

die Zusammensetzung $C_{42}H_{34}O_{16}$ oder $C_{40}H_{32}O_{15}$. Die bisher bekannten Eigenschaften lassen eine Einordnung in eine der bekannten Farbstoffklassen nicht zu. Der mögliche Zusammenhang des Arenicochroms mit dem Schwefelgehalt des Milieus, in welchem *Arenicola* lebt, wird betont. Die Beziehung zur Melaninfrage wird kurz diskutiert.

The Influence of Amino Acids on Growth and Lateral Root Formation in Cotyledon-less Pea Seedlings

It is a well known fact that the early development of most seedlings is controlled to a large extent by the material present in the cotyledons or the endosperm. Not only does this material provide a most important source of energy during a period when the young plant is capable of only a very limited photosynthesis, but it also influences, in a hitherto unexplained way, the differentiation of the seedling. One of the most striking effects of a removal of the cotyledons is the complete change which often occurs in the order and place of development of the lateral roots (RIPPEL¹). This phenomenon, which applies particularly to some leguminous plants, is analysed in the present study with pea seedlings as the test object.

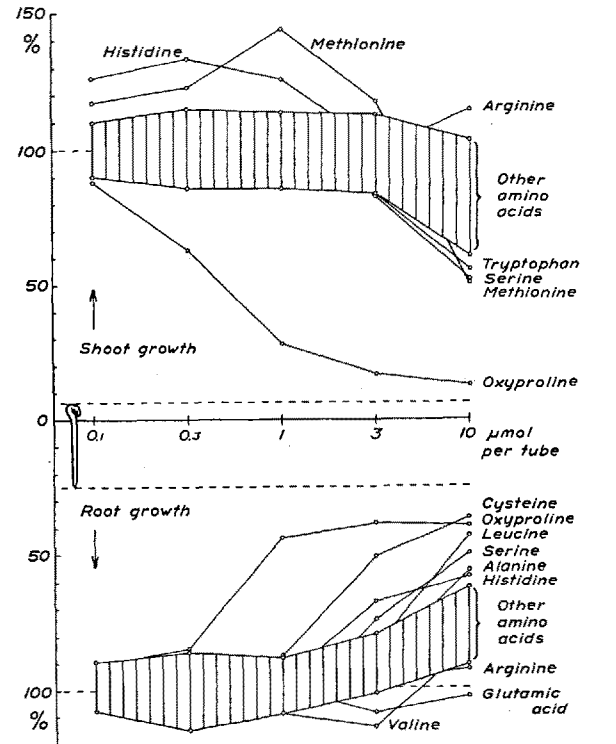
In normal pea seedlings, cultivated as described below, most if not all of the lateral roots develop in the upper half of the primary root, in cotyledon-less seedlings in the lower half. In the former case the "average insertion point" (A.I.P.) of the laterals is situated at circa 25% of the distance between the root-neck and the root-tip, while in the latter case this point is at 50–60% of the same distance. These values refer to seedlings with a primary root about 10 cm long, grown in sterile tube cultures, each containing 10 ml nutrient agar (with 2% sucrose) and continuously illuminated at +25°C.

A great part of the substance or substances responsible for the effect are easily washed out from the cotyledons by soaking the peas in sterile water during at least two days before germination. Seedlings developed from peas soaked in this way resemble the decotyledonized seedlings. On the other hand, by adding pea exudate or yeast extract to the culture medium of decotyledonized seedlings, these adopted an appearance more or less similar to that of normal seedlings. Thus, it seemed possible that the substance or substances producing the shift in A.I.P. of the lateral roots are capable of acting in much the same way when absorbed from the medium as when passing from the cotyledons down through the root.

Since amino acids as well as certain nucleic acid derivatives are known to occur in exudate from peas and roots of pea seedlings², it seemed justified to test the effect of such substances. In all these experiments each compound and concentration used comprised 6 (in some cases 5) cultures, and the incubation time was 15 days.

As can be seen in the figure, all amino acids, except glutamic acid and probably arginine, were more or less inhibitory to root growth in a concentration of 10 μ moles per 10 ml of nutrient medium, some of them in even lower concentrations. By far the most inhibiting was oxyproline, which reached its maximal effect slightly above 1 μ mole/tube. Valine alone seemed to produce a certain promotion of root growth in a concentration of 3 μ mole/tube.

The shoot was less sensitive to the amino acids added, except in the case of oxyproline, the inhibitory effect of which was obvious even in amounts below 0.3 μ mole/tube. Three amino acids, viz. histidine, methionine, and arginine, appeared to act favourably on shoot growth, although at different concentrations.



The effect of various concentrations of amino acids on increase in length of shoot and root of cotyledon-less pea seedlings during 15 days, expressed as per cent of control. Amino acids tested: *dl*-alanine, *l*-arginine, *l*-asparagine, *dl*-aspartic acid, *l*-citrulline, *dl*-cysteine, *l*-glutamic acid, glycine, *l*-histidine, *l*-isoleucine, *l*-leucine, *l*-lysine, *dl*-methionine, *l*-ornithine, *l*-oxyproline, *l*-phenylalanine, *l*-proline, *dl*-serine, *dl*-threonine, *l*-tryptophan, *l*-tyrosine, and *l*-valine.

Of the 22 amino acids tested only arginine influenced the formation of lateral roots in a way similar to that of the above mentioned extracts, 10 μ moles per culture causing a change in the A.I.P. value from 57% to 25% (see the table). Analogous, but weaker and more irregular effects were produced by valine, histidine, citrulline, and ornithine. No effect was obtained with yeast nucleic acid, adenine, guanine, hypoxanthine, uracil, urea, creatine, inositol, choline, ascorbic acid, thiamin, pyridoxin,

The effect of arginine and yeast extract on the "average insertion point" (A.I.P.) of the lateral roots in decotyledonized pea seedlings

Exptn. No.	Addition per culture (10 ml)	Relative length		A.I.P., % ($\pm$ standard error)
		Shoot	Root	
948	None	100	100	56.7 $\pm$ 2.5
	Arginine, 1 μ mole	106	101	60.6 $\pm$ 1.9
	Arginine, 3 μ mole	100	98	45.3 $\pm$ 3.3
	Arginine, 10 μ mole	115	93	25.4 $\pm$ 4.1
973	None	100	100	57.0 $\pm$ 2.7
	Yeast extract, 1 mg	86	99	56.7 $\pm$ 2.3
	Yeast extract, 1 mg	95	100	41.6 $\pm$ 3.4
	Yeast extract, 10 mg	104	99	23.9 $\pm$ 3.0

¹ K. RIPPEL, Ber. Dtsch. bot. Ges. 55, 288 (1937).
² N. FRIES and B. FORSMAN, Physiologia Plantarum 4, 410 (1951).

biotin, lactoflavin, nicotinic acid (and amide), pantothenic acid, or indoleacetic acid.

In contrast to the experiments of STEINBERG¹ with *Nicotiana*, no formative responses were obtained in the pea plant by any compound tested, except that of arginine on lateral root formation, and a slightly stimulative action on early leaf development by methionine.

The oxyproline-inhibition could be partially overcome by an addition of proline, and almost completely by an addition of yeast extract. Other similar antagonisms between amino acids were also noted, forming interesting parallels to phenomena earlier found in microorganisms.

A more detailed report of the results will be published elsewhere. NILS FRIES

Institute of Physiological Botany, University of Uppsala, Uppsala, Sweden, June 28, 1951.

Zusammenfassung

Es wurde die Einwirkung von 22 Aminosäuren in verschiedenen Konzentrationen auf Wachstum und Entwicklung junger, in steriler Agar-Kultur gezüchteter Erbsenkeimlinge studiert. In höheren Konzentrationen ($\geq 10 \mu\text{Mol}$ je Kultur) wirkten die meisten Aminosäuren hemmend auf das Wachstum, was sich besonders an der Wurzel zeigte. Eine Sonderstellung nahm dabei Oxyprolin ein, das schon bei einer Konzentration von etwa $0,3 \mu\text{Mol}$ je Kultur eine deutliche Hemmung verursachte. Diese wurde nur teilweise durch Prolin aufgehoben. Die durch Entfernung der Kotyledonen bedingte akropetale Verschiebung des «durchschnittlichen Insertionspunktes» (= AIP) der Seitenwurzeln konnte durch Hefeextrakt oder Arginin gewissermaßen rückgängig gemacht werden.

¹ R. A. STEINBERG, J. Agr. Res. 75, 81 (1947).

Hemmung der Adenosintriphosphatase durch Colchicin

In Fortsetzung unserer Untersuchungen über den Einfluß von Colchicin auf Fermente des Nukleostoffwechsels¹ haben wir unter anderem auch die Frage geprüft, ob die ATPase durch Colchicin gehemmt werde. Dies erschien um so dringender, als einmal von uns im Zellkern eine beträchtliche ATPase-Aktivität nachgewiesen worden ist² und andererseits die Kontraktion der Teilungsspindel von verschiedener Seite (Literatursiehe³) mit der Muskelkontraktion in Analogie gesetzt wurde, womit die Wirksamkeit des ATP-ATPase-Systems auch für die Teilungsspindel postuliert wurde. Da ATP-Zusatz die Wirkung des klassischen Spindelgiftes Colchicin in der Gewebekultur aufhebt³, und da pflanzliche Herzgifte sowohl den Colchicineffekt zu unterdrücken⁴ als auch eine ATPase-Aktivierung auszulösen vermögen⁵, hat LETTRÉ auf eine wesentliche Beteiligung des ATP-Umsatzes an der Zellteilung und auf einen Eingriff von Colchicin in den ATP-Stoffwechsel geschlossen. Untersuchungen über den Einfluß von Colchicin auf den ATP-Umsatz im biochemisch definierten System liegen aber bisher noch nicht vor.

¹ K. LANG, G. SIEBERT und H. OSWALD, Exper. 5, 449 (1949).

² K. LANG und G. SIEBERT, Biochem. Z. (im Druck).

³ H. LETTRÉ, Erg. Physiol. 46, 379 (1950).

⁴ C. LANDSCHÜTZ, Naturwiss. 36, 379 (1949).

⁵ R. HEGGLIN, H. GRAUER und R. MÜNCINGER, Exper. 5, 127 (1949).

Im folgenden soll kurz über Versuche berichtet werden, in denen der Einfluß von Colchicin auf die fermentative ATP-Spaltung untersucht wurde. Als Fermentquelle diente ein Myosinpräparat aus Kaninchen- oder Hundemuskel¹. Der Versuchsansatz wurde mit $0,1 \text{ m}$ Veronal pH 7,4 gepuffert und enthielt 10^{-3} m Ca^{++} . Nach 0, 5 und 10 Minuten wurde jeweils die Reaktion durch Trichloressigsäure unterbrochen und eine kolorimetrische Phosphatbestimmung nach LOHMANN und JENDRASSIK durchgeführt². Das in den Ansätzen vorhandene Colchicin wird von der entstehenden Phosphomolybdänsäure gefällt, ergibt Trübungen und adsorbiert Molybdänblau, so daß eine direkte kolorimetrische Bestimmung von Phosphat bei Colchicingegenwart unmöglich ist. Wir isolierten daher entweder das entstandene anorganische Phosphat als Magnesiumammoniumphosphat nach LOHMANN³ und brachten dieses zur Analyse oder schüttelten das entstandene Molybdänblau mit Isobutanol-Äthanol nach ALLEN⁴ aus, was einfacher ist. Kontrollversuche mit Zusätzen von anorganischem Phosphat zeigten, daß bei beiden Verfahren kein Verlust an Phosphat gegenüber der direkten kolorimetrischen Bestimmung eintritt.

In relativ hohen Konzentrationen hemmt Colchicin die ATPase deutlich, und zwar bei $1 \cdot 10^{-3} \text{ m}$ Endkonzentration maximal um 40 %, bei $1 \cdot 10^{-4} \text{ m}$ um rund ein Viertel, während bei geringeren Colchicinmengen keine Beeinflussung mehr erfolgt. Erhöhung der Colchicinkonzentration hat keine Zunahme der Hemmung zur Folge. Die nachfolgende Tabelle gibt die Mittelwerte aus jeweils 8 Versuchen (10^{-3} m bis 10^{-4} m) bzw. 4 Versuchen (10^{-5} m bis 10^{-6} m) wieder:

Zunahme an anorganischem Phosphat in γ ; 1 cm^3 Myosinlösung, 3 mg ATP, 10^{-3} m Ca^{++} , $0,1 \text{ m}$ Veronal pH 7,4

	nach 5 min	nach 10 min	prozentuale Hemmung	
			n. 5 min	n. 10 min
Kontrolle	20	31	—	—
$1 \cdot 10^{-3} \text{ m}$ Colchicin	12	21	40	32
$1 \cdot 10^{-4} \text{ m}$ Colchicin	14	24	30	22
$1 \cdot 10^{-5} \text{ m}$ Colchicin	17	29	nicht signifikant	
$1 \cdot 10^{-6} \text{ m}$ Colchicin	19	35	0	0
$1 \cdot 10^{-7} \text{ m}$ Colchicin	22	33	0	0
$1 \cdot 10^{-8} \text{ m}$ Colchicin	21	30	0	0

Die typische Mitosegiftwirkung entfaltet Colchicin nach den Angaben von LETTRÉ bei einer Konzentration von $0,016 \gamma/\text{cm}^3$, das sind $4 \cdot 10^{-8} \text{ m}$; bei dieser Menge tritt nach unseren Versuchen mit Sicherheit keine Hemmung des ATP-Abbaues mehr ein. Die Experimente sagen daher zwar nichts Positives aus über die Rolle von Colchicin bei der Hemmung der Zellteilung, zeigen aber, daß Beziehungen zwischen der Colchicinwirkung und der Spindelkontraktion auf der Basis der Gewinnung von Kontraktionsenergie aus ATP-Spaltung nicht bestehen.

Der Firma Hoffmann-La Roche AG., Basel, sind wir für die liebenswürdige Überlassung von Colchicin zu großem Dank verpflichtet.

K. LANG, G. SIEBERT und W. ESTELMANN

Physiologisch-chemisches Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, den 1. Juli 1951.

¹ ATP wurde uns in dankenswerter Weise von den Zellstoffwerken Waldhof zur Verfügung gestellt.

² K. LOHMANN und L. JENDRASSIK, Biochem. Z. 178, 419 (1926).

³ K. LOHMANN, Biochem. Z. 194, 306 (1928).

⁴ R. J. L. ALLEN, Biochem. J. 34, 858 (1940).