

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).

yellow on the 5th day, light-brown on the 6th day, and chocolate-brown on the 7th day. On the 8th day the colony is black.

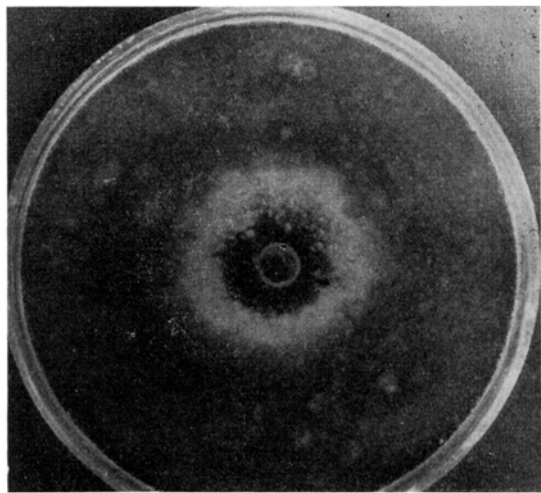


Fig. 1. – The Effect of Raphanin.

When the glass-cylinder placed in the centre of the plate was filled with raphanin after inoculation (1 in 100), the central part of the plate, measuring about 3 cm in diameter, was free of fungi as late as the 3rd day. Some days later a peripheral strip of the centre of about 0.5 cm width became white, in a sharp contrast to the brown centre, where no growth had taken place, and to the lemon-yellow outer circle (Fig. 1). At a time when the whole outer circle was white, this strip was free of mycelium (Fig. 2, a). When the outer circle was yellow, the strip was white (Fig. 2, b), when the outer circle was orange-yellow, the strip was lemon-yellow (Fig. 2, c). While the outer circle became light-brown, dark-brown, and black, the strip changed to orange-yellow, light-brown, and dark-brown, respectively (Fig. 2, d, e, f). The process took 8 to 10 days.

Whereas the pigment production of *Aspergillus niger* was, apart from the sluggish onset, nearly normal, its growth suffered an earlier and greater damage by raphanin.

Essentially, the other fungi-producing pigment display much the same behaviour under raphanin effect.

As to the dye substance, only a small part of the pigment-producing filamentary fungi have been investigated to date (KÖGL¹, BEZZSONOFF², BACHMANN³, ZOPF⁴, HETHERINGTON and RAISTRICK⁵, ZELLNER⁶, FISCHER⁷, and so on. Many authors found carotin in the pigment. CHAPMAN produced from the red *Torula* species a dye whose spectrogram resembled that of

carotin. BALÓ¹ mixed the culture medium with carrots with the result that the monilia cultivated in that medium produced mycelia. MOEWUS² has demonstrated that protocrocin, crocin, picrocrocin, and the dimethyl ester of cis-transcrocin are carotinoids which, having been produced in the monocellular fungus *Chlamydomonas eugametos*, influence the motions and copulation of the fungus. It is a well-known fact that *beta* carotinoid exercises, in the society of *alpha* carotinoid, an enhancing effect upon growth (EULER, KARRER, HELLSTRÖM and RYDBOM³, KUHN and BROCKMANN⁴, ROSENHEIM and STARLING⁵, etc.). Therefore we examined the effect of carotin on the growth of dye-producing fungi. To this end, carrots were applied and mixed with the medium. Carrots contain a carotin 96 per cent of which are *beta* carotinoids. Equal quantities of carrot juice and water were, before sterilization, mixed with the medium. On the surface of this medium *Aspergillus niger* displayed a more rapid growth and dye production, the changing colours appeared sooner and they followed each other at shorter periods. If carotin had been placed in the centre of the medium, only the centre was black at a time when the outer part containing no carotin was lemon-yellow.

If the oblique malt agar was mixed with carotin, the concentration of raphanin inhibiting the growth of the fungi was higher (1 in 50 to 1 in 30) than otherwise. Obviously, carotin is a substance counteracting the damaging action of raphanin. Probably, the effect of raphanin consists in paralysing the enzymatic functions by which the oxidations needed for growth and pigment production are influenced. This presumption has gained

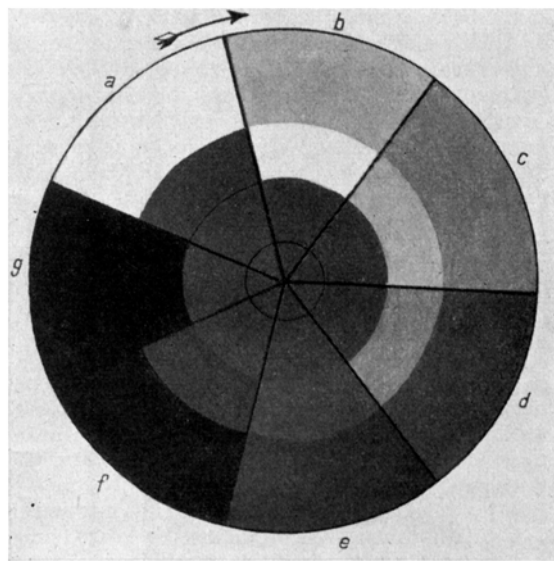


Fig. 2. – The culture of *Aspergillus niger* on one plate. The sectors correspond to various periods manifesting themselves in different colours produced, under the effect of raphanin escaping from the central glass tube in about 8 days (schematic drawing).

¹ F. KÖGL, *Handbuch der Pflanzenanalyse* (E. Klein), Bd. III/2, 1410 (1932).

² N. BEZZSONOFF, C.R. Acad. Sci. 159, 448 (1914).

³ E. BACHMANN, *Handbuch der Pflanzenanalyse* (G. Klein), cit. by F. Kögl, Bd. III/2, 1421 (1932).

⁴ W. ZOPF, *Handbuch der Pflanzenanalyse* (G. Klein), cit. by F. Kögl, Bd. III/2, l. c., p. 1421 (1932).

⁵ A. C. HETHERINGTON and H. RAISTRICK, Phil. Trans. Roy. Soc. London, Ser. B. 220, 209, 269 (1931).

⁶ I. ZELLNER, Monographia 36, 615 (1915); Sitzungsber. Kgl. Akad. Wiss. Wien, II, B. 126, 183 (1917).

⁷ H. FISCHER, Zeitschrift f. physiol. chem.-Hoppe-Seilers 146, 201 (1935).

¹ J. BALÓ, *Lehrbuch der pathol. Anatomie* 1, 111, 348 (1948).

² F. MOEWUS, Növényi vitaminok és hormonok, cit. by Rapaics R., 83 (1942).

³ P. KARRER, H. V. EULER, H. HELLSTRÖM, and M. RYDBOM, Svensk Kem. Tideskr. 43, 105 (1931).

⁴ R. KUHN and H. BROCKMANN, Ber. Dtsch. chem. Ges. 64, 1859 (1931); Z. Physiol. Ch. 200, 255 (1931); ebenda 206, 41 (1932).

⁵ O. ROSENHEIM and W. W. STARLING, J. Chem. and Ind. 50, 443 (1931).

support by the results of LAJOS¹, HORN, and SÁNDOR², who found that deficiency in vitamin A resulted in a disorder of the oxidations and assimilations of cells.

IVÁNOVICS is of the view that raphanin does, like other antibiotic substances, enter into a reaction with the SH-radix contained in the body of bacteria.

A. DÓSA

Medicolegal Department, University of Szeged, July 1, 1949.

Zusammenfassung

Raphanin vermag in einer passenden Konzentration (1:100–1:200) das Wachstum von farbstoffbildenden Fadenpilzen vollkommen zu verhindern. Ihr Widerstand gegen Raphanin ist ebenso groß wie der der Sproßpilze. Ihr Wachstum wird durch Raphanin früher und stärker geschädigt als ihre Fähigkeit, Farbstoff zu erzeugen. Unter der Einwirkung von Mohrrübensaft wachsen sie schneller, und ihre Farben werden früher aufgebaut. Auf einem karotinhaltigen Medium kommt die das Wachstum und die die Pigmenterzeugung schädigende Wirkung des Raphanins weniger zur Geltung als auf einem gewöhnlichen Nährboden.

¹ L. LAJOS, Orvostudományi beszámoló 9, 536 (1948).

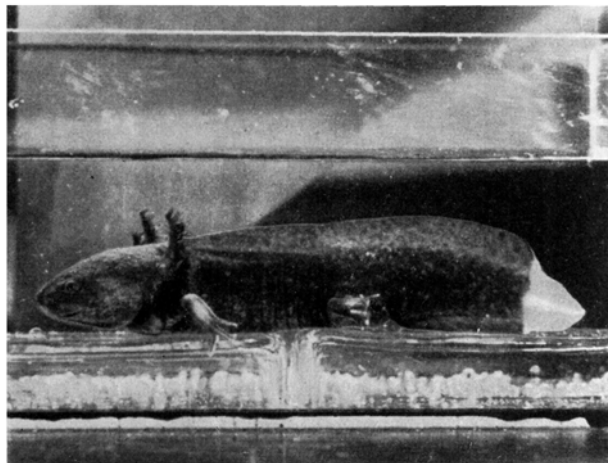
² Z. HORN and I. SÁNDOR, Orvostudományi beszámoló, cit. by Lajos László, 9, 536 (1948).

Action inhibitrice du thiouracil sur la mélanogénèse de la queue d'Axolotl en régénération

La thiourée et ses dérivés (thiouracil, méthyl- et propyl-thiouracil) sont employés aujourd'hui couramment pour le traitement des hyperthyroïses. Leur action pharmacologique et thérapeutique a été étudiée sous tous ses aspects; on connaît également leur influence sur différents systèmes enzymatiques, à laquelle on peut attribuer leur activité pharmacodynamique. Avant l'introduction du thiouracil dans la thérapeutique antithyroïdienne, DENNY a préconisé la thiourée comme agent inhibiteur du noircissement de différents tissus végétaux et en particulier des jus de fruits¹. Pendant la dernière guerre, la thiourée a parfois été utilisée en Suisse pour empêcher que la purée de pommes de terre crue, employée pour la panification, ne noircisse².

Les propriétés strumigènes de ces corps étaient inconnues chez nous à cette époque. Depuis, plusieurs auteurs ont démontré que le point d'impact des thiourées en tant que médicaments thyroïdo-inhibiteurs devait être localisé dans le système enzymatique de la glande thyroïde³. D'assez nombreux ferments furent soumis à l'action du thiouracil ou d'un de ses dérivés. Quelques-uns se sont montrés sensibles, mais c'est surtout le groupe des phénolases qui a retenu l'intérêt des différents chercheurs. Les mono- et polyphénoloxydases sont des ferments hydrosolubles très répandus dans les règnes végétal et animal; ils contribuent à la formation des pigments noirs ou mélanines. Ces ferments semblent particulièrement sensibles à l'effet de la thiourée et de

ses dérivés strumigènes¹. Un de ces dérivés, l' α -naphthylthiourée, plus connu sous le nom d'Antu, est une des substances les plus actives vis-à-vis de ce système fermentaire². L'action inhibitrice de la mélanogénèse peut aussi se manifester *in vivo*. C'est ainsi que RICHTER et CLISBY³ ont montré que l'ingestion prolongée de phénylthiourée déterminait chez des rats noirs une dépigmentation du pelage, observation confirmée depuis par DIEKE⁴. Nous avons pu constater un effet analogue du thiouracil chez l'Axolotl.



Axolotl ayant reçu pendant 8 semaines du thiouracil *per os*. Extrémité caudale régénérée et dépigmentée.

Voici comment nous avons procédé: Des axolotls noirs, âgés de 2 ans environ, sont anesthésiés dans de l'eau chloroformée. La pointe de la queue est raccourcie de 3 centimètres par un coup de bistouri vertical. Hémostase par coagulation thermique. Deux jours après l'opération, on institue le traitement par le thiouracil. Cinq axolotls reçoivent pendant 8 semaines, par la sonde gastrique, 0,5 g de thiouracil par kg (en suspension dans une solution de gomme adragante), tous les jours sauf les samedi et dimanche. Cinq autres axolotls opérés de la même façon servent de témoins; au lieu de thiouracil, ils reçoivent simplement la solution de gomme adragante. La vitesse de régénération et l'état de pigmentation de l'extrémité caudale sont notés toutes les semaines.

Dès la première semaine de traitement, on constate que le régénérat reste incolore chez les animaux traités par le thiouracil, tandis que celui des témoins prend assez vite une coloration quasi-normale. Au bout de 8 semaines de traitement, le régénérat des animaux témoins ne se distingue du reste du corps que par une nuance un peu moins foncée; les animaux ayant reçu du thiouracil par contre, ont l'extrémité caudale blanche (Figure).

Au microscope, on distingue les contours des cellules arboriformes étalées qui, chez l'animal normal, forment les mélanocytes. Ces cellules ne contiennent pas trace de mélanine. Cette absence de mélanine est d'ailleurs rapidement réversible. Dès le quatrième jour après la

¹ F.E. DENNY, Contribution of Boyce Thompson Institute 7, 55 (1935); *ib.* 12, 309 (1942).

² F. CHODAT et G. DUPARC, *Helv. chim. acta* 27, 1, 334 (1944).

³ E.B. ASTWOOD, *J. Pharmacol.* 78, 79 (1943). – R.W. RAWSON *c.s.*, *Endocrinology* 34, 245 (1944); *J. Clin. Endocrinology* 4, 201 (1944); *J. Amer. Med. Ass.* 127, 69 (1945). – K.E. PASCHKIS *c.s.*, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* 60, 148 (1945).

¹ F. BERNHEIM et M.L.C. BERNHEIM, *J. Biol. Chem.* 145, 213 (1942). – K.E. PASCHKIS *c.s.*, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* 57, 37 (1944). – C. DU CHALLOT, *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* 23, 945 (1947).

² K.P. DUBOIS et W.F. ERWAY, *J. Biol. Chem.* 165, 711 (1946).

³ C.P. RICHTER et K.H. CLISBY, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* 48, 684 (1941).

⁴ S.H. DIEKE, *Endocrinology* 40, 123 (1947).