

SHORT COMMUNICATION

UEBER EINIGE APIOSE-VORKOMMENISSE BEI DEN *HELOBIAE*

C. F. VAN BEUSEKOM

Laboratorium voor experimentele Plantensystematiek, 5. Binnenvestgracht 8, Leiden, Holland
(Eingegangen 2 September 1966)

Zusammenfassung—Hydrolysate von 27 Arten von Monokotyledonen wurden auf Vorhandensein von Apiose untersucht. Ausser *Lemnaceae* enthielten bloss Arten der *Hydrocharitaceae*, *Potamogetonaceae* und *Zannichelliaceae*, die im Meer oder im Brackwasser wachsen, nennenswerte Mengen von Apiose. Die taxonomischen Folgerungen dieser Befunde werden kurz besprochen.

Abstract—Hydrolysates of 27 species of Monocotyledons were investigated for the presence of apiose. Besides *Lemnaceae*, only species of *Hydrocharitaceae*, *Potamogetonaceae* and *Zannichelliaceae* which grow in the sea or in brackish water contained appreciable amounts of apiose. The taxonomic implications of this finding is briefly discussed.

1. EINLEITUNG

APIOSE, eine Pentose mit verzweigter Kohlenstoffkette, wurde ursprünglich als Bestandteil von Flavonglykosiden der Petersilie beschrieben. Als Zuckerpartner von flavonoiden Glykosiden wurde sie später noch bei einigen anderen Arten beobachtet.¹ Im Jahre 1954 isolierten Bell *et al.*² reichlich Apiose aus Hydrolysaten der marinen Potamogetonacee *Posidonia australis* J. D. Hook. Duff und Knight³ und Duff⁴ verfolgten diese Beobachtung weiter und zeigten, dass Apiose im Pflanzenreich weit verbreitet ist, und dass sie in den meisten Fällen in nicht extrahierbarer Form vorliegt, also nicht wie bei der Petersilie als Bestandteil von Glykosiden sondern wie bei *Posidonia* als Bestandteil von Membranpolysacchariden auftritt. Die genannten Autoren untersuchten 175 Pflanzenmuster aus annähernd 100 Angiospermenfamilien mit folgendem Ergebnis:

76 Muster: Apiose in Hydrolysaten höchstens in Spuren nachweisbar.

31 Muster: Hydrolysate enthalten geringe Mengen (0,03–0,2% des Trockengewichtes) Apiose.

51 Muster: In Hydrolysaten 0,2–2% Apiose vorhanden.

17 Muster: Die Hydrolysate enthalten viel (> 2%) Apiose.

Leider sind in der Arbeit die untersuchten Arten nicht aufgeführt. Am reichtsten an Apiose erwiesen sich die *Lemnaceae* (4–8%; *Lemna minor* L., *Wolffia arrhiza* [L.] Wimm.) und einige Vertreter der *Potamogetonaceae* im weitesten Sinne (4–5%; *Zostera marina* L.,

¹ D. J. BELL, In *Methods in Carbohydrate Chemistry* (Edited by R. L. WHISTLER and M. L. WOLFROM), Vol. 1, S. 260. Academic Press, New York (1962).

² D. J. BELL, N. S. HARDWICK, F. A. ISHERWOOD und R. S. CAHN, *J. Chem. Soc.* 3702 (1954).

³ R. B. DUFF und A. H. KNIGHT, *Biochem. J.* **88**, 33 P (1963).

⁴ R. B. DUFF, *Biochem. J.* **94**, 768 (1965).

Zostera nana Roth, *Posidonia australis* J. D. Hook.). Bacon⁵ und Williams und Jones⁶ haben für *Zostera marina* sichergestellt, dass Apiose tatsächlich praktisch ausschliesslich in Membranpolysaccharide eingebaut vorkommt. Williams und Jones⁶ zeigten ferner, dass *Zostera marina* eine alkalilösliche (2% NaOH) Hemicellulose enthält, die Apiose und Xylose im Verhältnis 1:1 enthält. Beck und Kandler⁷ wiesen anschliessend für *Lemna gibba* L. und *Lemna minor* L. nach, dass auch bei diesen Arten die Apiose ausschliesslich als Baustein von Membranstoffen auftritt.

Es liegen demnach Hinweise dafür vor, dass die *Lemnaceae* und *Potamogetonaceae* im weiten Sinne durch apiosereiche Zellwände ausgezeichnet sind. Da beide Sippen ausschliesslich Hydrophyten umfassen, besteht die Möglichkeit, dass dieses Merkmal mit der Adaptation an das Leben im Wasser zusammenhängt.

Die *Lemnaceae* stellen die am weitgehendsten reduzierten Blütenpflanzen dar. Heute werden sie meistens von den Araceen abgeleitet (vgl.⁸⁻¹⁰). Andererseits traten Lawalré¹¹ und Deyl¹² neuerdings wiederum entschieden für Verwandtschaft zwischen *Helobiae* (z.B. *Najadaceae*) und *Lemnaceae* ein.

Wir stellten uns zur Aufgabe einige Vertreter der *Helobiae* und der *Araceae* auf massives Apiose-Vorkommen zu untersuchen. Einerseits sollte damit ermittelt werden ob sich bei diesen Sippen der Monocotyledonen Beziehungen zwischen hydrophytischer Lebensweise und apioserenen Zellwänden ergeben und andererseits interessierte uns natürlich die Frage, wie sich das Merkmal über die erwähnten Sippen verteilt.

2. MATERIAL UND METHODEN

Untersucht wurden zum Teil selbst gesammelte Pflanzen, zum Teil Herbariumsexemplare. Für den Nachweis von Apiose in Hydrolysaten des Pflanzenmaterials verwendeten wir die Methode von Duff⁴:

30 mg Fragmente von getrockneten Blättern werden 1½ Stunden bei 100° mit 0,3 ml 0,4 N H₂SO₄ hydrolysiert und anschliessend die Hydrolysate mit Calciumcarbonat neutralisiert. Von den so bereiteten Hydrolysaten wurden 0,2-8 µl zum papierchromatographischen Apiose-nachweis verwendet. Wir chromatographierten absteigend (Laufstrecke ca. 37 cm) auf Whatman No. 1 Papier (12 × 43 cm) mit Butanol-Essigsäure-Wasser (4:1:5; Epiphase) bei Zimmertemperatur (Dauer 18 Stunden). Die fertigen Chromatogramme wurden mit dem Benzidin-Trichloressigsäure-Reagens besprüht und anschliessend 5-10 Minuten auf 100-105° erwärmt. Unter diesen Bedingungen besitzt Apiose den gleichen *R_f*-Wert wie Fucose, unterscheidet sich jedoch von der Letzteren eindeutig durch die intensive weisse Fluoreszenz der Flecken in U.V.-Licht.

Als Vergleichssubstanzen verwendeten wir Glucose (*R_f* 0,21), Xylose (*R_f* 0,27), Fucose (*R_f* 0,32), Rhamnose (*R_f* 0,38) und ein Hydrolysat von *Lemna minor*, die nach der Literatur etwa 5% Apiose enthält (kräftiger Apiose-Fleck bei *R_f* 0,32). Nach Duff⁴ lassen sich bei der beschriebenen Arbeitsweise 0,15 µg Apiose noch nachweisen. Unter Verwendung dieses Grenzwertes lassen sich die nachweisbaren Apiosegehalte leicht berechnen; appliziert man

⁵ J. S. D. BACON, *Biochem. J.* **89**, 103 P (1963).

⁶ D. T. WILLIAMS und J. K. N. JONES, *Can. J. Chem.* **42**, 69 (1964).

⁷ E. BECK und O. KANDLER, *Z. Naturforsch.* **20b**, 62 (1965).

⁸ A. TAKHTAJAN, *Evolution der Angiospermen*, Fischer, Jena (1959).

⁹ A. ENGLER, *Syllabus der Pflanzenfamilien*, 12. Aufl. Bd. 2, Bornträger, Berlin (1964).

¹⁰ P. MAHESHWARI, In *Vistas in Botany*, Vol. 4, p. 53. Pergamon Press, Oxford (1964).

¹¹ A. LAWALRÉE, *Bull. Soc. Botan. Belge* **71**, 27 (1945); *La Cellule* **14**, 305 (1951).

¹² M. DEYL, *Acta Musei Natl. Pragae* **11B**, No. 6 (1955).

beispielsweise 5 μl Hydrolysat (=500 μg Pflanze), dann sollte ein Apiosegehalt von 0,03% eben noch nachweisbar sein. Nimmt man außerdem für *Lemna minor* einen Apiosegehalt von 5% an, dann lassen sich die Apiosegehalte anderer Arten durch Vergleich der Intensität ihrer Apiose-Flecken mit derjenigen von *Lemna*-Hydrolysaten roh schätzen.

3. RESULTATE

Die durch uns gemachten Beobachtungen sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

TABELLE 1. VERBREITUNG VON APIOSE BEI VERTRETERN DER *Helobiae*, *Spathiflorae* UND *Pandanales**

Familie, Unterfamilie, Tribus	Art	Belegnummer†	Apiose	
			Vorkommen‡	Relative Menge§
<u>Helobiae</u>				
Alismataceae	<i>Sagittaria sagittifolia</i> L.	—	0	—
Butomaceae	<i>Butomus umbellatus</i> L.	EP 5548	0	—
Hydrocharitaceae				
Hydrocharitoideae	<i>Stratiotes aloides</i> L.	—	0	—
	<i>Hydrocharis morsus-ranae</i> L.	EP 5233	0	—
Thalassioideae	<i>Thalassia hemprichii</i> (Ehrenb.) Aschers.	L 953.153348	+	< 1/4
Scheuchzeriaceae	<i>Scheuchzeria palustris</i> L.	EP 1811	0	—
Aponogetonaceae	<i>Aponogeton bernierianus</i> (Decne.) Hook. f.	L 939.70629	0	—
Potamogetonaceae				
Potamogetonae	<i>Potamogeton crispus</i> L.	EP 4641	0	—
	<i>P. natans</i> L.	EP 5552	0	—
	<i>P. pectinatus</i> L.	EP 5231	+	1/2
	<i>P. pusillus</i> L.	EP 1576	0	—
	<i>Ruppia spiralis</i> L. ex Dum.	EP 5234	+	1/4
Posidoniae	<i>Posidonia oceanica</i> Del.	EP 1548	+	1
Zostereae	<i>Zostera</i> spec. indet.	EP 5246	+	1
	<i>Phyllospadix</i> spec. indet.	EP 5245	+	1
Zannichelliaceae				
Zannichelliae	<i>Zannichellia palustris</i> L.	EP 5240	0	—
Cymodoceae	<i>Cymodocea nodosa</i> Aschers.	—	+	1/4
Najadaceae	<i>Najas marina</i> L.	EP 5546	0	—
<u>Spathiflorae</u>				
Araceae	<i>Acorus calamus</i> L.	EP 4806	0	—
	<i>Calla palustris</i> L.	EP 5237	0	—
	<i>Dieffenbachia seguine</i> Schott	EP 5232	0	—
	<i>Cryptocoryne</i> spec. indet.	EP 5244	0	—
	<i>Pistia stratiotes</i> L.	EP 5243	0	—
Lemnaceae	<i>Lemna gibba</i> L.	EP 4812	+	1
	<i>L. minor</i> L.	EP 4813	+	1
	<i>Spirodela polyrhiza</i> (L.) Schleiden	EP 4811	+	1
<u>Pandanales</u>				
Sparganiaceae	<i>Sparganium erectum</i> L.	EP 4808	0	—

* Anordnung und Abgrenzung der Sippen nach Englers Syllabus (1964).

† L=Rijksherbarium Leiden; EP=Herbarium Laboratorium voor experimentele plantensystematiek, Leiden. Das nicht belegte Material stammte aus folgenden Quellen:

Sagittaria sagittifolia und *Stratiotes aloides*: In der Gegend von Leiden gesammelt.

Cymodocea nodosa: Auf dem Strande von Elba aus einem Fischnetz gesammelt.

‡ Nachweisbar waren Apiosegehalte von mehr als 0,03% (5 μl Hydrolysat chromatographiert).

§ Bezogen auf die Apiosegehalte der *Lemna*-Arten; geschätzt durch Vergleich der Intensität der Apiose-Flecken.

4. DISKUSSION

Bei den *Helobiae* scheinen apiosehaltige Zellwände in erster Linie bei submersen Arten des salzigen oder brackigen Wassers vorzukommen. Bei schwimmenden Süßwasserpflanzen oder bei Sumpfpflanzen wurde Apiose in keinem Falle beobachtet. Bei den *Spathiflorae* und *Pandanales* fanden wir Apiose ausschliesslich in der Familie der *Lemnaceae*. Die in Habitus und Lebensweise sich den Lemnaceen am meisten annähernde Aracee *Pistia stratiotes* enthält keine nennenswerten Apiosemengen.

Man erhält demnach den Eindruck, dass bei den besprochenen Sippen tatsächlich ein gewisser Zusammenhang zwischen Apioseakkumulation und Ökologie besteht: Apiosereiche Zellwände kommen anscheinend nur bei extremen Hydrophyten vor. Allerdings sind lange nicht alle Vertreter mit ausgesprochen hydrophytischer Lebensweise zur Erzeugung apiosereicher Zellwände übergegangen. Das Merkmal kennzeichnet die marinen *Hydrocharitaceae*, *Potamogetonaceae*, *Zannichelliaceae* und die *Lemnaceae* und zeigt deshalb ebenfalls deutliche Beziehung zur systematischen Zugehörigkeit der untersuchten Sippen.

Da gerade die Aracee *Pistia stratiotes*, aber auch *Najas marina* apiosefreie Zellwände erzeugen, ist das Merkmal als Indikator für die tatsächliche Verwandtschaft der *Lemnaceae* anscheinend unbrauchbar. Nach Hegnauer¹³ spricht Fehlen von Raphiden und eher seltenes Vorkommen von Leukoanthocyten bei den *Helobiae* eher gegen eine Ableitung der *Lemnaceae* von den Letzteren.

Wir beobachteten Anthocyanpseudobasen¹⁴ bei *Naja marina*, *Ruppia maritima*, *Stratiotes aloides*, *Posidonia oceanica*, *Zostera nana*, *Pistia stratiotes*, *Lemna gibba* und *Spirodela polyrhiza* und Myriophyllinzellen (indizieren vermutlich Leukoanthocyane; vgl. ref. 13, pp.11-17) bei *Ruppia maritima*, *Posidonia oceanica*, *Pistia stratiotes* und *Spirodela polyrhiza*. Fügen wir noch bei, dass Stant¹⁵ inzwischen bei *Sagittaria variabilis* Raphidenzellen beobachtet hat, dann lässt sich vorläufig nur feststellen, dass noch viel Arbeit geleistet werden muss, ehe der Anschluss der *Lemnaceae* (*Araceae*?; Vertreter der *Helobiae*?) gesichert erscheint.

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen eines Programmes von chemotaxonomischen Untersuchungen unter Leitung von Herrn Professor Hegnauer ausgeführt.

¹³ R. HEGNAUER, *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Vol. 2. Birkhäuser Verlag, Basel (1963).

¹⁴ H. REZNIK und R. NEUHÄUSEL, *Z. Botanik* 47, 471 (1959).

¹⁵ M. Y. STANT, *J. Linn. Soc.* 59, 1 (1964).