

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 Nucleotidstoffwechsels¹ 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. MÜNCHINGER, 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 Colchicinegenwart 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^{-8} 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).

Summary

The ATPase activity is inhibited by Colchicin in concentrations of 10^{-3} m and 10^{-4} m at a rate of 40 to 20%, but in no way in the range of 10^{-7} m and 10^{-8} m, where Colchicin exerts its typical spindle-blocking action on the mitotic cell division. It is therefore no evidence, that Colchicin acts by influence on the energy yielding ATP-ATPase system, which was proposed to be responsible for the spindle contraction.

Heparinocytes and Hibernation

The most characteristic feature of the physiology of hibernation is the change of a mammal within certain limits from homoiothermy to poikilothermy (cf. for instance SUOMALAINEN¹). Thus for instance the body temperature of the hedgehog in hibernation may fall to about 2°C. When the animal wakes out of hibernation, its body temperature rises in some hours from 2–5°C again to 30–35°C and the animal returns to homoiothermy.

Because of the low body temperature the metabolism of the animal is greatly reduced during hibernation. This appears in such phenomena as retardation of the heart rate (SUOMALAINEN and SARAJAS²). In the summer the heart of the hedgehog beats about 190 times per minute, during hibernation only about 20 times per minute. Since no thrombi occur in the circulatory system in spite of the reduced heart function, and blood circulation occurs without disturbance, there seemed to be reason to investigate to what extent changes appear during hibernation in the number and histologically observable heparin content of the heparin-secreting heparinocytes or Ehrlich's mast cells.

The fixation of the tissues was made with a modification of Holmgren and Wilander's method³. With the use of Holmgren and Wilander's basic lead acetate, harmful crystals may appear in the preparations. They are not formed if formalin and alcohol are added to the fixative. At the same time the general fixability and stainability are improved.

Relative heparinocyte content of the small intestine and bronchial branches in the hedgehog. Each figure represents the mean of a hundred unit areas used in the investigation.

	Normal hedgehog	Hibernating hedgehog	Woken from hibernation
Small intestine	4.3	24.3	14.1
	5.9	18.2	7.9
	4.2	11.9	—
	4.8	18.1	11.0
Bronchial branches	27.0	75.5	69.7
	39.2	70.2	74.5
	25.4	92.3	—
	30.5	79.3	72.1

The quantitative determination of heparinocytes was made by counting their number in the visual field of a

¹ P. SUOMALAINEN, Sitz.-Ber. Finn. Akad. Wiss. 1943, 163 (1944).

² P. SUOMALAINEN and S. SARAJAS, Ann. Zool. Soc. "Vanamo" 14, 2 (1951).

³ H.J. HOLMGREN and O. WILANDER, Z. mikr.-anat. Forsch. 42, 242 (1937).

microscope at $\times 450$ magnification. From each preparation, 100 visual fields were chosen entirely at random. In these the number of heparinocytes was counted within the frame of the limits of depth of the fine adjustment. To facilitate counting, the visual field was divided into squares with the aid of a grid.

Heparinocytes are numerous in the small intestine and lungs round the bronchial branches in the hedgehog.

Their number is increased during hibernation, but is also large in animals just woken from hibernation (table).

Judging from the increase in the number of heparinocytes and their histological appearance, heparin secretion is greater than normal in hibernation, when the heart rate in the hedgehog is greatly reduced. Actual physiological determinations of the coagulation time of the blood of the hedgehog in hibernation are still incomplete.

A full report of this work will appear elsewhere.

PAAVO SUOMALAINEN and RAIJA HÄRMA

Zoological Laboratory, Helsinki University, Helsinki, Finland, April 14, 1951.

Zusammenfassung

Trotz der stark herabgesetzten Schlagfrequenz des Herzens stellen sich beim winterschlafenden Igel keine Thromben ein. Die Menge der Heparinozyten oder Ehrlichschen Mastzellen ist denn auch beim Igel während des Winterschlafs erhöht. Daraus, und aus dem histologischen Bild dieser Zellen, kann geschlossen werden, daß die Heparinsekretion im Winterschlaf zugenommen hat.

Study on the Growth of the Erythroblast in Normal and Bone-Marrow Erythroblastosis Conditions

During the last few years our knowledge of the biology of the bone-marrow cells has been considerably widened with particular regard to their differentiation and proliferation. However there is still a complete lack of information about the growth of the bone-marrow cells during the interkinetic period. The lack of information on this subject is due to the impossibility of studying directly the development of the living cell, by measuring at suitable intervals of time the increase in size which is of biometric interest.

We thought it might be interesting to collect some indirect data on the cytoplasmic growth through the observation of fixed and stained films. As it was not possible to relate the cytoplasmic growth to time, we studied the growth of the cytoplasm with respect to the nucleus, the latter being considered as a function of time. In other words, the aim was to investigate the extent to which the cytoplasmic diameter increased when the nuclear diameter increased a specified amount.

The evaluation of the growth of the cytoplasm with respect to the nucleus was made by the slope (a) of the interpolating line of the cytoplasmic diameter with respect to the nuclear one.

In this study another value was also considered, i. e. the correlation coefficient of nucleocytoplasmic diameters (r).

By "cytoplasmic diameter" we mean the cubic root of the difference between cellular diameter and nuclear diameter, both cubed.

We made our researches on the basophil erythroblast including also proerythroblast—because the basophil