

DER SUBSTITUTIONSSPEZIFISCHE EINFLUSS VON CHALKONEN AUF DIE ANTHOCYANBIOSYNTHESE BEI *PETUNIA HYBRIDA*

RUDOLF ENDRESS

Lehrstuhl für Botanische Entwicklungsphysiologie, der Universität Hohenheim, B.R.D.
7 Stuttgart-Hohenheim, Emil Wolffstr. 25

(Eingegangen 22. Juli 1973. Angenommen 24. September 1973)

Key Word Index—*Petunia hybrida*; Solanaceae; anthocyanin biosynthesis; B-ring substitution pattern; chalcone substitution pattern.

Abstract—The effect of two chalcones, 3,4,2',4',6'-pentahydroxy- and the 4,2',4',6'-tetrahydroxy-3-methoxy-chalcone-4'-glucoside, on the synthesis of different flower anthocyanins in isolated petals of *Petunia hybrida* has been investigated. The results show that the synthesis of those anthocyanins, which have the same substitution pattern as the chalcone used was increased. This suggests that the chalcones are incorporated into the anthocyanins concerned. When the chalcones were fed together with acetic acid-[1-¹⁴C], this specific substitution effect was detectable only for the 3,4,2',4',6'-pentahydroxy-chalcone-4'-glucoside.

Zusammenfassung—Die Wirkung zweier Chalkone auf die Anthocyan-synthese in isolierten Petalen von *Petunia hybrida* wurde untersucht. Dabei zeigte sowohl das 3,4,2',4',6'-Penta-hydroxy- als auch das 4,2',4',6'-Tetra-hydroxy-3-methoxy-chalkon-4'-glukosid in Gegenwart von D-Glukose-[1-¹⁴C] eine substitutionsspezifische Wirkung. Es wird stets die Synthese desjenigen Anthocyans gefördert, das dem eingesetzten Chalkon in der Substitution entspricht. Dies läßt sich kaum anders als damit erklären, daß die Chalkone zur Synthese der Anthocyane herangezogen werden. Bei der gemeinsamen Fütterung von Chalkon und Acetat-[1-¹⁴C] zeigt nur das 3,4,2',4',6'-Pentahydroxy-chalkon-4'-glukosid eine substitutionsspezifische Wirkung.

EINLEITUNG

EINES der ungelösten Probleme im Verlaufe der Biosynthese der Flavonoide ist der Zeitpunkt der Ausbildung des B-Ring-Substitutionsmusters.

Auf Grund der vor allem an *Fagopyrum esculentum*,¹ *Brassica oleracea* var. *Capitata*² und *Datisca cannabina*³ gewonnenen Ergebnisse lag es nahe, im Sinne der Substitutionshypothese⁴ anzunehmen, daß das Substitutionsmuster dieses B-Rings im allgemeinen erst nach der Stufe der Chalkone ausgebildet wird. An *Petunia hybrida*⁵⁻⁹ aber auch an *Cicer arietinum*¹⁰ gewonnene Befunde sprechen jedoch dafür, daß die Bildung des Substitutionsmusters des B-Rings entsprechend der Zimtsäurestarthypothese⁵ bereits auf der Stufe der Zimtsäuren festgelegt werden kann. Die Existenz von Chalkonen im Biosyntheseweg von

¹ PATSCHKE, L. und GRIEBACH, H. (1965) *Z. Naturforsch.* **20**, 1039.

² GRIEBACH, H. und PATSCHKE, L. (1961) *Z. Naturforsch.* **16b**, 645.

³ GRIEBACH, H. und GRAMBOW, H. J. (1968) *Phytochemistry* **7**, 51.

⁴ HESS, D. (1968) *Biochemische Genetik*, p. 91, Springer, Berlin.

⁵ HESS, D. (1967) *Z. Pflanzenphysiol.* **56**, 12.

⁶ HESS, D. (1964) *Z. Naturforsch.* **19b**, 447.

⁷ HESS, D. (1964) *Plants* **60**, 568.

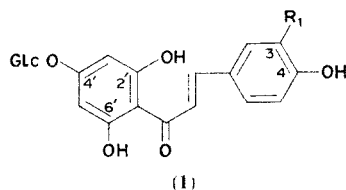
⁸ HESS, D. (1967) *Naturwissenschaften* **54**, 289.

⁹ HESS, D. (1968) *Z. Pflanzenphysiol.* **59**, 293.

¹⁰ BARZ, W. und GRIEBACH, H. (1964) *Z. Naturforsch.* **20**, 1039.

Flavonoiden wurde bereits zweimal nachgewiesen. So gelang es ihre Existenz einerseits im Biosyntheseweg von Isoflavonen in *Cicer arietinum*¹¹ nachzuweisen, andererseits über die Existenz des Systems Chalkon/Flavanon als "natural intermediate" (Definition nach Davis, 1955),¹² im Verlaufe der Biosynthese der Anthocyane bei *Petunia hybrida*¹³ im Stadium intensiver und linearer Anthocyanakkumulation. Es lag so nahe, die Frage des Zeitpunktes der Ausbildung der B-Ring-Substitution der Flavonoide unter Berücksichtigung dieser Befunde wieder aufzugreifen. Frühere Versuche mit Chalkonen^{3,14} und Flavanonen¹ legten die Vermutung nahe, daß ihr Substitutionsmuster auf oder nach der Chalkon/Flavanon-Stufe zumindest verändert werden kann. Wir versuchten der Lösung dieses Problems dadurch näher zu kommen, daß wir die Biosynthese der Flavonoide durch die Fütterung synthetischer Chalkonglukoside spezieller Substitution zu beeinflussen suchten.

Diese Versuche wurden von uns an Knospen des Cyanidin-Typs von *Petunia hybrida*^{15,16} durchgeführt. Wir verfütterten Chalkone, die sowohl in ihrem A-Ring- als auch in ihrem B-Ring-Substitutionsmuster mit zwei in diesen Knospen vorkommenden Anthocyanen übereinstimmen, zusammen mit D-Glukose-[1-¹⁴C] oder Acetat-[1-¹⁴C]. So wurde nur das 3,4,2',4',6'-Penta-hydroxy-chalkon-4'-glukosid, das in seinem B-Ring-Substitutionsmuster dem des Cyanidin-3-monoglukosid entspricht, und das 4,2',4',6'-Tetra-hydroxy-3-methoxy-chalkon-4'-glukosid, das in seinem B-Ring die Substitution des Päonidin-3-monoglukosid trägt, verwendet (1).



(1)

R₁ = OH, 3,4,2',4',6'-Penta-hydroxy-chalkon-4'-glukosid.

R₁ = OMe, 4,2',4',6'-Tetra-hydroxy-3-methoxy-chalkon-4'-glukosid;
die in den Versuchen verfütterten Chalkone.

Als Maßstab für den Einfluß des jeweiligen Chalkons diente die Veränderung der spezifischen Aktivität und der Einbaurate der jeweiligen radioaktiven Substanz in das Päonidin-, Petunidin- und das Cyanidin-3-mono-glukosid.

Sowohl bei der Verwendung von Glukose als auch bei der Verwendung von Acetat kann es zu einer Verschleierung des tatsächlichen Tatbestands kommen. Neben einer direkten Glukosidierung der gefütterten Chalkone durch die Glukose, kann diese, etwa nach Überführung in Acetyl-CoA, zur direkten Synthese des A-Rings der Flavonoide benützt werden. Andererseits kann es aber auch über den Shikimisäureweg direkt zur Synthese des B-Rings der Flavonoide, den Zimtsäuren, herangezogen werden. Ähnlich kann das Acetat außer zur direkten Synthese des A-Rings auch zu einer Bildung von Glukose verwendet werden, und so über eine Glukosidierung zur Markierung der gefütterten unmarkierten Chalkone beitragen.

¹¹ GRIEBACH, H. und BRANDNER, G. (1962) *Experientia* **18**, 400.

¹² DAVIS, B. D. (1955) *Advanc. Enzymology* **16**, 247.

¹³ ENDRESS, R. (1972) *Z. Pflanzenphysiol.* **67**, 188.

¹⁴ PATSCHKE, L., HESS, D. und GRIEBACH, H. (1964) *Z. Naturforsch.* **19b**, 1114.

¹⁵ HESS, D. (1963) *Planta* **59**, 567.

¹⁶ HESS, D. (1965) *Z. Pflanzenphysiol.* **53**, 1.

ERGEBNISSE

Der substitutionsspezifische Chalkoneinfluß

Bei der gleichzeitigen Fütterung von Chalkon und Glukose-[1-¹⁴C] zeigt sich sowohl bei dem 3,4,2',4',6'-Penta-hydroxy- als auch bei dem Tetra-hydroxy-3-methoxy-chalkon-4'-glukosid eine substitutionsspezifische Wirkung (Tabelle 1). Auf Grund der unten angeführten Ergebnisse wurden die Chalkone stets in der Konzentration 10⁻³ M gefüttert. Hierbei wird unter dem Einfluß des Penta-hydroxy-chalkons sowohl die spezifische Aktivität des Cyanidin-3-monoglukosids (+80%) als auch die Einbaurate der D-Glukose-[1-¹⁴C] in das Cyanidin-3-monoglukosid (+196%) besonders deutlich gesteigert. Das 4,2',4',6'-Tetra-hydroxy-3-methoxy-chalkon übt dagegen einen besonders fördernden Einfluß auf das Päonidin-3-monoglukosid (194% bzw. 122%) aus. Es wird also in beiden Fällen stets die spezifische Aktivität und die Einbaurate desjenigen Anthocyans gefördert, das in seinem B-Ring-Substitutionsmuster demjenigen des gefütterten Chalkons entspricht. Allerdings treten auch bei den anderen Anthocyanen Veränderungen auf. Diese sind jedoch geringfügiger Art. So fördert das Penta-hydroxy-chalkon-4'-glukosid auch die spezifische Aktivität und die Einbaurate ins Petunidin-3-monoglukosid um 12% bzw. 72%. In gleicher Weise fördert das Tetra-hydroxy-3-methoxy-chalkon-4'-glukosid beim Cyanidin- (+59% bzw. +47%) und beim Petunidin-3-monoglukosid (+55% bzw. +48%) die spezifische Aktivität und die Einbaurate.

TABELLE 1. DER EINFLUß DES 3,4,2',4',6'-PENTA-HYDROXY-CHALKON-4'-GLUKOSIDS UND DES 4,2',4',6'-TETRA-HYDROXY-3-METHOXY-CHALKON-4'-GLUKOSIDES AUF DIE SYNTHESE DER ANTHOCYANE BEI DER GEMEINSAMEN FÜTTERUNG MIT GLUKOSE-[1-¹⁴C]

Anthocyane†	sp. Akt.		(%) Zuwachs	Einbaurate (%)		(%) Zuwachs
	ohne	mit		ohne	mit	
3,4,2',4',6'-Penta-hydroxy-chalkon*						
Päo-3-G	2659	2200	- 18	0,0486	0,0518	+ 5
Cya-3-G	1880	3390	+ 80	0,1294	0,3829	+ 196
Pet-3-G	14250	12589	+ 12	0,0624	0,1074	+ 72
4,2',4',6'- Tetra-hydroxy-3-methoxy-chalkon*						
Päo-3-G	500	1470	+ 194	0,0111	0,0247	+ 122
Cya-3-G	301	480	+ 59	0,0276	0,0407	+ 47
Pet-3-G	2065	3209	+ 55	0,0131	0,0194	+ 48

* Konzentration 10⁻³ M.

† Päonidin- (Päo-3-G), Cyanidin- (Cya-3-G) und Petunidin-3-monoglukosid (Pet-3-G) in Gegenwart von D-Glukose-[1-¹⁴C]. Ermittelt wurde die Einbaurate der radioaktiven Glukose und die spezifische Aktivität der Anthocyane. Die Werte der Kontrollversuche ohne Chalkon wurden gleich 100% gesetzt und als Bezugsgröße gewählt.

Der Cyanidin-Effekt

Wird das 3,4,2',4',6'-Penta-hydroxy-chalkon-4'-glukosid zusammen mit dem Acetat-[1-¹⁴C] gefüttert, so zeigt sich ein deutlicher Einfluß des Chalkons auf die Anthocyan-synthese in Abhängigkeit von der Konzentration. Wird hierbei die spezifische Aktivität des Petunidin-3-monoglukosids als Bezugsgröße genommen, so ergibt sich für die Förderung der spezifischen Aktivität des Cyanidin-3-monoglukosids ein Maximum bei einer Konzentration von 10⁻³ M (Tabelle 2). Die Bezugsbasis Petunidin-3-monoglukosid wurde gewählt, um etwaige endogen bedingte Schwankungen, wie sie durch physiologisch aktive Substanzen

ausgelöst werden können,⁵ auszugleichen. Dabei bleiben die Relationen der spezifischen Aktivitäten der einzelnen Anthocyane untereinander erhalten.

TABELLE 2. DER EINFLUSS VERSCHIEDENER KONZENTRATIONEN DES PENTA-HYDROXY-CHALKONE-4'-GLUCOSIDS AUF DIE SPEZIFISCHE AKTIVITÄT DER ANTHOCYANE

Konzentrationen der Chalkone M	Päo-3-G	% Zuwachs sp. Akt.* Cya-3-G	Pet-3-G
10^{-1}	+23	-12	0
10^{-2}	+36	+39	0
10^{-3}	0	+179	0
2×10^{-4}	+34	+82	0
10^{-4}	-40	+32	0

* 3-monoglukoside des Päonidins, Cyanidins und Petunidins.

Verwendet wurde die Knospenhälften-technik⁷ mit Petalen des Cyanidin-Typs von *Petunia hybrida*. Die durch das Penta-hydroxy-chalkon-4'-glukosid beim Petunidin-3-monoglukosid ausgelöste Änderung der spezifischen Aktivität wurde jeweils gleich 100% gesetzt. Die Änderungen der spezifischen Aktivitäten des Päonidin- und des Cyanidin-3-monoglukosids wurden darauf bezogen. Als Markierungssubstanz wurde Acetat-[1-¹⁴C] verwendet.

In insgesamt vier Versuchen konnte diese spezifische Wirkung des 3,4,2',4',6'-Penta-hydroxy-chalkon-4'-glukosids sowohl auf die spezifische Aktivität des Cyanidin-3-monoglukosids als auch auf die Einbaurate des Acetat[1-¹⁴C] in das Cyanidin-3-monoglukosid aufgezeigt werden (Tabelle 3).

TABELLE 3. DER EINFLUSS DES 3,4,2',4',6'-PENTA-HYDROXY-CHALKON-4'-GLUCOSIDS AUF DIE SPEZIFISCHE AKTIVITÄT DER ANTHOCYANE UND DIE EINBAURATE DES ACETATS[1-¹⁴C]

Antho- cyane†	sp. Akt.		Änderung der spez. Aktivität (%)	Einbaurate		Änderung der Einbaurate (%)
	ohne Chalkon	mit Chalkon*		ohne Chalkon (%)	mit Chalkon (%)	
Päo-3-G	2155	2178	±0	0,0056	0,0049	-13
Cya-3-G	1196	1601	+33	0,028	0,32	+1042
Pet-3-G	4412	4454	±0	0,0082	0,0099	+20
Pao-3-G	7372	2831	-62	0,02	0,008	-60
Cya-3-G	1566	1654	+5	0,1	0,1098	+10
Pet-3-G	15382	5945	-62	0,126	0,04	-68
Päo-3-G	2372	1345	-44	0,0113	0,004	-65
Cya-3-G	921	2993	+224	0,05	0,076	+52
Pet-3-G	5078	6707	+32	0,035	0,029	-17
Päo-3-G	7109	2533	-64	0,023	0,0045	-80
Cya-3-G	4634	5967	+29	0,04	0,083	+107
Pet-3-G	13304	6833	-49	0,0137	0,0047	-46

* Konzentration 10^{-3} M. Bei der Ermittlung der Änderung der spezifischen Aktivität und der Änderung der Einbaurate wurden die Werte der Kontrollversuche ohne Chalkon gleich 100% gesetzt und die Werte der anderen Versuche darauf bezogen.

† Päonidin- (Pao-3-G), Cyanidin- (Cya-3-G) und Petunidin-3-monoglukosid (Pet-3-G).

Im Gegensatz zu dieser spezifisch fördernden Wirkung auf das Cyanidin-3-monoglukosid übt es in der Regel sowohl auf die spezifische Aktivität des Päonidin- und des Petunidin-3-monoglukosids als auch auf die Einbauraten des Acetats-[1-¹⁴C] in diese Antho-

cyane einen hemmenden Einfluß aus. Wider Erwarten wurde jedoch bei der Fütterung des 4,2',4',6'-Tetra-hydroxy-3-methoxy-chalkon-4'-glukosids in der Konzentration 10^{-3} M keine spezifische Wirkung auf das Päonidin-3-monoglukosid beobachtet. Weder der Einfluß auf die spezifische Aktivität der einzelnen Anthocyane, noch der Einfluß auf die Einbaurrate des Acetats-[1- 14 C] zeigt eine einheitliche Tendenz (Tabelle 4).

TABELLE 4. DER EINFLUß DES 4,2',4',6'-TETRA-HYDROXY-3-METHOXY-CHALKON-4'-GLUKOSIDS AUF DIE EINBAURATE DES ACETATS-[1- 14 C] IN DIE ANTHOCYANE SOWIE AUF DEREN SPEZIFISCHEN AKTIVITÄT

Anthocyane†	sp. Akt.		Änderung der spez. Aktivität (%)	Einbaurrate		Änderung der Einbaurrate (%)
	ohne Chalkon	mit Chalkon*		ohne Chalkon (%)	mit Chalkon (%)	
Päo-3-G	1052	695	-34	0,0168	0,0158	-6
Cya-3-G	294	298	+0	0,033	0,0446	+35
Pet-3-G	3448	754	-79	0,0264	0,0099	-63
Päo-3-G	1200	609	-49	0,0397	0,0052	-87
Cya-3-G	260	193	-26	0,018	0,017	-6
Pet-3-G	3123	770	-75	0,027	0,00956	-65
Päo-3-G	8581	7600	-11	0,0506	0,0498	-2
Cya-3-G	3744	4847	+29	0,0833	0,1439	+72
Pet-3-G	18408	19165	+4	0,0456	0,0738	+61
Päo-3-G	2020	1903	-6	0,0291	0,0197	-32
Cya-3-G	2172	1774	-19	0,1546	0,0602	-61
Pet-3-G	13050	5258	-60	0,0518	0,0213	-59

* Konzentration 10^{-3} M. Wiedergegeben werden die Änderungen in %, wobei die Werte der Versuche ohne Chalkonzusatz gleich 100% gesetzt wurden. Die Tabelle enthält vier getrennte Versuche.

† Päonidin- (Päo-3-G), Cyanidin-(Cya-3-G) und Petunidin-3-monoglukosid (Pet-3-G).

DISKUSSION

Wie bereits früher erwähnt, kann die gleichzeitig mit den Chalkonen gefütterte D-Glucose-[1- 14 C] auf verschiedene Art und Weise auf die Flavonoidbiosynthese Einfluß nehmen. So kann sie, nachdem sie in Acetyl-CoA überführt wurde, sowohl zur Flavonoidbiosynthese herangezogen werden, als auch über den Shikimisäureweg direkt zur Biosynthese von Zimtsäuren verwendet werden. Die Spezifität der Wirkung des 3,4,2',4',6'-Penta-hydroxy- und des 4,2',4',6'-Tetra-hydroxy-3-methoxy-chalkon-4'-glukosids spricht jedoch für die Annahme, daß die gefütterten Chalkone unter Glukosidierung unmittelbar zur Synthese des entsprechend substituierten Anthocyans herangezogen werden.

Neben der spezifischen Wirkung auf das Anthocyan mit der entsprechenden Substitution im Ring B zeigen die Chalkone auch auf die anderen Anthocyane einen gewissen Einfluß. Auf Grund dessen kann angenommen werden, daß das Substitutionsmuster der Chalkone innerhalb der Knospe Veränderungen unterworfen ist. So wird offensichtlich in 5-Stellung eine zusätzliche Hydroxylierung vorgenommen und die Hydroxylgruppe in 3-Stellung in eine Methoxylgruppe überführt. Diese derart veränderten Chalkone werden dann zur Synthese der entsprechend substituierten Anthocyane herangezogen. Offensichtlich kann das Substitutionsmuster der Anthocyane bereits auf der Stufe der Chalkone festgelegt werden. In erster Linie werden die gefütterten Chalkone jedoch zur Synthese des Anthocyans herangezogen, das in seinem B-Ring-Substitutionsmuster mit dem jeweiligen

gefütterten Chalkon übereinstimmt. Eine ähnlich spezifische Wirkung ist uns von Zimtsäuren²⁰ bekannt. Um einen möglichen Abbau der gefütterten Chalkone, etwa zu Zimtsäuren, so weit wie möglich auszuschließen, haben wir im Gegensatz zu früheren Chalkon-Versuchen^{3,14} die Knospenhälftentechnik⁷ verwandt. Durch die damit verbundene Verkürzung des Wegs der Chalkone an ihren Wirkungsort wird die Möglichkeit einer Veränderung des Chalkons verringert.

Auch bei der Verwendung von Acetat-[1-¹⁴C] als Markierungssubstanz wird bei der Fütterung des 3,4,2',4',6'-Penta-hydroxy-chalkon-4'-glukosids derselbe spezifische Einfluß erzielt. So wird sowohl die spezifische Aktivität des Cyanidin-3-monoglukosids als auch die Einbaurate des Acetats-[1-¹⁴C] ins Cyanidin-3-monoglukosid relativ zu den Werten der anderen Anthocyane gefördert.

Bei der Fütterung des 4,2',4',6'-Tetra-hydroxy-3-methoxy-chalkon-4'-glukosids zusammen mit Acetat-[1-¹⁴C] tritt diese Spezifität der Wirkung allerdings nicht auf. Offensichtlich handelt es sich dabei um einen spezifischen Effekt des Penta-hydroxy-chalkon-4'-glukosids.

Eine mögliche Wirkungsweise wird in einer weiteren Arbeit diskutiert.²¹

EXPERIMENTELLES

Biologisches Material. Verwandt wurden Knospen des Cya-Typs von *Petunia hybrida* von 25 mm Länge. In ihnen befinden sich alle Anthocyane in der Phase linearer Akkumulation. Hierbei handelt es sich in erster Linie um Cyanidin-, Päonidin-, Delphinidin- und Petunidin-3-monoglukosid.¹⁵ Die Knospenhälften verhalten sich innerhalb des Versuchszeitraums hinsichtlich der Anthocyanakkumulation annähernd wie in situ belassene Knospen.⁷ Die Inkubation der Knospen erfolgte nach der Knospenhälftentechnik⁷ in jeweils 10 ml eines modifizierten Mediums nach White,⁷ welches das Chalkon in der verwendeten Konzentration und die jeweilige Markierungssubstanz, jedoch keine Glukose enthielt. In jeder Petrischale befanden sich 100 Knospenhälften. Sie wurden 24 hr bei + 25° im Lichtthermostat (Rumco, Rubarth und Co, Hannover) belassen. Im Anschluß daran wurden die Knospenhälften 3 mal mit aqua dest. gewaschen, gefriergetrocknet und bei - 20° aufbewahrt.

Synthesen. Da die untersuchten Anthocyane im Ring A Phloroglucinstruktur besitzen, wurden Chalkone mit diesem Substitutionsmuster im Ring A synthetisiert. Zur Erleichterung der Aufnahme ins Gewebe wurden die jeweiligen 4'-glukoside verwendet. Die Synthese erfolgte über Tetra-acetyl-phloracetophenon-glukosid¹⁷ und den entsprechenden Aldehyden (Protocatechualdehyd und Vanillin).¹⁸ Aus ihrem Kaliumsalz wurden sie nach starkem Kühlen durch Ansäuern auf pH 5 mit gekühlter 10%-iger Salzsäure ausgetrieben. Anschließend wurden sie chromatographisch gereinigt.³

Radioaktive Markierung. Einerseits wurde Acetat-[1-¹⁴C] (sp. Akt.: 52,9 mCi/mMol, Radiochemical Centre, Amersham) mit der Gesamtaktivität von 50 µCi, andererseits D-Glukose-[1-¹⁴C] (sp. Akt.: 40 mCi/mMol, Radiochemical Centre/Amersham) verwendet. Die jeweils zur Inkubation verwendeten 10 ml Medium enthielten jeweils 10 µCi. Innerhalb der Versuchszeit nahmen die Petalenhälften 73-74% der zugeführten Radioaktivität an Acetat-[1-¹⁴C] und 97-98% der zugeführten Radioaktivität an D-Glukose-[1-¹⁴C] auf.

Messungen. Die Aufarbeitung auf Anthocyane erfolgte nach Hess und Meyer¹⁹ und Hess.⁷ Die Extinktionswerte zur Ermittlung des jeweiligen Anthocyan gehaltes wurden am ZEISS-Spektralphotometer (Modell PMQ II) bei 546 nm bestimmt. Die Radioaktivitätsmessungen erfolgten am Tricarb Liquid-Scintillation Counter (Tri-Carb 3320) der Firma Packard. Die spezifischen Aktivitäten wurden jeweils in ipm/ml Lösung E_{546} nm angegeben.

Anmerkungen.—Für die Anregung zu dieser Arbeit und die ständig fördernde Diskussion danke ich Herrn Prof. Dr. D. Hess. Für ihre technische Assistenz danke ich Frau B. Pfrommer und Herrn Gartenmeister Blaich für die Aufzucht der Pflanzen. Die Untersuchung erfolgte mit Unterstützung durch den Bundesminister für Bildung und Wissenschaft.

¹⁷ ZEMPLEN, G. und BOGNAR, R. (1942) *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **75**, 645.

¹⁸ KAMIYA, S., ESAKI, S. und HAMA, M. (1967) *Agric. Biol. Chem.* **31**(4), 402.

¹⁹ HESS, D. und MEYER, C. (1962) *Z. Naturforsch.* **17b**, 853.

²⁰ HESS, D. (1967) *Z. Pflanzenphysiol.* **56** (1), 12.

²¹ ENDRESS, R. (1974) *Phytochemistry* **13**, 421.