa 5 Std getrocknet und blieben anschließend unter zeitweiliger Ventilation im allgemeinen 3 Tage, mindestens aber bis zur völligen Geruchsfreiheit im Dunkeln aufgehängt. Als Indikatoren dienten für die qualitative Prüfung und zur groben Mengenabschätzung Bromphenolblau und Anilin-Glucose (vgl. BUCHLOH u. HANE, 1958; SCHWEPPE, 1959). Die Identifizierung der Säuren erfolgte durch Mitchromatographieren entsprechender Reinsubstanzen.

*Quantitative Bestimmung.* Die quantitative Bestimmung wurde nach der von HEITFUSS (1957) angegebenen kolorimetrischen Methode auf Grundlage der Anilin-Glucose-Färbung durchgeführt. Dabei ist besonders darauf zu achten, daß die im Laufmittel enthaltene Säure quantitativ entfernt ist. Jede Probe wurde mindestens dreimal gemessen und die Werte gemittelt. Zur Aufstellung von Eichkurven, die für jede Meßreihe getrennt angefertigt werden müssen, standen Citronen-, Äpfel- und Bernsteinsäure sowie das Trinatriumsalz der Isocitronensäure zur Verfügung.

*pH-Wert.* Die Bestimmung der aktuellen Acidität des Blattpreßsaftes erfolgte pH-metrisch nach SMALL (1956). Die Säuren werden im folgenden in der Regel durch ihre Anionen bezeichnet, da bei den gemessenen pH-Werten vorwiegend diese (bzw. teildissoziierte Säuren) vorliegen (vgl. die Angaben bei WOLF, 1955). Außerdem sind die Namen der Anionen international leichter verständlich.

Die Prozentangaben sind auf das Trockengewicht bezogen.

### Ergebnisse

In *Sempervivum tectorum* konnten das ganze Jahr über Isocitrat, Malat, Citrat und Succinat nachgewiesen werden. Dieser Befund stimmt mit den Angaben von KREBS u. EGGLESTON (1944), die den ersten Nachweis für das Vorkommen von Isocitrat in *Sempervivum* erbrachten, von SHKOLNIK (1954), SODERSTROM (1962) und GNEDKOV (1963a) überein (vgl. auch HEGNAUER, 1964). Weiterhin sind auf den Chromatogrammen stets ein deutlicher Fleck geringer Intensität sowie ein sehr schwacher Fleck vorhanden. Beide waren nicht mit Sicherheit einer bestimmten Säure zuzuordnen, da auch Ketosäuren und saure Aminosäuren in Frage kommen können. Auf einem Teil der Chromatogramme war noch ein weiterer schwacher Fleck zu erkennen, der vermutlich durch Pyruvat verursacht ist. Ein Vorkommen von Pyruvat in relativ großen Mengen ist für *Bryophyllum* nachgewiesen (RAMSTAD u. LIEBERMAN, 1955). Eine quantitative Messung dieser Ketosäure erfolgte nicht, da die Mengen für die Anwendung der gewählten Methoden zu gering waren.

Die jahresperiodischen Veränderungen der Säuren sind in Abb. 1 dargestellt. Das ganze Jahr über herrscht mengenmäßig Isocitrat weitaus

vor. An zweiter Stelle folgt stets Malat, während Citrat und Succinat nur relativ wenig zum Gesamtsäuregehalt beitragen. Dies wird noch deutlicher, wenn man die in Literaturangaben vielfach anzutreffende Bezugsgröße mVal-% (m-Äquivalente pro 100 g Trockengewicht) verwendet. Daher sind die entsprechenden Werte in der Tabelle des prozentualen Anteils der einzelnen Säuren, die auf der Basis dieser Bezugsgröße errechnet wurden, mit angegeben (vgl. Tabelle).

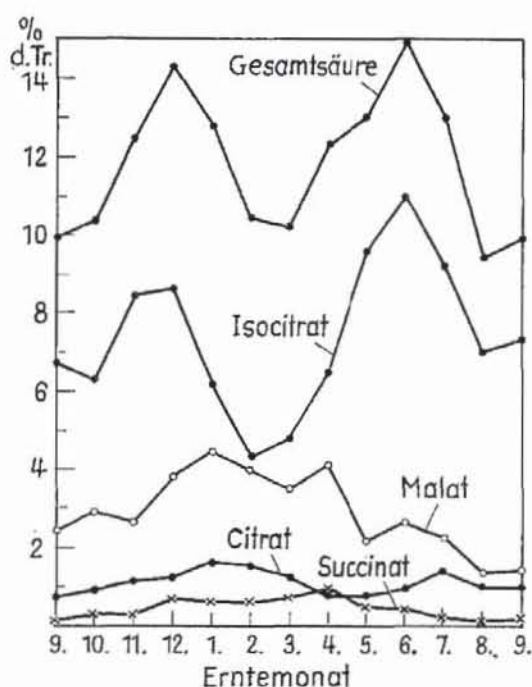


Abb. 1. Jahresgang der nichtflüchtigen Carbonsäuren und des Gesamtsäuregehaltes in *Sempervivum tectorum* (in % des Trockengew.)

*Isocitrat* zeigt im Herbst einen Mengenanstieg bis zu einem Maximum im Dezember (8,6% d. Tr.). Im Verlauf des Winters kommt es dann zu einer starken Gehaltsabnahme, so daß im Februar das absolute Minimum mit 4,3% d. Tr. und einem Anteil an der Gesamtsäuremenge von nur 42% erreicht wird. Von März an erfolgt rasch wieder Zunahme. Infolgedessen sind während der Hauptvegetationszeit die *Isocitrat*mengen sehr hoch und im Juni liegt ein weiteres Maximum mit 11% d. Tr. Dies ist der höchste Gehalt während des ganzen Jahresganges. In den Sommermonaten fällt die Menge zum August hin erheblich ab und bleibt dann bis Oktober größenordnungsmäßig gleich (6—7,5% d. Tr.). Der prozentuale Anteil des *Isocitrats* an der Gesamtsäuremenge zeigt einen deutlichen Rückgang nur in der Zeit von Januar bis April, da während des Sommers die anderen Säuren mengenmäßig nur eine untergeordnete Rolle spielen.

Tabelle. Jahreszeitlicher Gang des prozentualen Anteils der einzelnen Säuren am Gesamtsäuregehalt, berechnet auf Grundlage der Säuregehalte in mVal%; sowie Jahresgang der aktuellen Acidität und der Zuckergehalte (in % des Trockengewichtes) bei *Sempervivum tectorum*

	Erntemonat													
	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Isocitrat	%	68	61	68	61	49	42	47	53	74	74	71	75	74
	mVal%	104,6	98,4	131,2	134,3	96,8	67,2	74,9	101,5	149,9	171,8	143,7	109,3	114,0
Citrat	%	7	9	9	8	13	15	12	7	6	6	11	11	10
	mVal%	10,9	14,0	17,2	18,7	25,0	23,4	18,7	12,5	12,5	14,1	21,9	15,6	15,6
Malat	%	24	27	20	26	33	37	33	32	16	17	16	13	14
	mVal%	35,8	43,3	38,8	56,7	65,6	59,7	52,2	61,2	31,3	38,8	32,8	19,4	20,9
Succinat	%	1	3	3	5	5	6	8	8	4	3	2	1	2
	mVal%	1,7	5,1	5,1	11,9	10,2	10,2	11,9	15,2	8,5	6,8	3,4	1,7	3,4
Gesamtsäure	mVal%	153,0	160,8	192,3	221,6	197,6	160,5	157,7	190,4	202,2	231,5	201,8	146,0	153,9
pH-Wert		4,5	4,5	5,0	5,5	5,4	5,4	4,8	4,1	4,4	4,6	4,3	4,6	4,7
Freie Hexosen	% d. Tr.	2,1	4,2	3,9	2,9	2,6	2,5	2,7	3,5	2,4	2,1	1,8	2,0	2,2
Sedoheptulose	% d. Tr.	3,2	5,1	7,1	6,0	9,6	10,9	8,4	6,4	3,0	2,3	2,1	2,4	3,7
Oligosaccharide (in Monosaccharid-Einh.)	% d. Tr.	0,8	1,6	1,8	4,9	4,6	4,4	5,2	2,5	0,5	0,3	0,3	0,4	0,7

*Citrat* besitzt einen wesentlich einfacheren Jahresgang. Etwa ab September erfolgt Mengenzunahme bis zu einem Maximum im Januar (1,6% d. Tr.), danach nimmt der Gehalt bis zum April langsam ab. Auch der prozentuale Anteil an der Gesamtsäure zeigt während der Wintermonate die höchsten Werte. In der Zeit von April bis September finden keine nennenswerten Mengenveränderungen statt, abgesehen von einem höheren Gehalt, der im Juni festgestellt wurde. Eine Erklärung dafür kann nicht gegeben werden (vgl. aber den Hinweis unter Methoden).

*Malat* weist in der Jahresperiodik von allen Säuren die stärksten Unregelmäßigkeiten auf. Dies ist erklärlich, da es infolge des diurnalen Säurerhythmus starken tagesperiodischen Mengenveränderungen unterliegt und diese nicht immer regelmäßig sind (Literatur vgl. oben). Da zum gewählten Erntezeitpunkt (11.00 Uhr) die Absäuerung im allgemeinen weit fortgeschritten ist, liegen die gemessenen Malatgehalte generell relativ niedrig. Jedoch läßt sich eine winterliche Anhäufung von Malat unschwer erkennen. Im Frühjahr und weiterhin zu den Sommermonaten fällt der Gehalt ab. Im Herbst erfolgt langsam wieder ein Anstieg der Malatmenge (jeweils bezogen auf 11.00 Uhr). Der Anteil an der Gesamtsäuremenge ist während der Monate Dezember bis April deutlich erhöht.

Die Menge des *Succinats* ist während der kalten Jahreszeit ebenfalls höher. Allerdings ist die Zunahme hier weniger ausgeprägt; der höchste Wert wird im April mit 0,9% d. Tr. und ca. 8% der Gesamtsäure erreicht. Während des Sommers fällt der Succinatgehalt auf sehr geringe Werte (0,1% d. Tr.) ab.

Die Veränderungen der *Gesamtsäuremenge* spiegeln infolge des sehr hohen Isocitratgehaltes weitgehend dessen Verhalten wider. Einem deutlichen herbstlichen Anstieg bis zum Dezember folgt eine erhebliche Mengenabnahme. Das Minimum liegt im März (10,2% d. Tr.). Danach kommt es zu starker Zunahme bis zum Juni, in dem der maximale Säuregehalt (14,9%) erreicht wird. Während der Sommermonate nimmt die Menge rasch wieder ab. Der geringste Gesamtsäuregehalt des Jahresgangs wird im August mit 9,4% d. Tr. gemessen. Eine Berechnung der Gesamtsäuremenge in mVal-% ergibt ein gleichartiges Bild (Tabelle).

Der *pH-Wert* des Blattpreßsaftes (Tabelle) zeigt einen winterlichen Anstieg, der gegenüber den Sommerwerten etwa eine pH-Stufe ausmacht. Zwischen den Veränderungen der aktuellen Acidität und den Säuregehalten besteht kein erkennbarer Zusammenhang. PLOUVIER hat 1959 gleichsinnige Veränderungen des pH-Wertes bei verschiedenen Arten, vor allem der Gymnospermen, gefunden und darauf hingewiesen, daß dieser Größe keine wesentliche physiologische Bedeutung zuzukommen braucht.

### Diskussion

Eine Diskussion des jahresperiodischen Verhaltens der Säuren stößt infolge der zentralen Stellung vieler dieser Verbindungen im Stoffwechsel und der dadurch bedingten direkten und indirekten Einflußnahme zahlreicher Faktoren auf gewisse Schwierigkeiten. Allgemeine Feststellungen sind daher häufig nur in groben Grenzen gültig, worauf schon VICKERY (1954) hingewiesen hat.

Insoweit aus methodischen Gründen ein Vergleich mit den von BENDRAT (1929) an *Sempervivum glaucum* erhaltenen Ergebnissen möglich ist, werden diese weitgehend bestätigt. Auch mit den Befunden von GNEDKOV (1963 b) stimmen unsere Ergebnisse überein. Ebenso sind die Angaben von WOOD (1952) über *Sedum praealtum* ohne weiteres vergleichbar. Die Jahresgänge von Malat und Citrat entsprechen dabei den von WOOD nachmittags, d. h. nach der Absäuerung, festgestellten Verhältnissen. Für Isocitrat liegen bei WOOD zu wenige Meßpunkte vor, um Vergleiche ziehen zu können.

Die jahresperiodischen Veränderungen der Säuregehalte dürften durch die auch bei den diurnalen Schwankungen wirksamen Faktoren Temperatur, Photoperiode und endogene Rhythmik bestimmt sein. Unsere Untersuchungen lassen erkennen, daß die Speicherung des Isocitrats nicht von der Temperatur abhängig sein kann. Dagegen darf unter Berücksichtigung der Befunde von SCHNEIDER (1958) und FREEBAIRN (1960) (vgl. auch SCHWARZE, 1933; DELMAS et al., 1961 und 1963) bei verschiedenen höheren Pflanzen eine solche Abhängigkeit für Citrat und vermutlich auch für Succinat angenommen werden. An Crassulaceen hat GNEDKOV (1963 b) bei Temperaturverminderung eine Citratzunahme beobachtet. Bei Malat liegen die Verhältnisse komplizierter, da hier, wie bereits erwähnt, neben dem Temperaturfaktor (vgl. z. B. FREEBAIRN, 1960; LI et al., 1965) die Tageslänge einen erheblichen Einfluß ausübt (vgl. GREGORY et al., 1954; NUERNBERGK, 1962; QUEIROZ, 1966).

Der erhöhte Malatgehalt während der Wintermonate dürfte eine seiner Ursachen in der bei tiefen Temperaturen nicht mehr vollständig verlaufenden Absäuerung haben. Die mögliche Wirkungsweise der Photoperiode wurde von COLES u. WAYGOOD (1957) beschrieben. Die hohe Malatmenge führt ihrerseits zu der schon lange bekannten winterlichen Einschränkung des diurnalen Säurerhythmus. Die verringerte CO<sub>2</sub>-Fixierung ist dabei vermutlich auf eine durch Malat bewirkte Hemmung der Phosphoenolpyruvat-carboxylase (TING, 1967) zurückzuführen. Die Verteilung der Säure-Pools in den einzelnen Zellkompartimenten ist hierbei von entscheidendem Einfluß. Das Vorhandensein mehrerer Pools wurde von MACLENNAN et al. (1963) für *Bryophyllum* nachgewiesen (vgl. die ausführliche Diskussion betreffs Crassulaceen bei RANSON, 1965).

NUERNBERGK (1961) hat bei *Bryophyllum* eine verringerte Speicherkapazität für  $\text{CO}_2$  während der Zeit von Dezember bis April festgestellt und Hinweise auf eine zumindest indirekte Beteiligung endogener Faktoren erhalten (vgl. allerdings die Einschränkungen bei NUERNBERGK, 1962). Die Befunde von OVERBECK (1957) deuten in gleiche Richtung. Da als Ursache des jahresperiodischen Verhaltens von Isocitrat direkte äußere Einflüsse nicht erkennbar sind, darf besonders auch in diesem Fall eine Teilnahme endogener Faktoren angenommen werden. Die Schwankungen des Isocitratgehaltes wären somit mehr oder minder indirekte Auswirkungen der endogenen Jahresrhythmik (vgl. BÜNNING, 1956).

Sollte das allerdings weitgehend spekulative Chronon-Konzept der circadianen Rhythmik (EHRET u. TRUCCO, 1967) zutreffen, so wären auf dieser Basis auch Erklärungsmöglichkeiten für Jahresrhythmen möglich (Extrapolationen des Modells haben die Autoren schon angedeutet, vgl. p. 249). Änderungen von Enzymaktivitäten, welche Veränderungen in der Speicherung zur Folge haben, könnten dann entweder direkte Auswirkungen der Chrononaktivität oder durch verschiedenartige Regulationsmechanismen verursacht sein. Als Effektoren kämen kleinemolekulare Stoffe, also z.B. auch Säuren, in Betracht. Als Beispiel wird unten ausgeführt, wie Säuren ihrerseits auf jahresperiodische Veränderungen des Kohlenhydratgehaltes einwirken könnten.

Die Schwankungen des Gesamtsäuregehaltes während der Wintermonate lassen den Schluß zu, daß den Säuren eine wesentliche Bedeutung für die Resistenzerhöhung durch Erhöhung des osmotischen Wertes nicht zukommen kann. Möglich ist nur eine mehr oder weniger spezifische Wechselwirkung mit Proteinen (vgl. BELOUSOVA, 1957). Auch HELLSTRÖM (1956) findet keine Beziehungen zwischen Carbonsäuregehalten und Kälteresistenz, dagegen schließt BERTA (1967) auf eine resistenzerhöhende Wirkung bei immergrünen Holzpflanzen.

Interessant erscheint in diesem Zusammenhang ein Vergleich mit dem Verhalten der Kohlenhydrate, das am gleichen Material früher festgestellt worden war (zusammenfassende Werte vgl. Tabelle, genauere Angaben bei KULL, 1967). Dem Anstieg des Säuregehaltes von Oktober bis Dezember parallel geht eine starke Zunahme der Sedoheptulose und vor allem der Oligosaccharide. Der folgenden Isocitrat- und Isocitronensäureabnahme bis zum Februar entspricht eine außerordentliche Zunahme der Sedoheptulosemenge, so daß man sogar an eine Bildung der Heptose auf Kosten von Isocitronensäure denken könnte. Gleichzeitig mit dem frühjährlichen Anstieg der Säuremenge erfolgt eine starke Zuckerabnahme. Der hohe winterliche Gehalt an Oligosacchariden fällt weitgehend mit einer erhöhten Malatmenge und vor allem mit erhöhtem prozentualem Anteil dieser Säure zusammen. Beziehungen zwischen Kohlenhydrat- und Malatgehalt bei Crassulaceen haben bereits CASPER u. PIRSON (1965) bei andersartigen Versuchen gefunden.



Falls die Poolverteilung innerhalb der Zelle es zuläßt, ist eine Einflußnahme der Säuren auf den Kohlenhydratstoffwechsel möglich. RAO (1965) hat gezeigt, daß verschiedene Carbonsäuren die Aktivität von Blattphosphatasen hemmen. Diese Tatsache wurde von MISHRA u. MOHANTY (1967) zur Erklärung tagesperiodischer Schwankungen der Phosphataseaktivität herangezogen und könnte für die jahresperiodischen Veränderungen von Kohlenhydratgehalten ebenfalls von Bedeutung sein, wobei an folgenden Mechanismus gedacht werden könnte: Durch den herbstlichen Anstieg der Mengen bestimmter Säuren kommt es zur Hemmung von Phosphatasen, so daß neugebildete Hexosephosphate weniger rasch dephosphoryliert und infolgedessen verstärkt zu Oligosacchariden umgesetzt werden. Die Anhäufung der letzteren ist gegenüber derjenigen der Hexosen bevorzugt, da bei der Biosynthese der Saccharose nur eine Phosphatasereaktion auf zwei Monosaccharideinheiten kommt und die Bildung der Raffinosezucker ohne Beteiligung von Phosphatasen erfolgt (vgl. PRIDHAM u. HASSID, 1965; TANNER u. KANDLER, 1966; SENSER u. KANDLER, 1967). Bei der Anhäufung von Sedoheptulose könnte eine allosterische Hemmung der Phosphofruktokinase durch Citrat (vgl. z.B. BÜCHER u. RÜSSMANN, 1963) wirksam werden. Eine Vermehrung des Citrats kann dadurch zur Verstärkung des oxydativen Pentosephosphatcyclus oder zu Rückreaktionen in dessen nichtoxydativem Teil führen, so daß vermehrt Sedoheptulosephosphat gebildet wird. Die Entstehung der freien Sedoheptulose aus dem oxydativen Pentosephosphatcyclus wurde schon früher wahrscheinlich gemacht (KULL, 1965) und neuerdings experimentell bestätigt (KULL, unveröffentlicht). Während nun die Oligosaccharide im Dezember bereits nahezu ihre maximale Menge erreicht haben, findet parallel der Vermehrung des Citrats eine Sedoheptuloseanhäufung bis Februar statt. Durch das Absinken des Säuregehaltes von Dezember an ist mit einem Anstieg der Aktivität der Phosphatasen zu rechnen, so daß die Bildung des freien Zuckers aus dem Sedoheptulosephosphat erleichtert ist. — Nicht anwendbar ist diese Vorstellung auf Vorgänge während der Hauptwachstumsphase. In dieser Zeit herrschen offenbar ganz andere Aktivitätsverhältnisse in der Zelle.

Es muß darauf hingewiesen werden, daß die erwähnten Wirkungen der Säuren wesentlich von den Größen der Pools in den einzelnen Zellkompartimenten abhängen. Diese können aber aus den von uns gemessenen Gesamtgehalten und deren Veränderungen nur sehr bedingt erschlossen werden.

### Zusammenfassung

1. In *Sempervivum tectorum* sind das ganze Jahr über Isocitronen-, Äpfel-, Citronen- und Bernsteinsäure nachzuweisen. Die Säuren zeigen erhebliche jahresperiodische Mengenveränderungen.

2. Die stets vorherrschende Isocitronensäure weist Maxima im Dezember und im Juni auf; während der Wintermonate und im Verlauf des Sommers nimmt die Menge jeweils ab.

3. Die Gehalte an Citronen- und Äpfelsäure zeigen winterliche Maxima. Die Menge der Bernsteinsäure ist während des Winters ebenfalls erhöht, erreicht die höchsten Werte aber erst zu Beginn des Frühjahrs.

4. Die Veränderungen der Gesamtsäuremenge entsprechen infolge der sehr hohen Isocitratgehalte diesen weitgehend. Die höchste Säuremenge wird im Juni erreicht, die geringste im August.

5. Für die jahresperiodischen Schwankungen der Säuregehalte werden die Faktoren Temperatur, Photoperiode und endogene Jahresrhythmik verantwortlich gemacht.

6. Ein Vergleich mit dem jahresperiodischen Verhalten der Kohlenhydrate läßt eine Teilnahme von Säuren an der Regulation der Kohlenhydratspeicherung möglich erscheinen. Gesicherte Aussagen dazu können nicht gemacht werden, da die Verteilung der Säuren in den einzelnen Zellkompartimenten nicht bekannt ist.

Herrn Prof. Dr. A. ARNOLD danke ich herzlich für Diskussionen, Herrn Priv.-Dozent Dr. K. JEREMIAS für die Überlassung von Isocitrat aus DFG-Mitteln.

### Literatur

- BELOUSOVA, A. K.: The effect of organic acids and their derivatives on the structure of protoplasm. *Bot. Z.* **42**, 1011—1034 (1957). Zit. nach *Ber. wiss. Biol.* **120**, 26—27 (1958).
- BENDRAT, M.: Zur Physiologie der organischen Säuren in grünen Pflanzen. VI. Ein Beitrag zur Kenntnis des Säurestoffwechsels sukkulenter Pflanzen. *Planta (Berl.)* **7**, 508—584 (1929).
- BERTA, F.: Relation between the seasonal metabolism of carbohydrates and organic acids in some species of evergreen foliaceous trees. Intern. Symp. Biol. of Woody Plants, Arboretum Mlynany of the Slovak Acad. of Sci., Nitra; Thesis, p. 269—272 (1967).
- BRYANT, F., and B. T. OVERELL: Displacement chromatography on ion-exchange columns of the carboxylic acids in plant tissue extracts. *Nature (Lond.)* **167**, 361 (1951).
- BUCHLOH, G., u. M. HANE: Der Nachweis von Fumarsäure und einigen anderen organischen Säuren in Apfelfrüchten. *Gartenbauwiss.* **5**, 507—511 (1958).
- BÜCHER, T., u. W. RÜSSMANN: Gleichgewicht und Ungleichgewicht im System der Glykolyse. *Angew. Chem.* **75**, 881—893 (1963).
- BÜNNING, E.: Endogenous rhythms in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **7**, 71—90 (1956).
- CASPER, R., u. A. PIRSON: Grund- und Säurestoffwechsel in Blättern von *Kalanchoe rotundifolia* HAW. bei Farblichtkultur. *Flora (Jena) A* **156**, 177—196 (1965).
- COLES, C. H., and E. R. WAYGOOD: On the extraction of enzymes from succulent plants. *Canad. J. Bot.* **35**, 25—30 (1957).

- DELMAS, J., N. POITOU et J. BATS: Détermination chromatographique des variations quantitatives des principaux acides organiques de la feuille de vigne. C. R. Acad. Sci. (Paris) **253**, 1018—1020 (1961).
- — et B. LEVADOU: Les acides organiques dans la feuille de vigne. Ann. agronom., Paris **14**, 951—965 (1963).
- DUPÉRON, R.: Identification et dosage des acides organiques hydrosolubles, non volatils, par chromatographie, chez les végétaux. Une nouvelle méthode de dosage par chromatographie sur papier. Rev. gén. Bot. **63**, 137—166 (1956).
- EHRET, C. F., and E. TRUCCO: Molecular models for the circadian clock. I. The chronon concept. J. theor. Biol. **15**, 240—262 (1967).
- FREEBAIRN, H. T.: Changes in amounts of organic acids in *Citrus* leaves during periods of cold storage. Nature (Lond.) **188**, 243—244 (1960).
- GNEDKOV, P. A.: Chromatographic investigation of organic acids in extracts of *Crassulaceae*. Farmatsevt. Zh. (Kiev) **18**, 27—31 (1963a). Zit. nach Chem. Abstr. **59**, 14292b (1963).
- Chemical changes of di- and tricarboxylic acids in storage of succulent plants. Farmatsevt. Zh. (Kiev) **18**, 52—55 (1963b). Zit. nach Chem. Abstr. **60**, 5891c (1964).
- GREGORY, F. G., I. SPEAR, and K. V. THIMANN: The interrelation between CO<sub>2</sub>-metabolism and photoperiodism in *Kalanchoe*. Plant. Physiol. **29**, 220—229 (1954).
- HEGNAUER, R.: Chemotaxonomie der Pflanzen, Bd. 3. Basel u. Stuttgart: Birkhäuser 1964.
- HEITFUSS, R.: Erfahrungen zur quantitativen papierchromatographischen Bestimmung organischer Säuren. Angew. Bot. **31**, 61—62 (1957).
- HELLSTRÖM, N.: Investigations on oil turnips and oil rape. VI. Further investigations in chemical composition. Acta agricult. scand. (Stockh.) **6**, 17—44 (1956).
- KRAUS, G.: Über Stoffwechsel bei den Crassulaceen. Abh. naturforsch. Ges. Halle **16**, 393—478 (1886).
- KREBS, H. A., and L. V. EGGLESTON: The microdetermination of isocitric and cis-aconitic acids in biological material. Biochem. J. **38**, 426—437 (1944).
- KULL, U.: Über das Vorkommen und das physiologische Verhalten der Sedoheptulose im Rahmen des Kohlenhydrathaushaltes vegetativer Pflanzenteile. Beitr. Biol. Pflanzen **41**, 231—300 (1965).
- Zum physiologischen Verhalten der Sedoheptulose im Rahmen des Kohlenhydrathaushaltes einiger Crassulaceen. Ber. dtsh. bot. Ges. **80**, 187—198 (1967).
- LI, P. H., C. J. WEISER, and R. VAN HUYSTEE: Changes in metabolites of redosier dogwood during cold acclimation. Proc. amer. Soc. horticult. Sci. **86**, 723—730 (1965).
- MACLENNAN, D. H., H. BEEVERS, and J. L. HARLEY: Compartmentation of acids in plant tissues. Biochem. J. **89**, 316—327 (1963).
- MISHRA, D., and B. MOHANTY: Diurnal variation of the acid phosphatase activity in the leaves of cowpea. Planta (Berl.) **75**, 239—242 (1967).
- NUERNBERGK, E. L.: Endogener Rhythmus und CO<sub>2</sub>-Stoffwechsel bei Pflanzen mit diurnalem Säurerhythmus. Planta (Berl.) **56**, 28—70 (1961).
- Temperatur und Kohlendioxydstoffwechsel bei *Bryophyllum daigremontianum* (R. HAMET et FERRIER) BERG. Port. Acta biol. A **6**, 298—358 (1962).
- OVERBECK, G.: Zellphysiologische Studien an *Bryophyllum* in Zusammenhang mit dem täglichen Säurewechsel. Protoplasma (Wien) **48**, 241—260 (1957).
- PALMER, J. K., and A. H. WYMAN: The organic acids in banana leaves. Phytochemistry **4**, 305—310 (1965).

- PLOUVIER, V.: Sur l'acidité libre hydrosoluble de quelques gymnospermes et autres plantes. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **41**, 603—610 (1959).
- POHLOUDEK-FABINI, R., CHR. WOLLMANN u. H. WOLLMANN: Beiträge zur Chemie und Physiologie einiger stoffwechselchemisch wichtiger Säuren. III. Ein einfacher papierchromatographischer Nachweis für Isocitronensäure in Pflanzenmaterial. J. Chromatogr. **2**, 525—530 (1959).
- , u. E. PAPKE: Zur Kenntnis des Ketosäurestoffwechsels von *Datura stramonium* L., var. *stramonium*. IV. Jahreszeitliche Schwankungen des Ketosäuregehalts in verschiedenen Organen von *Datura stramonium* L. Pharmazie **19**, 661—671 (1964).
- PRIDHAM, J. B., and W. HASSID: Biosynthesis of raffinose. Plant Physiol. **40**, 984—986 (1965).
- QUEIROZ, O.: Sur le métabolisme acide des Crassulacées. II. Action à long terme de la température de jour sur les variations de la teneur en acide malique en jours courts. Physiol. Vég. **4**, 323—339 (1966).
- RAMSTAD, E., and H. LIEBERMAN: Studies on the acid metabolism of *Crassulaceae*. Medd. norsk farm. Selsk. **17**, 214—225 (1955).
- RANSON, S. L.: Non volatile mono-, di-, and tricarboxylic acids. (Chromatographic and ion exchange methods.) In: K. PAECH u. M. V. TRACEY (Hrsg.), Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. 2, S. 539—582. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.
- The plant acids. In: J. BONNER and J. E. VARNER (ed.), Plant biochemistry, p. 493—525. New York and London: Academic Press 1965.
- , and M. THOMAS: Crassulacean acid metabolism. Ann. Rev. Plant Physiol. **11**, 81—110 (1960).
- RAO, J. J.: Effects of some organic acids on leaf phosphatase from french bean. Proc. ind. Acad. Sci. B **62**, 149—155 (1965).
- SCHEFFER, F., R. KICKUTH u. H. LORENZ: Methodische Untersuchungen zur Trennung und Bestimmung von organischen Säuren in Pflanzenmaterial. Qual. Plant. Mater. veg. (Den Haag) **12**, 342—348 (1965).
- SCHNEIDER, A.: Les variations annuelles des acides organiques du pêcher. C. R. Acad. Sci. (Paris) **246**, 2029—2032 (1958).
- SCHWARZE, P.: Ein Beitrag zur Kenntnis des Säurestoffwechsels nichtsucculenter Pflanzen. Planta (Berl.) **18**, 168—210 (1933).
- SCHWEPPE, H.: Organische Säuren. In: H. F. LINSKENS (Hrsg.), Papierchromatographie in der Botanik, 2. Aufl., S. 110—134. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.
- SENSER, M., u. O. KANDLER: Galactinol, ein Galactosyldonor für die Biosynthese der Zucker der Raffinosefamilie in Blättern. Z. Pflanzenphysiol. **57**, 376—388 (1967).
- SHKOLNIK, R. Y.: Quantitative separation of plant organic acids by partition chromatography on silica gel. (Russ.) Dokl. Akad. Nauk SSSR, **98**, 443—446 (1954).
- SMALL, J.: Estimation of pH values (Living tissues and saps). In: K. PAECH u. M. V. TRACEY (Hrsg.), Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. 1, S. 375—392. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.
- SODERSTROM, T. R.: The isocitric acid content of crassulacean plants and a few succulent species from other families. Amer. J. Bot. **49**, 850—855 (1962).
- TANNER, W., and O. KANDLER: Biosynthesis of stachyose in *Phaseolus vulgaris*. Plant Physiol. **41**, 1540—1542 (1966).
- TING, I. P.: Inhibition of maize root PEP carboxylase by L-malate. Plant Physiol. **42**, Suppl. S-3 (1967).

- VICKERY, H. B.: The behavior of isocitric acid in excised leaves of *Bryophyllum calycinum* during culture in alternating light and darkness. *Plant. Physiol.* **27**, 9—17 (1952).
- The effect of temperature on the behavior of malic acid and starch in leaves of *Bryophyllum calycinum* cultured in darkness. *Plant Physiol.* **29**, 385—392 (1954).
- Effect of light upon the behavior of citric acid in leaves of *Bryophyllum calycinum* SALISB. *Plant Physiol.* **34**, 418—427 (1959).
- WOLF, J.: Nichtflüchtige Mono-, Di- und Tricarbonsäuren. (Unter Ausschluß chromatographischer Methoden.) In: K. PAECH u. M. V. TRACEY (Hrsg.), *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Bd. 2, S. 478—538. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.
- Der diurnale Säurerhythmus. In: W. RUHLAND (Hrsg.), *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, Bd. XII, 2, S. 809—889. Berlin-Göttingen Heidelberg: Springer 1960.
- WOOD, W. M. L.: Organic acid metabolism of *Sedum praealtum*. *J. exp. Bot.* **3**, 336—355 (1952).

Dr. ULRICH KULL  
Botanisches Institut der Universität  
D 7000 Stuttgart-Ost, Cannstatter Str. 212