

	Peso medio totale		Peso medio radice			Peso medio fogliame			Peso medio del fusto			mmg di acido dife- nililacetico per pianta
	in g	indice	in g	indice	% del peso medio totale	in g	indice	% del peso medio totale	in g	indice	% del peso medio totale	
A*	687	100	73	100	10,6	384	100	56,0	230	100	33,4	0,00
B	1743	253	150	206	8,6	980	255	56,2	613	267	35,2	1,75
C	1390	202	213	292	15,3	695	181	50,0	482	210	34,7	2,00
D	1290	187	163	223	12,6	673	175	52,2	454	197	35,2	2,25
E	1551	224	185	254	11,9	822	214	53,1	544	236	35,0	2,50
F	1330	193	132	181	9,9	723	188	54,3	475	206	35,8	2,75

* Testimoni.

venne in primo tempo sperimentato al saggio di MACHT leggermente modificato¹. I risultati, tuttora inediti, di questo gruppo di ricerche saranno pubblicati *in extenso* fra breve; in ogni modo possiamo anticipare che, mentre per concentrazioni relativamente alte l'acido difenililacetico blocca la crescita del germinello di *Lupinus albus*, a concentrazioni bassissime (qualche parte per milione, o meglio frazioni di p.p.m.) esplica una netta azione fitodinamica positiva, dando luogo ad indici fitotossici superiori a cento.

Dati questi risultati, abbiamo ritenuto opportuno eseguire delle esperienze sul terreno usando come «test» la pianta del tabacco tipo «Burley» («Giuseppina»). Vennero approntati perciò sei lotti di piantine da seme con tre foglie, trapiantate ciascuna in vasi da 7,5 centimetri di diametro. La prima serie, di nove piante, venne tenuta come controllo e le altre serie, di sei piante ciascuna, furono sottoposte all'azione di una soluzione acquosa di acido difenililacetico alla concentrazione di 10 p.p.m.; la quantità di liquido usato per ciascuna pianta fu di 25 cm³, distanziando ogni trattamento di 48 ore ed innaffiando ogni vaso accuratamente con una pipetta in modo che il liquido non toccasse le foglie. Le quantità totali che furono somministrate ad ogni pianta delle diverse serie sono:

serie A nulla (testimonio);
serie B 75 cm³ in tre riprese, equivalente a mmg 0,75 di acido difenililacetico;
serie C 100 cm³ in quattro riprese, equivalente a mmg 1,00 di acido difenililacetico;
serie D 125 cm³ in cinque riprese, equivalente a mmg 1,25 di acido difenililacetico;
serie E 150 cm³ in sei riprese, equivalente a mmg 1,50 di acido difenililacetico;
serie F 175 cm³ in sette riprese, equivalente a mmg 1,75 di acido difenililacetico.

Al quattordicesimo giorno, cioè alla fine del trattamento in vaso, le piantine dei lotti irrigati mostravano uno sviluppo sensibilmente superiore a quello delle piante di controllo. Al ventesimo giorno dall'inizio dell'esperienza tutte le piante vennero trapiantate in piena terra e quelle delle parcelle B, C, D, E, F furono irrorate con 50 cm³ per pianta di soluzione di acido difenililacetico a 20 p.p.m., versati attorno al fusto in un solchetto circolare distante pochi centimetri.

La differenza di sviluppo fra le piante trattate e quelle testimoni fu nettissima dopo circa tre mesi. Lo stesso comportamento rispetto ad una deficienza d'acqua di irrigazione lasciava indovinare nelle piante trattate uno sviluppo radicale notevolmente superiore. Raccolti, tutti gli esemplari vennero pesati, distinguendo il peso delle foglie da quello del fusto e delle radici. La seguente

tabella dà il peso medio delle piante di ciascuna parcella, il peso medio percentuale di ogni singola parte rispetto al totale ed inoltre un *indice di sviluppo* calcolato paragonando le medie delle piante trattate con le medie dei testimoni considerate eguali a 100.

I dati sono per ora semplicemente preliminari; non possono certamente essere considerati estremamente significativi dato il numero esiguo di esemplari usati, troppo basso per poter arrischiare conclusioni definitive. Riteniamo però di non essere troppo lontani dal vero in quanto, nonostante la grande variabilità di crescita del tabacco, i pesi delle piante trattate furono per *tutti* gli esemplari superiori ai pesi di *tutte* le piante testimonio.

L'acido difenililacetico ha indotto nella pianta di tabacco uno sviluppo di molto superiore al normale, con certe dosi addirittura doppio, benché non si possa dire quale sia stata la dose ottimale. È evidente una maggiore robustezza degli organi di sostegno; in modo particolare l'apparato radicale appare più sviluppato sia come lunghezza sia come numero di radici principali, senza che però questo autorizzi a considerare l'acido difenililacetico come sostanza rizogena, almeno alla concentrazione da noi usata.

Concludendo, si è potuto dimostrare che l'acido difenililacetico può essere considerato come una sostanza auxinosimile che, come tale, mentre ad alte concentrazioni inibisce lo sviluppo dei vegetali (Lupino bianco), a diluizioni molto spinte agisce in senso fitodinamico positivo.

Numerose esperienze sono ancora in corso e ci permetteranno una più esatta determinazione della attività del composto in oggetto e la sua comparazione con altri fitormoni sintetici.

F. BERTOSSI e R. CIFERRI

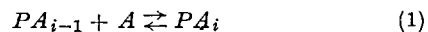
Pavia, Istituto botanico dell'Università, 24 settembre 1947.

Summary

The application of diphenylilacetic acid has shown favorable effects on the growth of tobacco plants. Solutions containing 10 p.p.m. and 20 p.p.m. produce, in weight, an almost double growth in treated plants in comparison with the controls. Diphenylilacetic acid can be considered as a growth-promoting substance. The data are not definite.

The Physiological Importance of the Interaction of Oxygenation between the Heme Groups of Hemoglobin

The oxygenation of hemoglobin (Hb) is a reaction of the type



which is frequent among the reactions of the proteins.

¹ F. BERTOSSI e R. CIFERRI, Atti Ist. Bot. Lab. Critt., ser. V, 3 (1947).

According to KLOTZ's¹ notation r , the ratio of the moles of bound substance A to the moles of the total protein P , is expressed by the equation

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n i (A)^i \prod_{j=1}^i K_j}{1 + \sum_{i=1}^n (A)^i \prod_{j=1}^i K_j} \quad (2)$$

which, for the case of the oxygenation of Hb, is an abbreviation of ADAIR's² relation. Equation (2) is of little use if no information on the value of the equilibrium constants is available. Several authors have tried to establish the ratio K_{i-1}/K_i between two successive equilibrium constants. KLOTZ³ states that if the binding of the first A -molecule does not affect the binding of the second, except by diminishing a statistical probability (less active groups available), the equation

$$\frac{1}{r} = \frac{1}{n} \frac{K}{A} + \frac{1}{n} \quad (3)$$

is valid, and a plot of $1/r$ versus $1/(A)$ gives a straight line.

The line a in Fig. 1 fits the experimental data of FERRY and GREEN⁴ for horse Hb at 25 °C, p_H 6.77. The abscissa represents the value of $1/p$ or the reciprocal of the O_2 -pressure, a magnitude proportional to $1/(A)$. The line b represents how conditions would be if there were

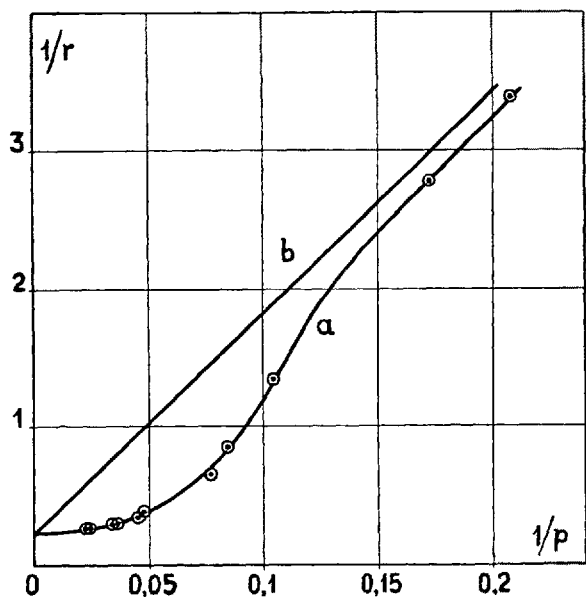


Fig. 1.

no change of interaction between the heme groups. Line b has been drawn to fulfil the following requirements: (a) it follows equation (3) and tends therefore to $1/4$ when $1/p$ tends to zero; (b) it approaches the experimental curve for $1/p$ tending to infinity, since no interaction is to be expected for the first step of oxygenation. The following conclusions may be drawn from Fig. 1:

(a) in comparison with the binding of organic ions by a protein as studied by KLOTZ, the oxygenation of Hb gives curves lying at the right side of the b - (or statisti-

al) line, whereas KLOTZ's reactions give curves lying at the left side. This fact means that

(b) in both cases the successive equilibrium constants are not determined solely by statistical factors, but

(c) the binding of an ion by a protein hampers the successive reaction, whereas the binding of an O_2 -molecule by Hb facilitates the binding of a second O_2 -molecule. This statement is in agreement with PAULING's¹ theory of the oxygenation of Hb.

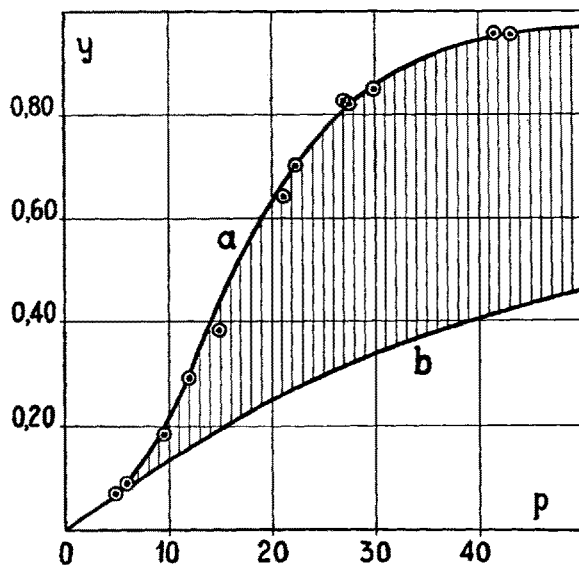


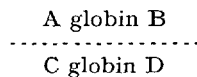
Fig. 2.

Fig. 2 represents the dissociation curve a as experimentally determined (same data as in Fig. 1) and b as it would be if no interaction were present. It may be stated that:

(a) if no interaction were present the curve would be a hyperbola, as it was to be expected, since equation (3) is easily transformable into HUEFNER's well-known equation;

(b) the striped area of Fig. 2 gives a measure of the interaction, and shows evidence of the physiological importance of this effect.

It is noteworthy that in cases in which the pigment has a molecular weight of half its normal weight (Hb of *gastrophilus*², horse Hb in 6.66 M urea³, myoglobin⁴) the dissociation curve is of the b - (or merely statistical) type. An explanation is possible if we imagine the Hb molecule as composed of two globin units with heme groups interacting by pairs of different units, as in the schema



where A, B, C, D indicate the position of the heme groups; the distances separating the heme groups are such, that only interactions AC and BD are possible. If an agent (as represented by the dotted line of the schematic configuration) splits the Hb molecule into its globin units, no interaction is possible any longer, and the dissociation curve becomes hyperbolic. E. BOERI

Physiological Laboratory, University of Naples, October 10, 1947.

¹ I. M. KLOTZ, J. Am. chem. Soc. **69**, 1809 (1947).

² G. S. ADAIR, J. biol. Chem. **63**, 529 (1925).

³ I. M. KLOTZ, F. M. WALKER, and R. B. PIVAN, J. Am. chem. Soc. **68**, 1486 (1946).

⁴ R. M. FERRY and A. A. GREEN, J. biol. Chem. **81**, 175 (1929).

¹ L. PAULING, Proc. Nat. Acad. Sci. **21**, 186 (1935).

² D. KEILIN and Y. L. WANG, Biochem. J. **40**, 855 (1946).

³ E. BOERI and A. VESCIA, Arch. Néerl. Physiol. **28** (1947), in press.

⁴ H. THEORELL, Biochem. Z. **268**, 64 (1934).

Zusammenfassung

Eine theoretische Betrachtung der Gleichungen von KLOTZ bestätigt folgendes: a) die O_2 -Aufnahme von Hämoglobin ist nicht nur durch statistische Faktoren bedingt; b) die Bindung der ersten O_2 -Moleküle erleichtert die Bindung weiterer Moleküle. Das steht in Übereinstimmung mit der Annahme von PAULING. Die physiologische Bedeutung dieses Phänomens wird graphisch dargestellt. Es wird eine Hypothese vorgeschlagen, die das Auftreten von hyperbolischen Dissoziationskurven unter bestimmten Bedingungen zu erklären vermag.

Zum Problem des Stoffwechsels der Brenztraubensäure *in vivo*¹

Die Brenztraubensäure (BTS) verdient unter den Zwischenprodukten des Kohlehydratstoffwechsels besonderes Interesse. Unsere Kenntnisse über ihre Umsetzung im lebenden Organismus sind lückenhaft, vor allem sind die Ansichten über die bei ihrer Verwertung beteiligten Hormone und Fermente widersprechend. Systematische Untersuchungen über den BTS-Haushalt beim normalen und beim alloxandiabetischen Kaninchen haben zu neuen Resultaten geführt, die im folgenden kurz zusammengefaßt sind.

1. Belastet man gesunde Kaninchen mit 0,25 g/kg Napyruvat intravenös, dann kommt es zu einem steilen Anstieg der Blut-BTS, der aber nur von kurzer Dauer ist. Nach 60 Minuten ist der Nüchternwert fast regelmäßig wieder erreicht. (Die Normalwerte der BTS für das Kaninchen liegen zwischen 0,5 und 2,5 mg %.) Eine längere Anstauung von BTS im Organismus wird also offenbar durch das Eingreifen von Regulatoren, die die BTS-Beseitigung steuern, vermieden.

2. Nimmt man eine gleich große BTS-Belastung bei einem Tier vor, bei dem durch Alloxaneinspritzung ein stationärer Diabetes erzeugt worden ist, dann unterscheidet sich die Blut-BTS-Kurve von der normalen durch einen meist noch höheren Anstieg und vor allem durch einen verzögerten Abfall zum Ausgangsspiegel. Nach 60 Minuten liegt die Blut-BTS regelmäßig über dem Nüchternwert, diesen oft um ein Mehrfaches übersteigend (Nüchternwerte beim stationären Alloxandibetes: zwischen 1,3 bis 4,3 mg % BTS). Beim Alloxandibetes besteht also eine eindeutige Verwertungsstörung für exogen zugeführte BTS.

3. Wird bei der Erzeugung des Diabetes eine höhere Alloxandosis verwendet, dann entwickelt sich beim Kaninchen ein Zustand von Glykosurie und Hyperglykämie progredienter Natur, d. h. die Tiere geraten unter fortlaufender Verschlechterung der Stoffwechsellaage in einen dem menschlichen Coma diabeticum analogen Zustand mit stark verminderter Alkalireserve und Ketosis. Wir konnten nachweisen, daß bei diesem progredienten Typus des Alloxandibetes die endogene Bildung der BTS stark vermehrt ist. Die zunehmende Hyperpyruviämie ist für diese Diabetesform geradezu charakteristisch. An der Säurevergiftung des Organismus im Präkoma und Koma ist also die BTS in nennenswertem Maße beteiligt.

4. Angesichts der beiden Befunde von Verwertungsstörung exogen zugeführter und von Anstauung endogen gebildeter BTS erhebt sich die Frage nach den Regulatoren dieser Stoffwechselsubstanz, wobei der Gedanke an das Insulin am nächsten liegt. Entgegen verschied-

entlich in der Literatur beschriebenen Befunden haben wir keinerlei Beeinflussung des Blut-BTS-Gehaltes durch Insulin feststellen können. Der Nüchtern-BTS-Blutspiegel bleibt unbeeinflusst, der verzögerte Ablauf der Belastungskurve beim diabetischen Tier wird nicht verändert, die endogene Hyperpyruviämie im Präkoma und Koma reagiert nicht auf das Pankreashormon. Insulin ist also im BTS-Stoffwechsel kein Regulator.

5. Die Rolle des Vitamin B_1 als Bestandteil der Carboxylase ist aus Fermentarbeiten hinreichend bekannt. Das Vitamin liefert in Form der Aneurinpyrophosphorsäure ein Coferment, die sogenannte Copyruvodehydrase. Mangelzustände an Vitamin B_1 , wie sie bei der Beriberi vorliegen, führen zu erhöhtem Blut-BTS-Gehalt. Diese allgemein bekannten Tatsachen legen es nahe, die Einwirkung des Aneurins auf die pathologische BTS-Kurve des alloxandiabetischen Tieres im akuten Belastungsversuch zu prüfen. Das Ergebnis war eindeutig; es gelingt, die diabetische BTS-Kurve durch Zusatz von Aneurin zu normalisieren, d. h. der Ausgangswert für BTS wird nach 60 Minuten wie beim Normaltier erreicht, wenn man eine größere Aneurindosis $1\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden vor der Pyruvatbelastung subkutan spritzt. Damit ist der Beweis für das akute Eingreifen des Aneurins in den BTS-Stoffwechsel erbracht.

Die Beseitigung der endogenen Hyperpyruviämie bei progredientem Alloxandibetes ist ein eigenes Problem. Im Zustand des Präkomas und Komas handelt es sich um einen mehr oder weniger vollständigen Zusammenbruch der wichtigsten Regulatoren und ihrer Stoffwechselsubstrate, so daß die Wiederherstellung des Gleichgewichts nicht ohne weiteres von einem Angriffspunkt aus erreichbar ist. Es ist uns gelungen, auch diese Störung des BTS-Stoffwechsels zu kompensieren, worüber wir in einer nachfolgenden Mitteilung berichten werden.

S. MARKEES und F. W. MEYER

Medizinische Universitätspoliklinik Basel und Pharmakologisches Laboratorium der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel, den 5. Dezember 1947.

Summary

Following intravenous injection of pyruvic acid (PA) in the form of the sodium salt in the normal rabbit the level of PA in the blood rises, falling again to the initial level after 60 minutes. In the case of the alloxandibetic animal the elimination of PA administered in equal doses is markedly retarded. If animals are used that suffer from a progredient alloxan diabetes leading to death in coma, an increased endogenous hyperpyruviämia can be demonstrated. Insulin plays no part in the regulation of PA metabolism; through the application of aneurin, however, one succeeds in enabling the organism to make use of PA. A separate report will deal with the complex relations holding in endogenous hyperpyruviämia in coma.

Lethal Effect of Cosmic Ray Showers on the Progeny of Animals

The biologic effect of cosmic ray showers on the fertility of Angora rabbits and white mice was studied. Similar experiments with domestic rabbits were previously performed by J. EUGSTER and V. F. HESS¹ on the

¹ Der Großteil der Experimente wurde mit Unterstützung der Roche-Studienstiftung durchgeführt.

¹ J. EUGSTER and V. F. HESS, Die Weltraumstrahlung und ihre biologische Bedeutung (Verlag Orell Füssli, Zürich 1940), p. 139.