

therefore, cannot be considered to supply satisfactory evidence of the role, under normal conditions, of the intestinal flora in the supply of nicotinamide.

An increased interest in the site of the biosynthesis of nicotinamide followed the discovery that application of tryptophan increased the nicotinamide biosynthesis considerably (KREHL, SARMA, TEPLY and ELVEJEM¹, ROSEN, HUFF and PERLZWEIG²) which was observed in numerous species. In the rat, the tryptophan effect seems to take place in the body-tissue (SCHWEIGERT and PEARSON³ HUNDLEY⁴) as well as in the intestinal flora (ELLINGER and ABDEL KADER^{5,6,7}; JUNQUEIRA and SCHWEIGERT⁸). The rat is, however, not an ideal experimental animal for experiments of this kind. Feeding insoluble sulphadiazole to rats causes the coli population and nicotinamide methochloride elimination to fall simultaneously and to a considerable extent, but the latter returns to predosing level in spite of continued sulphathiazole feeding while the coli remain absent (ELLINGER⁹).

The site of the so-called "tryptophan-nicotinamide conversion" in man has been examined recently by SNYDERMAN, KETRON, CARRETERO and HOLT¹⁰. These workers administered to each of a number of normal infants, 3 to 24 months old, lg. of L-tryptophan, either intravenously or by mouth and examined the rise in nicotinamide methochloride elimination; this was of about the same degree in both cases. The predosing levels were again very low in comparison with those reported by COULSON and STEWART¹¹ for newborn babies. This might be due to the diet influencing the intestinal flora. From the promptness of the rise of nicotinamide methochloride elimination, which was approximately equal in magnitude after oral and intravenous tryptophan application, SNYDERMAN *et al.* concluded that "the conversion of tryptophan to N¹-methyl nicotinamide in man seems to be mediated by the body-tissues rather than by bacterial synthesis in the gastro-intestinal tract". I consider this conclusion is unwarranted for the following reasons:—

(1) The investigation was not carried out on man under normal conditions, but on children on a special diet. Under these conditions children possess an intestinal flora entirely different from that of adults living on a mixed diet. Conclusions of this kind, arrived at from experiments on infants and based on the intestinal flora cannot be applied to adults.

(2) The findings of SNYDERMAN *et al.*¹⁰ allow an interpretation exactly opposite to the one they draw. If the "conversion of tryptophan into nicotinamide" occurs in the body-tissues it is probable that most of the intra-

venously injected tryptophan reaches the tissue concerned with the "conversion"! If, however, the tryptophan is given by mouth a considerable portion of it must be lost by destruction by the intestinal flora and only a part of the administered dose reaches the "converting" tissue. A smaller formation and subsequent elimination of nicotinamide methochloride can, therefore, be expected after oral than after intravenous administration. If the elimination is, however, equal in both cases it is very strong support for the view that the intestinal flora is involved in this "conversion" to a considerable extent in these infants.

While biosynthesis of nicotinamide in the gut as well as in the tissues, in the absence or presence of extra-dietary tryptophan, is proved for the rat, for man evidence of this synthesis is available only for that occurring in the intestinal flora.

P. ELLINGER

Lister Institute of Preventive Medicine, London,
S. W. 1, December 31, 1949.

Zusammenfassung

Für die Ratte ist die Synthese von Nikotinsäureamid sowohl im Körpergewebe wie auch in der Darmflora sichergestellt. Die sogenannte «Tryptophan/Nikotinsäureamid-Umwandlung» kann bei dieser Tierart in Körpergewebe und Darmflora erfolgen. Für den Menschen ist die Bildung von Nikotinsäureamid nur durch die Darmflora bewiesen.

Recherches sur la biosynthèse de la biotine dans les méristèmes radiculaires de *Pisum* en culture aseptique

La biotine (vitamine H) est abondamment synthétisée par de nombreux microorganismes¹ ainsi que par les plantes supérieures. Les divers organes de ces dernières en contiennent des quantités appréciables ce qui, cependant, ne nous renseigne pas sur le lieu où les synthèses sont particulièrement intenses. On peut en particulier se demander comment se comporte la racine, privée de ses connections naturelles et cultivée en milieu synthétique stérile. J. BONNER a étudié le comportement de la racine de Lin, de Trèfle, de Luzerne et de Tomate et indique que ces racines sont douées du pouvoir de synthétiser la biotine. Il n'indique cependant que les taux finaux en biotine, après une longue durée de culture et plusieurs repiquages².

Des recherches de physiologie, pour lesquelles la racine de *Pisum* sert de test, nous obligent à connaître de quelle manière se comporte le métabolisme de la biotine chez cette espèce.

La racine de *Pisum* (sorte Maikönigin) est cultivée en milieu strictement synthétique constitué par les substances suivantes: milieu I, saccharose, Ca(NO₃)₂, KNO₃, KCl, KH₂PO₄, MgSO₄, tartrate de fer, vitamine B₁; milieu II, identique au précédent, mais avec de la nicotinamide en plus. Seule la vitamine B₁ est nécessaire. La nicotinamide n'est pas indispensable à la race de *Pisum* utilisée³.

¹ W. A. KREHL, P. S. SARMA, L. J. TEPLY, and C. A. ELVEJEM, *J. Nutrition* 31, 85 (1946).

² F. ROSEN, J. W. HUFF, and W. A. PERLZWEIG, *J. biol. Chem.* 163, 343 (1946).

³ B. S. SCHWEIGERT and P. B. PEARSON, *J. biol. Chem.* 168, 565 (1947).

⁴ P. ELLINGER and M. M. ABDEL KADER, *Nature* 160, 675 (1947).

⁵ J. M. HUNDLEY, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 70, 592 (1949).

⁶ P. ELLINGER and M. M. ABDEL KADER, *Biochem. J.* 42, 60 (1948).

⁷ P. ELLINGER and M. M. ABDEL KADER, *Biochem. J.* 44, 285 (1949).

⁸ P. B. JUNQUEIRA and B. S. SCHWEIGERT, *J. biol. Chem.* 175, 535 (1948).

⁹ P. ELLINGER, unpublished results (1949).

¹⁰ S. E. SNYDERMAN, K. C. KETRON, R. CARRETERO, L. E. HOLT, Jr., *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 70, 569 (1949).

¹¹ R. A. COULSON and C. A. STEWART, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 61, 364 (1946).

¹ W. H. SCHOPFER, *Z. Vitaminforsch.* 14, 42 (1943).

² J. BONNER, *Amer. J. Bot.* 27, 692 (1910).

³ W. H. SCHOPFER et R. LOUIS (sous presse).

Les résultats obtenus sont les suivants:

	Jours	Poids sec d'une racine (mg)		Longueur de la racine (mm)		Nombre de racines lat.		Biotine totale μg/mg	
		I	II	I	II	I	II	I	II
1 ^{er} passage	29	8,0	7,8	148,0	153,0	6,4	9,0	0,446	0,458
2 ^e passage	45	10,6	10,4	177,7	178,1	9,3	4,1	0,400	0,425
3 ^e passage	60	5,4	9,0	117,5	169,3	0	9,0	0,253	0,486
4 ^e passage	75	6,0	10,5	140,8	182,7	1,6	6,7	0,305	0,413
5 ^e passage	90	5,1	7,5	100,0	138,0	0	5,0	0,275	0,401
6 ^e passage	104	3,8	5,8	78,6	120,4	0	7,1	0,265	0,456
7 ^e passage	120	5,0	7,5	109,6	156,8	1,0	8,0	0,327	0,424
8 ^e passage	135	2,7	5,0	63,0	108,0	0,7	1,4	0,693	0,572
9 ^e passage	150	5,0	6,7	113,0	125,0	2,0	6,3	0,646	0,691

I: milieu avec aneurine. II: milieu avec aneurine et nicotinamide. 1 μg = 1/1000 de γ.

Une pointe de racine de 10 mm. environ est coupée aseptiquement et introduite dans le milieu. Elle s'y développe au cours de 15 jours. Sa pointe est à nouveau coupée et transférée dans un milieu frais. Neuf passages, nécessitant 150 jours de culture, sont ainsi effectués.

Pour chaque culture, nous mesurons la longueur de la racine, le nombre de racines latérales visibles, le poids sec de la racine, ainsi que la biotine synthétisée. Cette dernière est analysée à l'aide du test *Saccharomyces cerevisiae*. Nous déterminons quantitativement la biotine présente dans la racine et celle qui a diffusé dans le milieu. Connaissant la biotine totale synthétisée, nous calculons la quantité de cette vitamine produite, en μg par mg sec de racine.

On relève quelques différences entre les cultures des groupes I et II. Après le 3^e passage, dans les milieux sans nicotinamide, le taux relatif de la biotine diminue d'un tiers de sa valeur initiale. En présence de nicotinamide, le taux reste relativement constant. La même observation peut être faite au sujet du poids sec, de la longueur de la racine ainsi que du nombre de racines latérales. Après 150 jours et 9 passages, les cultures du groupe I rejoignent celles du groupe II.

Conclusions

1° La racine isolée de *Pisum*, cultivée en milieu synthétique stérile, est le siège d'une biosynthèse constante de biotine (vitamine H) qui se manifeste encore après 150 jours de culture. On peut donc admettre qu'au sujet du métabolisme de la biotine la racine est dans une large mesure autonome. Il n'est cependant pas possible d'affirmer que, dans la plante intacte, la feuille n'agisse pas sur le métabolisme de la vitamine H dans la racine.

2° La nicotinamide, sans être indispensable, agit favorablement sur le développement et la biosynthèse de la biotine. Elle peut être considérée comme facteur complémentaire, tout au moins pour la race de *Pisum* utilisée.

R. LOUIS

Institut et Jardin botaniques de l'Université de Berne, le 22 novembre 1949.

Summary

(1) Biotin (vitamine H) is synthesized by isolated pea-roots cultured aseptically in a synthetical medium. The biotin-content of the dry material from 9 passages over a period of 150 days shows more or less constant values, which proves that the root is highly autonomic in synthesizing biotin. Nevertheless it is possible, that the

leaves of the intact plant might influence in some way the metabolism of biotin of the root.

(2) Nicotinamide is not an essential factor for under-
taining growth of roots, but in its presence biotin-values are remarkably increased. Nicotinamide might be regarded as a complementary factor for the race of *Pisum* investigated.

The Effect of Raphanin on the Dye Production of Various Filamentary Fungi

It has been demonstrated in previous experiments that IVÁNOVICS's¹ raphanin exerts, *in vitro*, a damaging effect on the colonies of non-pigmentous filamentary *dermatophytons*. In our present investigations, the dye-producing fungi *Aspergillus niger*, *Scopulariopsis brevicaulis* BRUMPT, *Penicillium glaucum*, *Trichothecium roseum* LINK, and *Sterigmatocystis*, were exposed to the action of raphanin.

Oblique malt in test-tubes was employed. Raphanin being a thermostabile substance, it had been mixed with the medium before sterilization. The test-tubes contained various concentrations of the substance, and the fungi were exposed to a stable raphanin effect. The spores were placed on the medium by means of a sterile platinum loop.

The one week old colonies showed that raphanin exerted a damaging effect also on the growth of the dye-producing fungi. The raphanin concentrations from 1 in 50 to 1 in 200 displayed a complete inhibitory action.

Next, the action of raphanin on pigment production was examined. The test-tubes proved too small for these experiments, wherefore HEATLEY's² method was applied. The fungi were washed off the test-tube culture with physiologic salt solution, and the suspension of spores obtained in this way was disseminated upon malt plate (Wander's malt 4.0 g, pepton 1.0 g, Agar 1.8 g, dist. water up to 100 g). The fungi were kept in the dark.

The most interesting behaviour was exhibited by *Aspergillus niger*. In the cultures containing no raphanin growth set in the second day following the inoculation. On the 3rd day the whole colony is already snow-white. The colour is lemon-yellow on the 4th day, orange-

¹ GY. IVÁNOVICS, Ark. Kemi, Mineral. och Geol. 26, 6 (1948). – GY. IVÁNOVICS and I. HORVÁTH, Nature 160, 297 (1947); Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 66, 625 (1947). – GY. IVÁNOVICS and R. R. HYDE, Amer. J. Hyg. 23, 55 (1936).

² N. G. HEATLEY, Bioch. J. 38, 61 (1944).