

Aus dem Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Abt. Hämmerling,
Wilhelmshaven

DER NH_3 -GEHALT KERNHALTIGER UND KERNLOSER *ACETABULARIEN*

Von

H. J. BREMER und H. G. SCHWEIGER*

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. Februar 1960)

Einleitung

Die einkernige Grünalge *Acetabularia mediterranea* wird seit längerer Zeit zur Prüfung der Kernabhängigkeit oder relativen Kernunabhängigkeit cytoplasmatischer Prozesse verwendet, da ihr im Rhizoid gelegener Zellkern leicht zu entfernen ist (HÄMMERLING 1934). Die kernlose Zelle zeigt die Fähigkeit weiterzuwachsen, Wirtel und Hüte zu bilden (HÄMMERLING 1934, HÄMMERLING 1957), Eiweiß (VANDERHAEGHE 1954, BRACHET et al. 1955, CLAUSS 1958), darunter Plastidenpigmente (RICHTER 1958), Kohlenhydrate (CLAUSS und KECK 1959) sowie säurelabile Phosphate und Phospholipoide (SCHWEIGER und BREMER 1960) zu synthetisieren (HÄMMERLING et al. 1958). Mit Ausnahme der Kohlenhydrate ist aber diese Zunahme mit der Zeit geringer als in kernhaltigen Vergleichspflanzen. Dagegen nimmt die Aktivität der „morphogenetischen Substanzen“ nicht mehr zu (HÄMMERLING 1934, J. u. CH. HÄMMERLING 1959). Außerdem ist die kernlose Pflanze nicht mehr in der Lage, ihren RNS-Bestand zu vermehren (RICHTER 1959, NAORA, RICHTER u. NAORA 1959).

Im Verlauf von Untersuchungen über die Besonderheiten des Stoffwechsels kernloser Zellen wurden in kernhaltigen und kernlosen Pflanzen der Ammoniak- und der Eiweißgehalt bestimmt. Es wurde dabei auch die Möglichkeit geprüft, den NH_3 -Gehalt von Trichloressigsäure-Filtraten direkt mit der Hypochlorit-Phenolat-Methode (LUBOCHINSKY u. ZALTA 1954, SCHWEIGER et al. 1957) zu bestimmen und durch diese einfachere Methode die kompliziertere Mikrodiffusionsmethode nach CONWAY (1950) zu ersetzen.

Untersuchungen über den Gehalt an Ammoniak scheinen wegen seiner zentralen Stellung im Stickstoffhaushalt autotropher Pflanzen besonders erwünscht. Bisher fehlen entsprechende Arbeiten an *Acetabularia*. Versuche von GIARDINA (1954) beziehen sich nur auf den säurelöslichen Stickstoff. Er fand, daß der säurelösliche Stickstoff in

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

kernlosen Zellen von *A. mediterranea* stärker zunimmt als in kernhaltigen. Nach BRACHET et al. (1955) besteht dieser vorwiegend aus α -Aminostickstoff, eine Annahme, die sich, wie wir sehen werden, nicht aufrecht erhalten läßt.

Methodik

Material. Die verwendeten Zuchten von *Acetabularia mediterranea* wurden im hiesigen Institut gemäß den Vorschriften von HÄMMERLING (1944) und BETH (1953) in Erdschreiberlösung herangezogen.

Zu Versuchen wurden jeweils noch hutlose Pflanzen gleicher Aufzucht verwendet. Die angegebenen Werte beziehen sich auf 4 Parallelbestimmungen von je 50 Pflanzen. Die Mittelwerte der Längen pro weiterwachsende Pflanze und die Anzahl der entstandenen Hüte pro 50 Pflanzen finden sich in den Abbildungen.

Kernlose Pflanzen wurden durch Amputation des Rhizoids mit der Weckerschere hergestellt. Ihre Zucht bis zur Verarbeitung erfolgte unter den gleichen Bedingungen wie die der kernhaltigen *Acetabularien* an der künstlichen Sonne. Zu Beginn eines Versuches wurden von 15–20 mm langen Pflanzen einer Kulturreihe bei der Hälfte die Rhizoide entfernt. Am 0., 10. und 20. Tag entnahmen wir 4×50 kernhaltige und die gleiche Anzahl kernloser Pflanzen. Um gleiche Versuchsbedingungen zu schaffen, wurden auch bei den bisher kernhaltig gewachsenen Pflanzen 2 Tage vor der Aufarbeitung das Rhizoid entfernt und sie anschließend diffusum Tageslicht ausgesetzt. In 2 Versuchsreihen wurden die ganzen, kernhaltigen Pflanzen ohne vorherige Entfernung des Kernes homogenisiert.

Nach Messung der Wuchsleistung, Entfernung anhaftender Verunreinigungen durch Pinseln und kurzem Waschen in destilliertem Wasser wurden je 50 Pflanzen in 10 ml 5%iger, eisgekühlter Trichloressigsäure mit vorgekühlten Glashomogenisatoren vom Typ Elvehjem-Potter homogenisiert. Danach erfolgte die Trennung der säurelöslichen von den unlöslichen Bestandteilen in der Kühlzentrifuge zwischen 0 und 5° C bei 40,000 g in 20 min. Nach dem Dekantieren wurde der klare Überstand bei –20° C bis zur Bestimmung eingefroren. Das Sediment wurde einmal mit 5%iger Trichloressigsäure und einmal mit destilliertem Wasser gewaschen und für die Gesamteiweißbestimmung nach der Methode von LOWRY et al. (1950) verwendet.

Für die Ammoniakbestimmung wurden folgende Reagentien benutzt (LUBOCHINSKY und ZALTA 1954, SCHWEIGER et al. 1957):

1. Phenolreagens. 50 g Phenol p. a. und 25 g Natriumhydroxyd p. a. werden mit destilliertem Wasser auf 500 ml aufgefüllt. Das Reagens hält sich bei –20° mindestens zwei Monate, bei Zimmertemperatur dagegen nicht länger als eine Woche.

2. Phosphatpuffer, pH 12,4. 38,017 g (0,1 M) $Na_3PO_4 \cdot 12 H_2O$, p. a., und 35,817 g (0,1 M) $Na_2HPO_4 \cdot 12 H_2O$, p. a., werden in destilliertem Wasser gelöst und auf 1000 ml aufgefüllt.

3. Nitroprussidnatrium, p. a., 100 mg werden in 10 ml destilliertem Wasser gelöst. Von dieser Lösung werden 4 ml auf 100 ml mit Aqua dest. aufgefüllt. Diese Lösung muß unmittelbar vor jeder Bestimmung neu angesetzt werden.

4. Die käufliche Natriumhypochloritlösung (0,65 M) wird 1:5 verdünnt. Sie muß chlorfrei sein. Sie wird vor jeder Bestimmung neu verdünnt.

Ausführung. Für die Bestimmung wurde ein Endvolumen von 20 ml gewählt. Zu einer Probe, die 0,5 bis 10 $\mu g NH_3$ in einem Probenvolumen bis zu 12 ml enthalten kann, werden 2 ml Phenolreagens (2,23 mM), 2 ml Phosphatpuffer, 2 ml Nitroprussidnatriumlösung (2,68 μM) und 2 ml der verdünnten Hypochloritlösung

(0,226 mM) gegeben. Das Endvolumen wird durch Auffüllen mit destilliertem Wasser hergestellt. Nach dem Umschütteln läßt man die Farbe bei Zimmertemperatur im Dunkeln im Laufe 1 Std sich entwickeln. Sie ist mindestens 24 Std stabil. Wichtig für die Bestimmung ist, daß die Reagentien eiskalt sind, da sonst eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse schwer zu erreichen ist. Bezüglich der Proportionalität zwischen Farbentwicklung und NH_3 -Konzentration sei auf die Arbeit von LUBOCHINSKY und ZALTA (1954) verwiesen. Das Spektrum des Farbkomplexes hat sein Maximum bei 646 m μ . Glutamin, Glutaminsäure und Harnstoff haben keinen Einfluß auf die Farbbildung (SCHWEIGER et al. 1957).

Die NH_3 -Bestimmung erfolgte direkt im Trichloressigsäure-Extrakt. Es wurden jeweils 0,25 ml verwendet. Zur Sicherung der Ergebnisse wurden in einigen Fällen Parallelbestimmungen nach der Mikrodiffusionsmethode von CONWAY (1950) durchgeführt. Die NH_3 -Konzentration im Einsatz der Schälchen (0,01 N HCl) wurde dabei nach der Hypochlorit-Phenolat-Methode bestimmt.

Ergebnisse

Um die Möglichkeit auszuschließen, daß bei der hier angewendeten, relativ einfachen „direkten“ NH_3 -Bestimmung in den Trichloressigsäure-Extrakten von *Acetabularia* nicht der gesamte Ammoniak erfaßt oder durch andere Substanzen ein höherer Wert vorgetäuscht wird, wurde ein Vergleich zwischen der direkten Ammoniakbestimmung und der spezifischen, aber umständlicheren Mikrodiffusionsmethode nach CONWAY durchgeführt. Wie aus der Tabelle zu entnehmen ist, stimmen die mit beiden Methoden gewonnenen Werte gut überein.

Von insgesamt sechs Versuchsreihen seien drei aufgeführt, die anderen entsprechen diesen. Es wurde die Längenzunahme, die Hutbildung, die Ammoniak- und die Eiweißkonzentration bei kernhaltigen und kernlosen Pflanzen im Verlauf ihres Wachstums am 0.,

Tabelle. Vergleich der Conway-Methode mit der direkten NH_3 -Bestimmung durch die Hypochlorit-Phenolat-Methode in Trichloressigsäureextrakten aus *Acetabularia mediterranea*

Die Prozentangaben sind auf die Conway-Methode bezogen.

TCA-Extrakt	NH_3 -Gehalt in μMol		Gefunden in Prozent
	nach CONWAY	durch direkte Bestimmung	
0,25 ml I	0,326	0,325	99,5
0,25 ml II	0,230	0,237	103,0
0,25 ml III	0,324	0,314	97,0
0,25 ml IV	0,235	0,244	103,7

10. und 20. Tag gegenübergestellt. In den Versuchen 1 bis 3 wurden die kernhaltigen Pflanzen 2 Tage vor ihrer Aufarbeitung kernlos gemacht.

In Abb. 1a zeigt das Wachstum der kernhaltigen und der kernlosen Pflanzen den üblichen Verlauf. Die Längenzunahme der kernlosen *Acetabularien* ist, wie üblich, zwischen dem 10. und dem 20. Tag bereits zum Stillstand gekommen, auch bei denen, die keine Hüte bildeten. Eine Eiweißsynthese ist auch bei den kernlosen Pflanzen festzustellen (Abb. 1c), wie es bereits durch die Versuche von VANDERHAEGHE (1954), BRACHET et al. (1955) sowie HÄMMERLING et al. (1958) bekannt war.

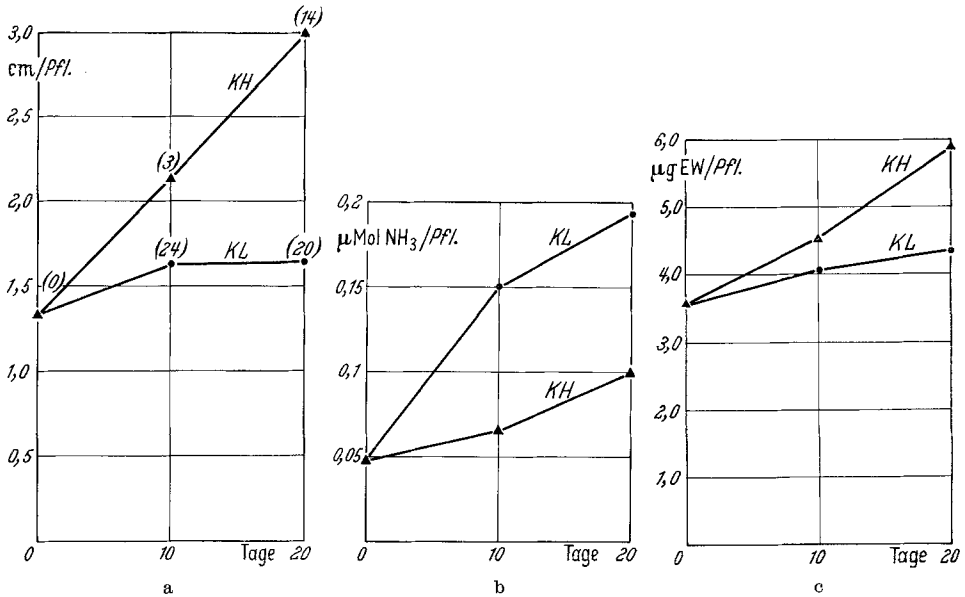


Abb. 1a—c. Es wird die Wuchsleistung, das NH_3 - und das Eiweißverhalten kernhaltiger und kernloser Pflanzen aus Versuch 2 gezeigt. Bei kernhaltigen Pflanzen wurde 2 Tage vor ihrer Aufarbeitung der Kern entfernt. Die einzelnen Werte entsprechen dem Mittelwert von 4 Vergleichskulturen von je 50 Pflanzen. a Längenzunahme in cm/Pflanze. Die eingeklammerten Zahlen geben die Anzahl der Hüte pro 50 Pflanzen an. b Ammoniakgehalt kernhaltiger und kernloser Pflanzen. c Das Eiweißverhalten der kernlosen und kernhaltigen Pflanzen

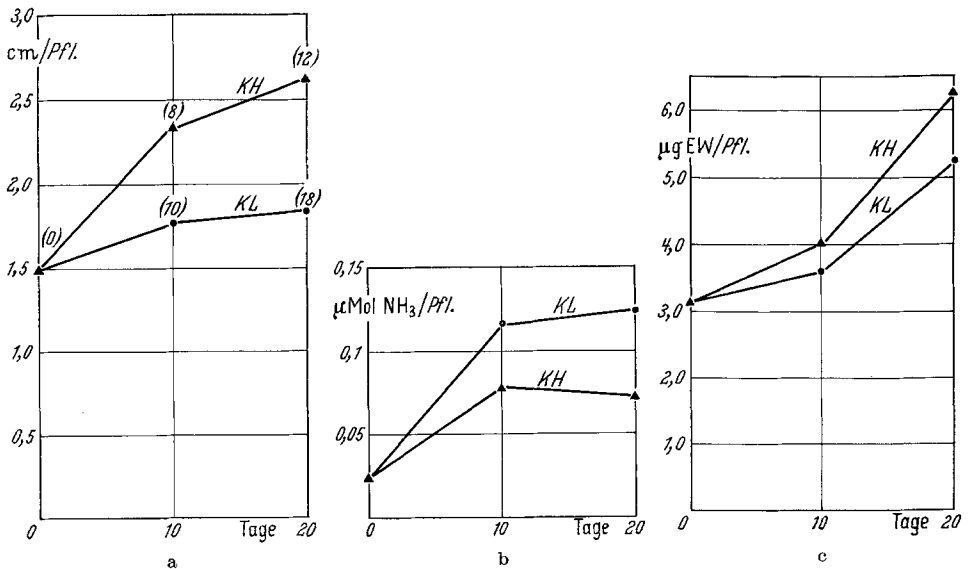


Abb. 2a—c. Wuchsleistung (Stiel- und Hutbildung), NH_3 - und Eiweißverhalten in Versuch 3

Sie dauert länger als das Wachstum (WERZ u. HÄMMERLING 1959). Die Eiweißzunahme ist in den kernhaltigen größer als in den kernlosen Algen. Die Eiweißwerte liegen aber nach der generell durchgeführten Bestimmung nach LOWRY et al. (1950) in der Gesamtheit niedriger als bei ausschließlicher Reststickstoffbestimmung nach Veraschung des säureunlöslichen Sediments.

Wie Abb. 1 b zeigt, ist die Konzentration des freien Ammoniaks in *Acetabularien* unerwartet hoch. In kernlos gewachsenen Zellen ist seine Konzentration signifikant höher als in kernhaltigen. Es scheint nach dem Kurvenverlauf ein reziprokes Verhalten zwischen Protein- und Ammoniakzunahme während des Wachstumsprozesses zu bestehen. Ein analoges Bild zeigen die Ergebnisse von Versuch 3 (Abb. 2 a—c).

Um dem Einwand zu begegnen, daß das Ammoniak bei den kernhaltigen Zellen durch die frische Schnittfläche bei der Entfernung des Kernes abdiffundiert sei und so die in bezug auf die kernlosen Pflanzen niedrigeren NH_3 -Werte zustande kommen, wurden in 2 Versuchen die kernhaltigen Pflanzen in toto aufgearbeitet. Die Ergebnisse eines dieser Versuche zeigt Abb. 3. Auch hier findet sich in kernlosen Pflanzen eine Ammoniakvermehrung, die jene der kernhaltigen Zellen übertrifft.

Zur Kontrolle, ob das Ammoniak der wesentliche Stickstoffbestandteil im Trichloressigsäure-Extrakt ist, wurde in einigen Versuchsreihen die α -Aminostickstoffbestimmung nach YEMM und COCKING (1955) durchgeführt. Diese Methode entspricht der von BRACHET et al. angewendeten Methode nach MOORE und STEIN (1948), nur daß hier das Ninhydrin in Methylglykol gelöst und mit Kaliumcyanid in reduzierter Form gehalten wird. In Abb. 4 ist einer dieser Versuche dargestellt. Der Kurvenverlauf entspricht ungefähr demjenigen, wie er von BRACHET et al. (1955) angegeben ist. Jedoch ist zu bedenken, daß in diesem Fall nicht der wahre α -Aminostickstoff bestimmt wurde. Da das freie Ammoniak ebenfalls, allerdings mit etwas schwankender Farbentwicklung mit dem Ninhydrinreagens reagiert, muß der α -Aminostickstoffwert mit Hilfe eines Standards für den Ammoniakgehalt korrigiert werden. Dies ist bei geringer NH_3 -Konzentration, bezogen auf die Aminosäurekonzentration, mit hinreichender Genauigkeit möglich. Wenn jedoch das Ammoniak die Aminosäuren in ihrer Konzentration wesentlich übertrifft, wie es bei den *Acetabularien* der Fall ist, wird durch die relativ schwankenden Extinktionen, die bei der Reaktion von Ammoniak mit dem Ninhydrinreagens auftreten, eine genaue Bestimmung der α -Aminostickstoffkonzentration unmöglich. Nach einigen orientierenden Versuchen liegt der α -Aminostickstoffgehalt der Pflanze bei nur $0,01 \mu\text{M}$. Für diese Bestimmungen wurde das Ammoniak vor der α -Aminostickstoffbestimmung durch Einengen in leicht alkalischem Milieu vertrieben. In den Angaben von BRACHET et al. (1955) findet sich kein Hinweis

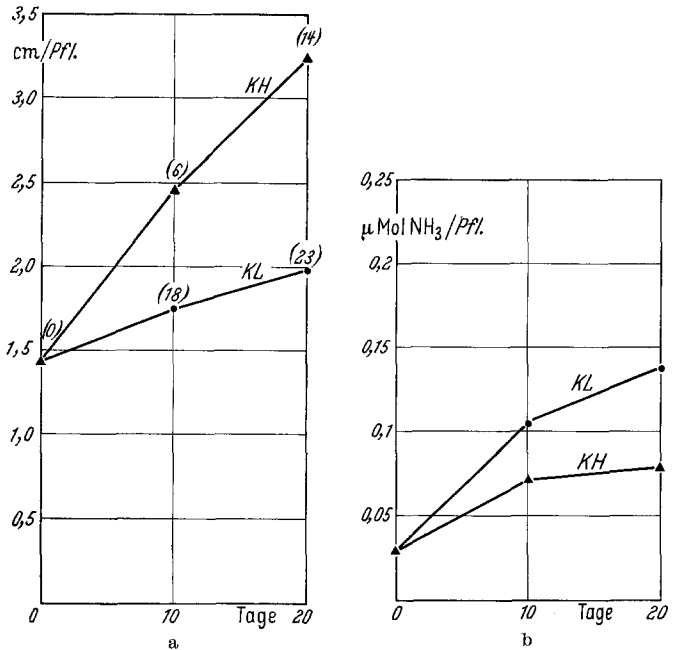


Abb. 3 a u. b. Es wird die Wuchseleistung und das Ammoniakverhalten kernloser und kernhaltiger *Acetabularia* gezeigt, bei denen die kernhaltigen Zellen in toto aufgearbeitet wurden ohne vorherige Entfernung des Kernes. Versuch 4. (Die Stielbildung war in diesem Falle zwischen dem 10. und 20. Tage noch nicht beendet)

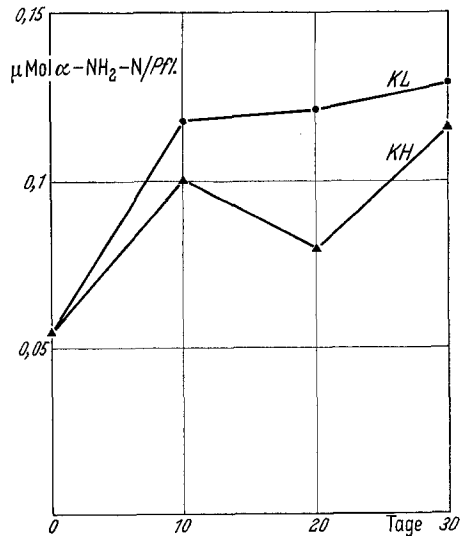


Abb. 4. Die „scheinbare“ α-Aminostickstoffkonzentration kernhaltiger und kernloser Pflanzen. Das NH₃ wurde nicht vor der Bestimmung vertrieben. α-Aminostickstoffbestimmung nach der Methode von YEMM und COCKING (1955). Versuch 1
 ▲—▲—▲ kernhaltige *Acetabularia* ●—●—● kernlose *Acetabularia*

darauf, daß der NH_3 -Gehalt bestimmt und zur Korrektur berücksichtigt wurde. Die fehlende Korrektur würde die hohen α -Aminostickstoffwerte erklären.

Diskussion

1. Das Ammoniak nimmt eine zentrale Stellung im Stickstoffhaushalt autotropher Pflanzen ein, da offenbar der gesamte für den Einbau in organische Verbindungen benötigte Stickstoff die Stufe des NH_3 passieren muß. Das NH_3 wird im allgemeinen durch enzymatische Reduktion von aufgenommenem Nitrat gebildet, doch können auch Ammoniumsalze von der Pflanze direkt verwendet werden. Die Glutaminsäuredehydrogenase scheint in Pflanzen die einzige Aminosäuredehydrogenase zu sein, welche den Ammoniakeinbau katalysiert (FINCHAM 1951). Nach VIRTANEN und TARNANEN (1932) besitzen außerdem einige Pflanzen Aspartaseaktivität. Sicher nicht ohne Bedeutung ist unter gewissen Bedingungen der Ammoniakeinbau mit Hilfe der Glutamin- und der Asparaginsynthetase. Diese enzymatischen Reaktionen kommen bei ihrer Umkehr auch als NH_3 -Quelle in Frage. Daneben ist aber in Analogie zu tierischen Zellen wie z. B. jugendlichen Erythrocyten und Nervenzellen auch noch eine Ammoniakfreisetzung aus Adeninderivaten denkbar, wenn auch die entsprechenden Desaminasen mit Ausnahme der Adenosindesaminase bei *Acetabularien* noch nicht untersucht worden sind. Eine Adenosindesaminase ließ sich in *Acetabularia* nicht nachweisen (SCHWEIGER unveröff.).

2. Der erhöhte Ammoniakgehalt kernloser *Acetabularien* weist darauf hin, daß durch die Entkernung ein Prozeß ausfällt, der direkt oder indirekt den Ammoniakhaushalt beeinflußt und so die Akkumulation bedingt. Auf welcher Stufe diese Unterbrechung zu suchen ist, läßt sich aus den vorliegenden Versuchen nicht mit Sicherheit entnehmen. Es dürfte sich dabei um eine Störung von Ammoniakeinbau oder -verwertung handeln. Dagegen ist eine durch den Verlust des Kernes hervorgerufene Steigerung des Abbaus N-haltiger Substanz deshalb unwahrscheinlich, weil auch in den kernlosen Zellen eine Proteinvermehrung stattfindet, die an das Vorhandensein von N-haltigen Vorstufen gebunden ist. Theoretisch könnte noch eine erhöhte Synthese- oder Akkumulationsrate in Betracht gezogen werden. Hinzuweisen ist auf die Analogie des Verhaltens von NH_3 und Kohlenhydraten (CLAUSS u. KECK 1959) in kernlosen Zellen. Beide Produkte nehmen in kernlosen Zellen stärker als in kernhaltigen zu.

3. GIARDINA (1954) bestimmte in säurelöslichen Extrakten den Gesamtstickstoff nach Veraschung. Er konnte deshalb keine Angaben über die Natur der vorhandenen Stickstoffverbindungen machen. Die Annahme von BRACHET et al. (1955), daß der trichloressigsäurelösliche

Extrakt von *Acetabularia mediterranea* vorwiegend Aminosäuren als stickstoffhaltige Verbindungen enthält, dürfte aus den bereits angeführten Gründen nicht zutreffend sein.

4. Der Ammoniakgehalt unserer Kulturflüssigkeit, des „Erd-schreibers“, betrug etwa $0,05 \mu\text{M NH}_3/\text{ml}$. Das würde bei dem geringen Volumen einer Pflanze bedeuten, daß zwischen der Ammoniakkonzentration der Zelle und der des Kulturmediums ein beträchtlicher Konzentrationsgradient besteht. *Acetabularia* muß also die Fähigkeit haben, Ammoniak zu akkumulieren.

5. Infolge der Übereinstimmung der Ergebnisse zwischen der direkten Ammoniakbestimmung und der Mikrodiffusionsmethode nach CONWAY ist es unwahrscheinlich, daß andere Substanzen bei unseren Versuchen an der Farbentwicklung beteiligt sind und als Ammoniak erscheinen. Bei der Anwendung der direkten Ammoniakbestimmung für Trichloressigsäure-Extrakte aus anderen Pflanzen ist es ratsam, vorher durch Vergleich mit der Mikrodiffusion die Anwendbarkeit an dem betreffenden Objekt zu prüfen. Es ist mit dieser Methode möglich, große Serienbestimmungen bei einem mittleren Fehler von unter 2% in relativ kurzer Zeit durchzuführen. Außerdem läßt sich die Empfindlichkeit der Methode durch Verkleinerung des Endvolumens noch weit unter $1 \mu\text{g NH}_3$ pro Probe ausdehnen. Auch eine Kombination mit der Mikrodiffusionstechnik ist möglich.

Zusammenfassung

Es wurde der Ammoniakgehalt kernloser und kernhaltiger *Acetabularia mediterranea* im Verlauf ihres Wachstums bestimmt. Er ist unerwartet hoch, bezogen auf andere N-Verbindungen. In kernlosen Pflanzen nimmt der Ammoniakgehalt signifikant stärker zu als in kernhaltigen. Die Bestimmung erfolgte im Trichloressigsäure-Extrakt durch direkte Bestimmung mit der Hypochlorit-Phenolat-Methode. Die Verwendbarkeit dieser Methode wurde durch Vergleich mit der Mikrodiffusionsmethode nach CONWAY geprüft.

Literatur

BETH, K.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf die Formbildung von kernhaltigen und kernlosen *Acetabularia*-Zellen. Z. Naturforsch. 8b, 334—342 (1953). — BRACHET, J., H. CHANTRENNE et F. VANDERHAEGHE: Recherches sur les Interactions Biochimiques entre le Noyau et le Cytoplasme chez les Organismes Unicellulaires. II. *Acetabularia mediterranea*. Biochim. biophys. Acta 18, 544—563 (1955). — CLAUSS, H.: Über quantitative Veränderungen der Chloroplasten- und cytoplasmatischen Proteine in kernlosen Teilen von *Acetabularia mediterranea*. Planta (Berl.) 52, 334—350 (1958). — CLAUSS, H., u. K. KECK: Über die löslichen Kohlenhydrate der Grünalge *Acetabularia mediterranea* und deren quantitative Veränderungen in kernhaltigen und kernlosen Teilen. Planta

(Berl.) **52**, 543—553 (1959). — CONWAY, E. J.: Microdiffusion analysis and volumetric error. London 1950. — FINCHAM, J. R. S.: The occurrence of glutamic dehydrogenase in *Neurospora* and its apparent absence in certain mutant strains. J. gen. Microbiol. **5**, 793—806 (1951). — GIARDINA, G.: Rôle of the nucleus in the maintenance of the protein level in the alga *Acetabularia mediterranea*. Experientia (Basel) **10**, 215 (1954). — HÄMMERLING, J.: Über formbildende Substanzen bei *Acetabularia mediterranea*, ihre räumliche und zeitliche Verteilung und ihre Herkunft. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **131**, 1—81 (1934). — Zur Lebensweise, Fortpflanzung und Entwicklung verschiedener Dasycladaceen. Arch. Protistenk. **97**, 7—56 (1944). — Nucleus and cytoplasm in *Acetabularia*. VIII. Congr. Internat. de Botanique, Paris, 1954. C. R. Séances et Rapp. et Communic. déposés lors du Congr. dans la Section 10, p. 87—103, 1957. — HÄMMERLING, J. u. CH.: Über Bildung und Ausgleich des Polaritätsgefälles bei *Acetabularia*. Planta (Berl.) **53**, 522—531 (1959). — HÄMMERLING, J., H. CLAUSS, K. KECK, G. RICHTER and G. WERZ: Growth and protein synthesis in nucleated and enucleated cells. Exp. Cell Res. Suppl. **6**, 210—226 (1958). — LOWRY, O. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR and R. J. RANDALL: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. biol. Chem. **186**, 265—275 (1950). — LUBOCHINSKY, B., et J. P. ZALTA: Microdosage Colorimétrique de l'Azote Ammoniacale. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **36**, 1363—1366 (1954). — MOORE, S., and W. H. STEIN: Photometric ninhydrin method for use in the chromatography of amino acids. J. biol. Chem. **176**, 367—375 (1948). — NAORA, H., G. RICHTER and H. NAORA: Further Studies on the Synthesis of RNA in enucleate *Acetabularia mediterranea*. Exp. Cell Res. **16**, 134—136 (1959). — RICHTER, G.: Das Verhalten der Plastidenpigmente in kernlosen Zellen und Teilstücken von *Acetabularia mediterranea*. Planta (Berl.) **52**, 258—275 (1958). — Die Auswirkungen der Zellkernentfernung auf die Synthese von Ribonukleinsäure und Cytoplasma-Proteinen bei *Acetabularia mediterranea*. Biochim. biophys. Acta **34**, 407—419 (1959). — SCHWEIGER, H. G., u. H. J. BREMER: Das Verhalten verschiedener P-Fractionen in kernhaltiger und kernloser *Acetabularia mediterranea*. Im Druck. — SCHWEIGER, H. G., S. RAPOPORT, E. SCHÖLZEL u. K. RICHTER: Непосредственное определение аммиака в трихлоруксусных фильтрах форменных элементов крови. (Direkte Ammoniakbestimmung im Trichloressigsäureextrakt von Blutkörperchen.) Вопросы медицинской химии. (Fragen der medizinischen Chemie.) **3**, 65—68 (1957). — VANDERHAEGHE, F.: Les Effets de l'Enucléation sur la Synthèse des Protéines chez *Acetabularia mediterranea*. Biochim. biophys. Acta **15**, 281—287 (1954). — VIRTANEN, A. J., u. J. TARNANEN: Die enzymatische Spaltung und Synthese der Asparaginsäure. Biochem. Z. **250**, 193—211 (1932). — WERZ, G., u. J. HÄMMERLING: Proteinsynthese in wachsenden und nicht wachsenden kernlosen Zellteilen von *Acetabularia*. Planta (Berl.) **53**, 145—161 (1959). — YEMM, E. W., and E. C. COCKING: The determination of amino-acids with ninhydrin. Analyst **80**, 209—213 (1955).

Dr. H. J. BREMER und Dr. H. G. SCHWEIGER,
Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Abt. Hämmerling,
Wilhelmshaven, Anton Dohrn-Weg