

Neuere Arbeiten über Photosynthese*

Von H. U. HOSTETTLER

Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Zürich

Über die Assimilation in den grünen Pflanzen sind in den letzten Jahren zahlreiche Arbeiten erschienen, die aufschlußreiche Einblicke in den Reaktionsverlauf bei der Photosynthese vermitteln und neue Wege für die weitere Bearbeitung dieses Gebiets zeigen. Einen großen Teil der neuen Erkenntnisse verdankt man der Verwendung von radioaktiven Isotopen.

Quantenbedarf der Photosynthese

Über das Problem des Quantenbedarfs gehen die Meinungen verschiedener Wissenschaftler nach wie vor stark auseinander. O. WARBURG findet mit einer seit mehreren Jahren entwickelten Versuchstechnik den sehr niedrigen Quantenbedarf von 3 bis 5 Quanten pro Sauerstoffmolekül. Auf Grund seiner Messungen hat WARBURG die Theorie des Einquantenprozesses bei der Photosynthese aufgestellt, die aber seitens des Physikers JAMES FRANCK hauptsächlich durch theoretische Argumente stark angefochten wird.

Für seine Messungen verwendet WARBURG¹ eine Suspension der Alge *Chlorella*. Die Intensität des in die Suspension einfallenden Lichtstrahles wird bolometrisch bestimmt. Das Licht, das die Suspension wieder verläßt, ohne absorbiert zu werden, wird durch ein Aktinometer aufgefangen und gemessen. Die Mengen Sauerstoff und Kohlendioxyd, die während des Versuchs entstehen bzw. verbraucht werden, können aus Druckänderungen im Gasraum über der Algensuspension berechnet werden.

Zunächst scheint es aus energetischen Gründen unmöglich, daß die Voraussetzungen für einen Einquantenprozeß bei der Photosynthese vorliegen können, d. h. daß ein Lichtquant ein Molekül Sauerstoff freisetzen und dabei ein Molekül Kohlendioxyd reduzieren kann. Die Energie eines Mols Lichtquanten von der Frequenz des roten Lichtes beträgt 41 kcal, die Reduktionsenergie für ein Mol Kohlendioxyd hingegen beträgt

112 kcal. Dies ist die Verbrennungsenergie einer CH_2O -Gruppe eines Kohlenhydrates zu Wasser und Kohlendioxyd. Vorausgesetzt, daß die aufgenommene Lichtenergie zu 100% ausgenützt werden kann, liefert ein Lichtquant dennoch nur ungefähr einen Drittel der zur Reduktion eines Moleküls Kohlendioxyd notwendigen Energie. Nach WARBURGS Theorie werden die andern zwei Drittel von der Pflanze anfänglich leihweise zur Verfügung gestellt. Durch eine nachhinkende Rückreaktion werden aber zwei von drei gebildeten Sauerstoffmolekülen wieder verbraucht. Durch diese exergonische, mit der Atmung vergleichbare Rückreaktion wird die ausgeliehene Energie wieder frei. Somit erscheint nur jedes dritte, ursprünglich gebildete Sauerstoffmolekül in der Stoffbilanz. Der theoretisch kleinste Quantenbedarf der Photosynthese liegt damit bei ungefähr drei Quanten pro Sauerstoffmolekül, obwohl die Bildung von Sauerstoff und die gleichzeitige Reduktion von Kohlendioxyd primär ein Einquantenprozeß ist; es braucht eben drei solcher Primärreaktionen pro in der Bilanz erscheinendes Sauerstoffmolekül.

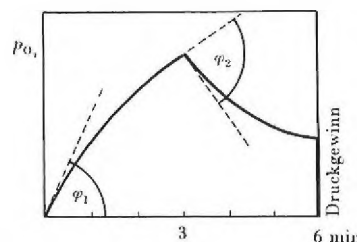


Abb. 1. Aufspaltung der Photosynthese in Lichtreaktion und Rückreaktion (nach WARBURG, *Naturwiss.* 39 [1953] 337)

Diese Anschauungen werden gut illustriert durch die in Abb. 1 wiedergegebene Kurve, welche den Sauerstoffdruck über einer Algensuspension während einer dreiminütigen Belichtung und der anschließenden Dunkelperiode darstellt. Der Sauerstoffdruck steigt nicht linear mit der Zeit an, sondern die Sauerstoffproduktion ist gleich nach dem Einschalten der Beleuchtung etwas größer. Die Kurve geht erst nach ungefähr drei Minuten

* Nach einem Referat im Chemischen Kolloquium der Universität Zürich.

¹ O. WARBURG und Mitarbeiter, *Z. Naturforsch.* 6b (1951) 12, 134, 285; *Naturwiss.* 39 (1952) 337.

in eine Gerade über. Auch zu Beginn der Dunkelperiode zeigt sich eine Anomalität, indem vorerst noch Sauerstoff verbraucht wird. Erst nach drei weiteren Minuten bleibt der Druck konstant, wobei der rechts außen eingezeichnete Druckgewinn resultiert. Der Sauerstoffverbrauch durch die Atmung wird während des ganzen Versuchs durch einen nicht gemessenen Lichtstrahl kompensiert und erscheint nicht im Diagramm. Dieser Kurvenverlauf rührt daher, daß die Lichtreaktion durch die erwähnte nachhinkende Rückreaktion überlagert ist. Zu Beginn der Belichtungszeit ist noch keine Rückreaktion vorhanden. Wird für diese Stelle der Kurve die absorbierte Lichtmenge gemessen, resultiert ein Quantenbedarf, der ungefähr bei einem Quant pro Sauerstoffmolekül liegt. Die Rückreaktion erreicht nach drei Minuten ihren vollen Wert. Der Quantenbedarf des stationär gewordenen Vorgangs beträgt 3 bis 5 Quanten pro Sauerstoffmolekül. Durch Ausschalten der Beleuchtung wird die Lichtreaktion momentan abgestoppt. Daß während einiger Minuten noch Sauerstoff verbraucht wird, ist der langsam abklingenden Rückreaktion zuzuschreiben. Der eingezeichnete Winkel φ_2 entspricht der Geschwindigkeit der reinen Lichtreaktion; er ist ungefähr gleich groß wie der Winkel φ_1 .

JAMES FRANCK² zeigt in einer sehr umfangreichen Arbeit, daß der kleinste mögliche Quantenbedarf aus thermodynamischen und quantentheoretischen Gründen bei 6 bis 8 Quanten pro Sauerstoffmolekül liegen muß. FRANCK findet Einwände, daß Lichtenergie nicht zu 100% in chemische Energie verwandelt werden kann, analog wie sich Wärme auch nicht beliebig in eine andere Energieform überführen läßt. Die wichtigsten Gründe von FRANCK seien kurz aufgezählt:

1. Chlorophyll geht wahrscheinlich nicht in den ersten angeregten Singulettzustand über, sondern in einen metastabilen Triplettzustand, dessen Anregungsenergie nicht 41 kcal, sondern nur 36 kcal beträgt.

2. Die Reduktionsenergie ist nicht numerisch gleich der Verbrennungswärme von 112 kcal, sondern es ist die Änderung der freien Energie von 117 kcal einzusetzen.

3. Die Änderungen in den Elektronenschalen der Moleküle bei einer photochemischen Reaktion bedingen veränderte Abstände zwischen den Atomkernen. Beim Verändern ihrer Lage geraten die Atomkerne in Schwingungen, was bedeutet, daß ein Teil der Anregungsenergie in Wärme umgewandelt worden ist. Dieser Verlust beträgt etwa 7 kcal.

4. Die Sauerstoffentwicklung bei der Photosynthese muß über organische Peroxyde gehen. Bei der Sauerstoffabspaltung aus diesen Peroxyden gehen mindestens 20 kcal pro Mol als Wärme verloren.

5. Die Wasserstoffatome, die zur Reduktion von Kohlendioxyd gebraucht werden, müssen als Radikale, die an Enzyme gebunden sind, übertragen werden. Bei

der Reduktion vereinigen sich die Radikale zu valenzgesättigten Molekülen; dabei gehen mindestens 6 kcal als Wärme verloren.

An der Richtigkeit von WARBURGS Messungen kann direkt keinesfalls gezweifelt werden. FRANCKS Erklärung der – nur scheinbaren – guten Ausbeuten von WARBURG lautet folgendermaßen: Wie weiter unten gezeigt wird, muß für die Aufnahme des Kohlendioxyds von der Pflanze aus dem Kohlenhydratvorrat eine CO₂-Akzeptorsubstanz bereitgestellt werden. Während einer längeren Dunkelperiode wird der Vorrat an dieser Substanz stark gesunken sein. Setzt nun plötzliche Belichtung ein, wird nicht nur Kohlendioxyd, sondern auch ein halb oxydiertes Zwischenprodukt des Atmungsprozesses reduziert, denn die Atmung verläuft teilweise über die gleichen Zwischenprodukte wie die Photosynthese (z. B. Phosphoglycerinsäure). Diese abgekürzte Photosynthese könnte WARBURGS gute Energieausbeute erklären. Sie würde den Gasaustausch mit der Atmosphäre während der Assimilation nicht beeinflussen; obwohl weniger Sauerstoff produziert und weniger Kohlendioxyd aufgenommen wird als bei der normal verlaufenden Photosynthese, wird dieser Effekt dadurch kompensiert, daß die nicht mehr zu Ende verlaufende Atmung die gleichen Mengen Sauerstoff weniger aufnimmt und Kohlendioxyd weniger abgibt.

Von WARBURG³ ist 1953 eine neue Arbeit erschienen, wonach es ihm gelungen ist, Zellen zu züchten, die bei entsprechender Belichtung vierzigmal mehr Sauerstoff entwickeln, als durch die Atmung verbraucht wird. Photosynthesemessungen mit diesen Algen können auf mehrere Stunden ununterbrochener Belichtung ausgedehnt werden. Der stationäre Vorgang braucht nicht mehr wie bei früheren Versuchen durch eingeschaltete Atmungsmessungen gestört zu werden, da die Atmung lediglich bei den Berechnungen als Korrekturglied berücksichtigt wird. Obwohl die abgekürzte Photosynthese nach FRANCK bei diesen Versuchen das Ergebnis nur unbedeutend verfälschen könnte, wird ein Quantenbedarf von nur 4,5 Quanten pro Sauerstoffmolekül gemessen. Während einer Messung wird die dem Trockengewicht der verwendeten Algen entsprechende Sauerstoffmenge freigesetzt, also kann die Alge schon aus gravimetrischen Gründen weder mit eigener Energie noch mit eigener Substanz an der Bilanz der Photosynthese beteiligt sein.

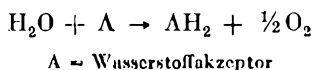
Hill-Reaktionen

Die klassische biochemische Methode, physiologische Vorgänge zu untersuchen, besteht darin, die an der Reaktion beteiligten Stoffe zu isolieren und den Vorgang außerhalb der lebenden Zelle zu beobachten. Beim Studium der Photosynthese hat diese Methode lange Zeit versagt. Der einzige Fortschritt, der in dieser Rich-

² JAMES FRANCK, *Arch. Biochem.* 45 (1953) 191.

³ O. WARBURG und Mitarbeiter, *Z. Naturf.* 8b (1953) 675; *Z. angew. Chem.* 66 (1954) 493.

tung erzielt werden konnte, sind die seit 1937 bekannten HILL-Reaktionen. Mit Chloroplasten, die durch Zentrifugieren aus dem Zellverband gelöst worden sind, gelang es dem englischen Physiologen HILL⁴, leicht reduzierbare Substanzen, wie Ferricyanid und Chinon, bei Belichtung unter gleichzeitiger Sauerstoffentwicklung zu reduzieren. Zu Kohlendioxyd hingegen zeigten die isolierten Chloroplasten keine meßbare Affinität. Wie weiter unten erwähnt wird, ist es erst in neuerer Zeit gelungen, alle Vorgänge, die sich bei der Photosynthese in der lebenden Zelle abspielen, auch mit isolierten Chloroplasten durchzuführen. Werden HILL-Reaktionen in Anwesenheit von Wasser, das mit ¹⁸O markiert ist, durchgeführt, zeigt es sich, daß der gesamte entwickelte Sauerstoff aus dem Wasser stammt und zu keinem Teil aus der reduzierten Substanz oder aus den Chloroplasten. Daraus läßt sich schließen, daß der erste chemische Schritt bei der Photosynthese eine Aufspaltung von Wasser ist und daß den Chloroplasten eine rein katalytische Funktion zukommt. Die Bruttogleichung für die HILL-Reaktion lautet also:



Aufnahme von Kohlendioxyd

Durch Einführung von ¹⁴CO₂ in den Assimilationsvorgang bei Algen ist es CALVIN und Mitarbeitern⁵ gelungen, einen Zyklus aufzustellen, aus dem hervorgeht, wie Kohlendioxyd von der Pflanze aufgenommen wird und wie die Kohlendioxyd-Akzeptorsubstanz gebildet wird. Für die dieser Arbeit zugrunde liegenden Versuche wurde eine Apparatur konstruiert, die es erlaubt, Algen, die bereits während längerer Zeit stationär assimilieren, während einer genau bestimmbar Zeit (1 Sekunde bis mehrere Minuten) markiertem Kohlendioxyd auszu-

setzen. Die Einwirkungszeit des markierten Kohlendioxyds wird abgebrochen, indem die Algen abgetötet werden. Damit werden alle Lebensvorgänge abgestoppt, um zu erreichen, daß der aufgenommene radioaktive Kohlenstoff in der Pflanze nicht mehr weiterreagieren kann. Vom Algenextrakt werden zweidimensionale Papierchromatogramme hergestellt, welche mit einem Zählrohr quantitativ ausgewertet werden. Man erhält schließlich Diagramme, in denen die prozentuale Verteilung des insgesamt aufgenommenen radioaktiven Kohlenstoffs auf die verschiedenen Verbindungen als Funktion der Einwirkungszeit aufgetragen ist (Abb. 2). Stoffe, die bei der Kohlendioxydaufnahme als erste entstehen, müssen auch am schnellsten markiert werden. Die Versuche zeigen, daß Phosphoglycerinsäure (PGA) nach zwei Sekunden 75% des aufgenommenen ¹⁴C enthält. Die erste Reaktion bei der Kohlendioxydaufnahme wird demnach eine Carboxylierung sein. Kurven, die Maxima durchlaufen, gehören zu Zwischenprodukten; als solche können verschiedene Zuckerphosphate identifiziert werden. Als Endprodukte mit langsam aus dem Nullpunkt ansteigenden Kurven erscheinen vor allem Zucker und Aminosäuren.

Aufschlußreichere Erkenntnisse als aus dem zeitlich verschiedenen Erscheinen der Radioaktivität in den Verbindungen erhält man aus der Verteilung der Radioaktivität innerhalb der Moleküle, wie sie sich durch chemische Abbaumethoden feststellen läßt. Bei PGA ist vorerst nur das C-Atom der Carboxylgruppe radioaktiv. Nach und nach werden aber auch die beiden andern C-Atome markiert, was bedeutet, daß der CO₂-Akzeptor, der bei der Kohlendioxydaufnahme carboxyliert wird, von der Pflanze nachgeliefert wird. Unter den erwähnten Zuckerphosphaten, die als Zwischenprodukte auftreten, befinden sich hauptsächlich Hexosephosphat, Sedoheptulosephosphat und Ribulosephosphat. Die beiden letzteren Zucker sind bisher in Pflanzen selten aufgefunden worden, bei der Photosynthese kommt ihnen aber einige Bedeutung zu. Hexose erscheint zuerst markiert in C-Atom 3 und 4, Heptose in C-Atom 3, 4 und 5 und

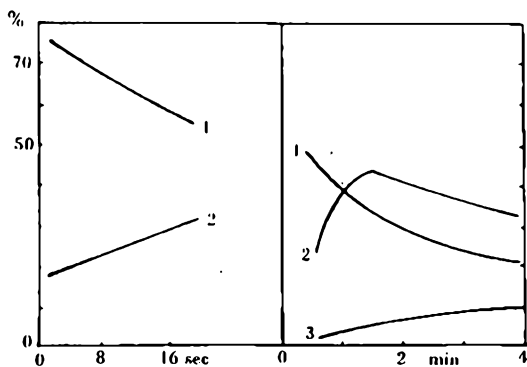


Abb. 2. Prozentuale Verteilung von ¹⁴C auf verschiedene Verbindungen als Funktion der Zeit. 1 Phosphoglycerinsäure; 2 Zuckerphosphate; 3 Aminosäuren (nach CALVIN und Mitarbeitern, *Symp. Soc. Exp. Biol.* 5 [1951] 284 und *J. Amer. Chem. Soc.* 76 [1954] 1760

⁴ R. HILL, *Proc. Roy. Soc. B* 129 (1940) 238.

⁵ M. CALVIN und Mitarbeiter, *J. Amer. Chem. Soc.* 74 (1952) 4477, 76 (1954) 1760.

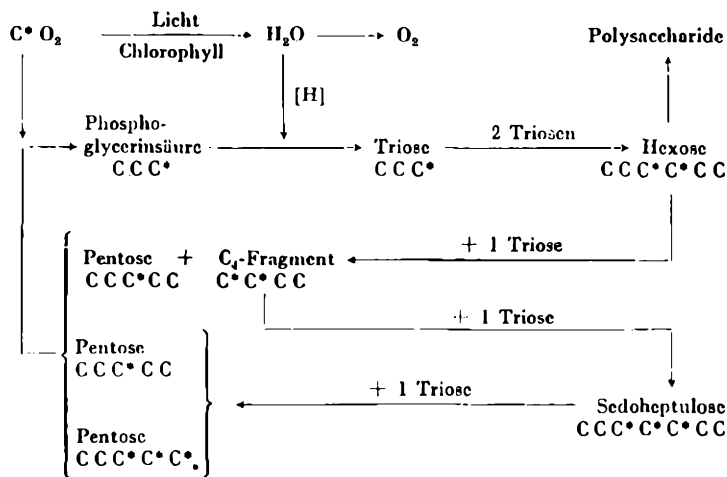
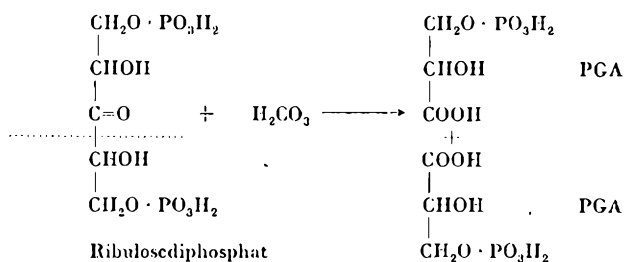


Abb. 3. Reaktionszyklus bei der Kohlendioxydaufnahme nach CALVIN

Pentose in C-Atom 3 und zu einem kleineren Teil in C-Atom 4 und 5. Diese Tatsachen führen CALVIN zu dem in Abb. 3 wiedergegebenen Reaktionsschema.

Daß die Pentose zum Kohlendioxidakzeptor führt, wird durch folgende Beobachtung unterstützt: Wird bei einem stationär gewordenen Assimilationsversuch mit markiertem Kohlendioxid plötzlich alles Kohlendioxid aus dem Gasraum entfernt, so kann die Carboxylierung nicht mehr ablaufen. Als Folge beobachtet man ein Ansteigen der Radioaktivität in den C₅-Verbindungen. Wird hingegen die Belichtung abgebrochen, kann PGA nicht mehr reduziert werden. Wie erwartet, staut sich der radioaktive Kohlenstoff in PGA, während der Vorrat an C₅-Verbindungen absinkt. Ursprünglich hatte man angenommen, daß der Kohlendioxidakzeptor zwei Kohlenstoffatome umfaßt. CALVIN⁶ hat durch einen spätern Versuch gezeigt, daß direkt Ribulosediphosphat carboxyliert wird. Der erste Reaktionsschritt bei der Kohlendioxidaufnahme kann also wie folgt präzisiert werden:



Der genaue Mechanismus der erwähnten Reaktionen ist nur zum kleinsten Teil abgeklärt, trotzdem eine ganze Reihe neuerer Arbeiten vorliegen, die sich mit dem Problem der Umwandlung von Lichtenergie in die benötigte Reduktionsenergie befassen. Sichergestellt ist, daß dem Adenosintriphosphat (ATP) als Energieüberträger in Form von energiereichen Phosphatbindungen große Bedeutung zukommt. E. RACKER⁷ schlägt einen Pentose-Phosphat-Zyklus vor, der sich gut in das Reaktionsschema von CALVIN eingliedern läßt (Abb. 4). Um drei Moleküle Kohlendioxid durch den Zyklus links in Abb. 4 zu assimilieren, werden sechs Moleküle Diphosphopyridinnucleotidhydrid (DPNH₂) dehydriert, und neun Moleküle ATP gehen dabei in Adenosindiphosphat (ADP) über. Diese Stoffe werden durch die eingerahmten Reaktionen rechts neu gebildet. Die obere Reaktion stellt die erwähnte Wasseraufspaltungsreaktion durch die aufgenommene Lichtenergie dar, über deren Mechanismus noch nichts Genaueres bekannt ist. Die untere eingerahmte Reaktion ist die Reoxydation des wasserstoffübertragenden Ferments. Die dabei freiwerdende Energie dient der gleichzeitigen Regeneration des ATP. Dieser als photosynthetische Phosphorylierung bezeichnete Vorgang konnte von ARNON und Mitarbeitern⁸ mit iso-

⁶ M. CALVIN und Mitarbeiter, *J. Amer. Chem. Soc.* 76 (1954) 3610.

⁷ E. RACKER, *Nature* 175 (1955) 249.

⁸ ARNON und Mitarbeiter, *J. Amer. Chem. Soc.* 76 (1954) 6324.

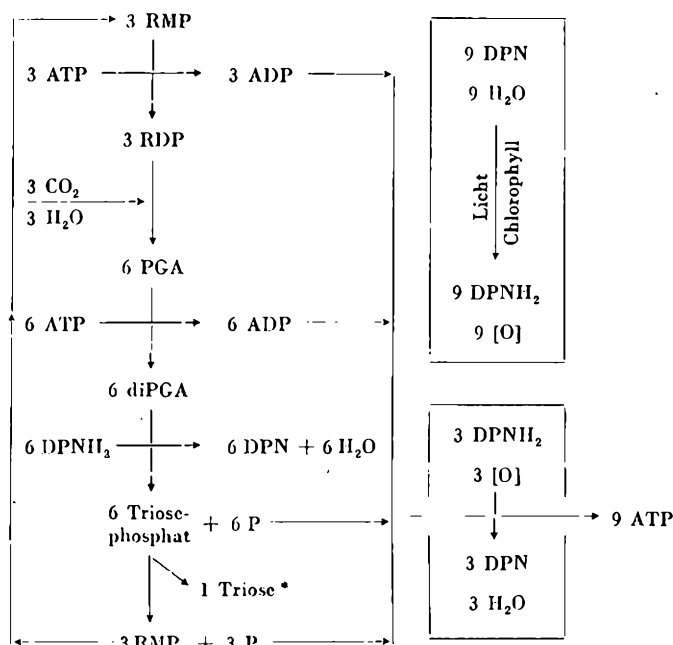
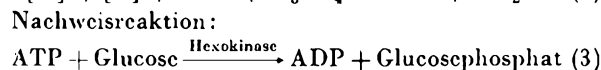
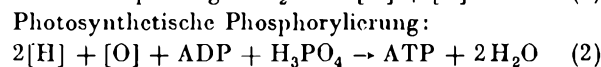
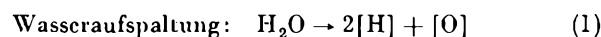


Abb. 4. Pentose-Phosphat-Zyklus. RMP Ribulosemonophosphat, RDP Ribulosediphosphat, PGA Phosphoglycerinsäure, P Phosphatrest, ATP Adenosintriphosphat, ADP Adenosindiphosphat, DPN Diphosphopyridinnucleotid (nach E. RACKER, *Nature* 175 [1955] 249)

* Diese Triose entspricht den aufgenommenen drei Molekülen Kohlendioxid und steht der Pflanze für weitere Aufbaureaktionen zur Verfügung

lierten Chloroplasten durchgeführt werden. Zu Chloroplasten, die aus Spinatblättern isoliert worden sind, wird anorganisches, mit ³²P markiertes Phosphat gegeben. Um das Phosphat in organische Bindung zu überführen, genügen Spuren von ADP und ein Phosphatakzeptorsystem, nämlich Glucose und Hexokinase, welche den Phosphatrest aus dem gebildeten ATP auf die Glucose überträgt. Die Gleichungen für diese Vorgänge lauten:



Glucosephosphat kann mit der üblichen Methode, mit Papierchromatogramm und Zählrohr nachgewiesen werden. Dieser Versuch von ARNON bestätigt, daß es sich bei der photosynthetischen Phosphorylierung um einen Vorgang handelt, der nur bei Belichtung abläuft, bei dem aber weder Sauerstoff gebildet noch Kohlendioxid aufgenommen wird. Es wird lediglich Lichtenergie in die Phosphatbindungsenergie des ATP übertragen.

Nun steht noch die Frage offen, ob der Sauerstoff, der in Reaktion (1) produziert wird, als Gas freigesetzt wird, um von Reaktion (2) als Molekül verbraucht zu werden, oder ob der Sauerstoff im Moment der Entstehung in die Reaktion (2) als Radikal eingeht. Die erste Möglichkeit würde ausgezeichnet mit der von WARBURG postulierten

Aufspaltung der Photosynthese in Lichtreaktion und Rückreaktion übereinstimmen, indem Gleichung (1) der Lichtreaktion und Gleichung (2) der Rückreaktion entsprechen würde. Es gibt aber auch Beobachtungen, die mehr auf die zweite Möglichkeit hindeuten. Hier ist ein Versuch von BROWN⁹ zu erwähnen, wo gezeigt wird, daß die Sauerstoffaufnahme aus der Gasphase unabhängig von der Belichtung ist. Abb. 5 zeigt die Partial-

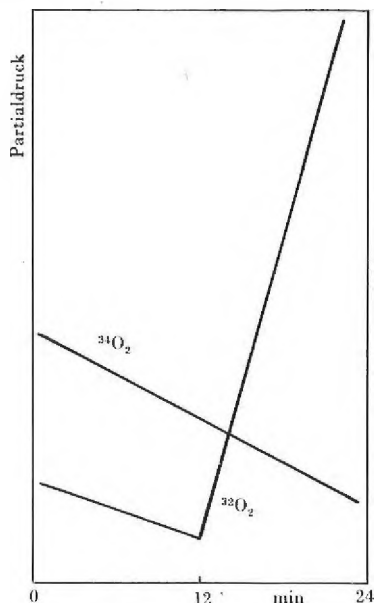


Abb. 5. Sauerstoffaustausch mit der Atmosphäre während Dunkel- und Hellperiode (nach A.H. BROWN, *Plant Physiol.* 27 [1952] 691)

drucke der Sauerstoffisotope einer mit $^{34}\text{O}_2$ markierten Sauerstoffatmosphäre, in der eine Algenkultur assimiliert. Während der ersten zwölf Minuten herrscht Dunkelheit; die Partialdrucke sinken linear mit der Zeit ab, da nur Sauerstoff durch die Atmung verbraucht wird. Wenn für die zweiten zwölf Minuten Licht eingeschaltet wird, überlagert die Sauerstoffproduktion der Photosynthese den Sauerstoffverbrauch der Atmung. Würde Reaktion (2) den Sauerstoff aus der Gasphase beziehen,

⁹ A.H. BROWN, *Amer. J. Bot.* 40 (1953) 719.

müßte der Partialdruck des $^{34}\text{O}_2$ während der Hellperiode stärker abnehmen als während der Dunkelperiode. Da dies nicht der Fall ist, kann der Sauerstoff aus Reaktion (1) nicht in der Gasphase erscheinen.

Photosynthese mit isolierten Chloroplasten

In einer 1955 erschienenen Arbeit teilen ARNON und ALLEN¹⁰ mit, daß sie mit isolierten Chloroplasten eine vollständige Photosynthese durchgeführt haben, was so zu verstehen ist, daß isolierte Chloroplasten im Assimilationsversuch Sauerstoff produzieren und die gleiche Menge Kohlendioxyd aufnehmen, ohne daß irgendwelche Enzyme oder andere Stoffe dem System zugesetzt werden. Dies war erst möglich, nachdem man gelernt hatte, die Chloroplasten genügend vorsichtig zu isolieren und aufzubewahren. Die verwendeten Spinatblätter werden in einer verdünnten Kochsalzlösung mit Sand zerrieben und die Chloroplasten anschließend durch Zentrifugieren bei niedrigen Tourenzahlen vom übrigen Zellmaterial abgetrennt. Eine Behandlung der Chloroplasten mit Wasser zerstört ihre Fähigkeit zur Kohlendioxydaufnahme, während die photosynthetische Phosphorylierung auch mit solchen Chloroplasten noch durchgeführt werden kann. Die günstigsten Bedingungen für die Aufbewahrung sind tiefe Temperaturen und ständige Belichtung. Selbst in diesem Fall beträgt der Verlust in der Aufnahmefähigkeit für Kohlendioxyd 40% in einer Stunde.

Dieses Sammelreferat erhebt keinen Anspruch darauf, einen vollständigen Überblick über den heutigen Stand der Erforschung der Photosynthese zu geben. Für ein genaueres Studium der behandelten Probleme muß auf die Originalliteratur verwiesen werden. Andere Probleme – wie z.B. die Absorption der Strahlungsenergie durch das Pigmentsystem – werden hier gar nicht erwähnt. Allerdings kommt ein Teil der zahlreichen neueren Publikationen über Photosynthese über das Stadium von Vermutungen nicht hinaus.

¹⁰ ARNON und Mitarbeiter, *J. Amer. Chem. Soc.* 77 (1955) 4149.

Weitere Literaturangaben in *Endeavour* 56 (1955) 173 (Sammelreferat).