

Conclusion: (1) The addition of S.S.S. to the culture media can restore the virulent character of strains of pneumococcus III which have long ago lost their pathogenetic power.

(2) The addition of polygalacturonate of Ca to nutrient agar, with or without addition of serum or ascitic fluid, gives an excellent medium of culture for the pneumococcus, which increases there luxuriantly in "S" form, capsulated and virulent.

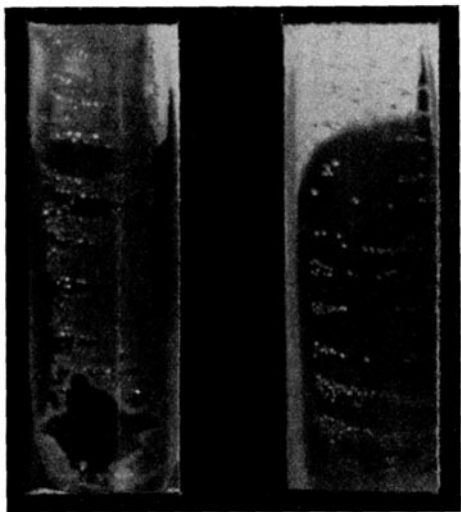


Fig. 2.—Culture of pneumococcus III on polygalacturonate-agar (on the left) compared with normal culture on serum-agar.

(3) The injection of polygalacturonate into mice infected by pneumococcus III, increased its pathogenic power, while it did not produce evident toxic effects in normal mice.

(4) The growth of pneumococcus III on polygalacturonate-agar may show a modification of transparency of the medium, presumably in relation to phenomena of oxydative nature.

(5) The addition of ascorbic acid to the polygalacturonate-agar appears primarily to facilitate, and then to inhibit the development of elements with capsular metachromasia.

A. NOVELLI

Department of General Pathology and Bacteriology,
University of Genoa, November 15, 1951.

Zusammenfassung

Durch Züchtung nicht-pathogener Pneumokokkenstämme in Gegenwart von spezifischen Polysacchariden wurden diese für weisse Mäuse virulent. Ein besonders günstiges Medium für die Entwicklung von Pneumokokken wurde bei der Prüfung von Pektinstoffen auf Nährböden gefunden, wenn man nämlich den gewöhnlichen Agarkulturröhrchen 2 cm³ einer kolloidalen Lösung von 6prozentigem Polygalakturonat des Ca zusetzte. Auf diesem Nährboden entwickeln sich die Pneumokokken (III) in reichem Masse, sowohl in eingekapselter wie auch in virulenter Form.

Amino Acid Requirements for Growth of the Honeybee (*Apis mellifica* L.)¹

In a previous communication² it was shown that a normal growth of the young worker honeybee, determined by the estimation of dry weight and nitrogen content, could be obtained on a semi-synthetic diet of sucrose and casein at a temperature of 30°C. The natural diet of sucrose and bee bread (pollen) was used for comparison. Now we have obtained this growth of the newly emerged imago on a totally synthetic diet. The casein of the former investigation being replaced by a mixture of 17 amino acids, based on the composition of casein³. The dicarboxylic acids of casein, i.e. glutamic- and aspartic acid, were omitted from the mixture after it had been shown that a casein hydrolysate from which these amino acids had been quantitatively removed with the ion exchange resin Amberlite I.R. 4B, could replace the casein. (A full account of these findings will be published elsewhere.) From the amino acid mixture each component was omitted in turn and the dry weight and nitrogen content of the bees was determined at 7 days intervals. In this way we were able to investigate the significance of each of the amino acids for the protein anabolism of the young honeybee.

Material and methods.—In September–November 1951 young bees were caught from a comb with sealed brood which was placed in an incubator at $\pm 33^\circ\text{C}$. The newly emerged bees were taken at intervals of 8 hours and transmitted into Liebefelder experimental cages. These little cages, with 50 bees in each, were kept at 30°C and constantly supplied with water and with the experimental diet. The latter consisted of sucrose, tap water and mixtures of 17 or 16 pure amino acids (Hoffmann-La Roche⁴) in the same relative amounts as in casein. *l*-Amino acids were used, except methionine, threonine and serine, the latter being only available in the *dl*-form. No vitamins were added to the diet. The amino acids were fed at such a level that the normal nitrogen content of an adult bee could be obtained in about 14 days. This occurs if the amino acid mixture amounts to 2.5% of the dry sugar. The amino-acids are added to the sugar-water mixture (4:1) and the whole is heated for some minutes to dissolve the sugar. After cooling the mixture is stirred with a glass rod. In this way a very finely crystallised sugar candy is obtained in which the amino acids are dissolved or divided homogeneously.

Dry weights and nitrogen contents were determined of newly emerged bees, and of bees after having been fed for 7 and 14 days on the experimental diets. For each determination a sample of 5 bees was used, after removing the digestive tract, with honey stomach and excretory organs included.

The dry weight was determined by keeping the samples for 3 days in an incubator at 80°C. Nitrogen determinations were performed according to KJELDAHL, with sulphuric acid, potassium sulphate and selenium mixture (WIENINGER) for destruction, and 0.1 *N* solutions of sulphuric acid and sodium hydroxyde for titration. For further details see ⁵ and ⁶.

¹ 54th Communication of the "Werkgemeinschaft voor Veeteeltkundige Onderzoekingen" part of the "National Council for Agricultural Research, T.N.O."

² A. P. DE GROOT, Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. 53, 560 (1950).

³ R. J. BLOCK and D. BOLLING, *The amino acid composition of proteins and foods*, 2nd Ed. (Springfield, 1951), p. 490.

⁴ Our thanks are due to F. Hoffmann-La Roche and Co. for their kindness in supplying the amino acids.

⁵ A. P. DE GROOT, Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. 53, 560 (1950).

⁶ A. P. DE GROOT and J. C. A. MIGHORST, Chem. Weekbl. 47, 219 (1951).

Results and discussion. The data of the dry weights and nitrogen determinations are plotted against time in the figures 1 and 2. Each point of these graphs is the average of 4 or 5 samples of 5 bees. The amino acid omitted is mentioned next to the curve belonging to the corresponding diet. The curve marked with "complete" shows the increase on a diet with 17 amino acids i.e. those of casein except glutamic and aspartic acid.

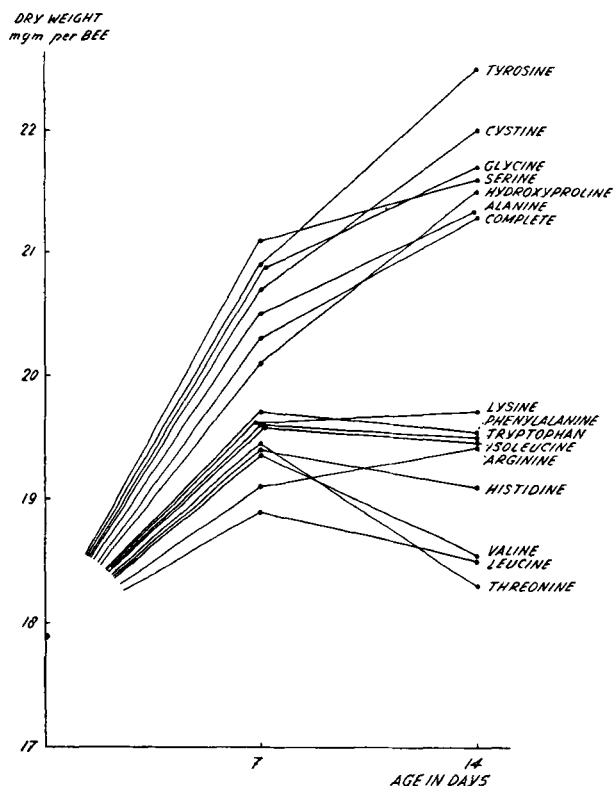


Fig. 1.—Increase in dry weight of young honeybees on diets in which the amino acid mentioned near each curve had been omitted. Determinations on whole bees without digestive tracts.

Both of the graphs show two clearly separated groups of curves. The increase of the lower group after 14 days being about 5%, that of the upper group about 20% of the original value of newly emerged bees. The difference between both groups is most marked in their course between the 7th and the 14th day. In this period the increase in dry weight and nitrogen content is nearly absent in the lower group, whereas in the upper group a steep rise occurs. Since in the adult bee under natural conditions the dry weight and nitrogen content amounts to 21–23 mg and 2.5–2.7 mg respectively, it may be noted from the graphs that on the experimental diets of the upper group the normal values may be attained.

From these findings it may be concluded that the lower group of curves includes the diets deficient in an essential amino acid, whereas in the upper group amino acids are lacking which are dispensable to the honeybee imago.

Summarizing these results it may be stated that the following amino acids are essential for the growth of the young worker honeybee: arginine, histidine, lysine, phenylalanine, tryptophan, leucine, isoleucine, threonine and valine. Dispensable amino acids are: glycine, alanine, serine, cystine, tyrosine, hydroxyproline, glutamic acid and aspartic acid. The significance of methionine and proline could not yet be estimated with certainty

since the curves concerned showed a somewhat intermediary course. It seems, however, that methionine is essential and proline is not. The position of these amino acids will therefore be further investigated¹.

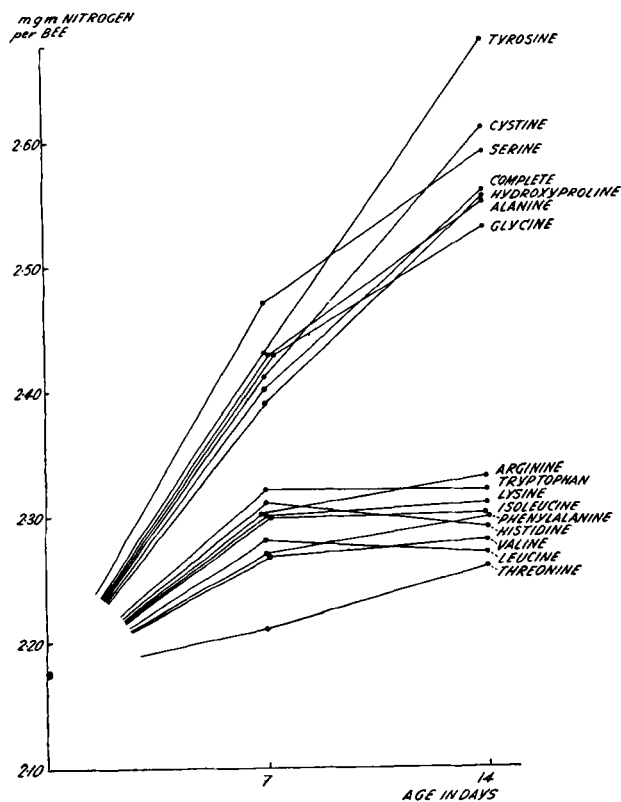


Fig. 2.—Increase in nitrogen content on diets lacking in one amino acid.

It is interesting to note the close resemblance in the amino acid requirements of the imago honeybee with those of the higher animals, especially the rat. So far as has been investigated up to now, there is no difference in the requirements of the growing rat² and the growing honeybee. However, some marked deviations occur in the needs of *Aedes aegypti*³. This insect, which has so far been the most extensively investigated, needs glycine for larval growth, whereas for the growth of the honeybee imago glycine is dispensable. On the other hand phenylalanine is essential for the honeybee, but seems to be replaceable by tyrosine in this mosquito.

In the present investigation the natural *l*-amino acids have been used except for the racemic mixtures already mentioned. In further experiments it will be investigated how far the *d*-amino acids can replace the natural *l*-forms.

Acknowledgment: The author is indebted to Prof. S. DIJKGRAAF for the facilities provided in his laboratory. Thanks are also due to Dr. C. G. J. M. ENGEL for frequent help and advice and for the correction of this manuscript, and to Miss L. BOWEY, London, for the correction of the English text.

A. P. DE GROOT

Laboratory of Comparative Physiology, University of Utrecht, January 3, 1952.

¹ While the manuscript was in press the essential nature of methionine could be established, whereas proline turned out to be non-essential.

² W. C. ROSE, *Physiol. Rev.* 18, 109 (1938).

³ L. GOLDBERG and B. DE MEILLON, *Biochem. J.* 43, 379 (1948).

Zusammenfassung

Zur Aufklärung des Bedarfs an Aminosäuren frisch geschlüpfter Jungbienen wurde die Zunahme ihres Trockengewichtes und Stickstoffgehalts bestimmt, bei Verfütterung von Diäten, welche anstatt Eiweiss ein Gemisch aus 17 Aminosäuren enthielten. Durch wechselweises Fortlassen je einer der 17 Aminosäuren konnte gezeigt werden, dass für gutes Wachstum die folgenden Aminosäuren notwendig sind: Arginin, Histidin, Lysin, Phenylalanin, Tryptophan, Leuzin, Isoleuzin, Methionin, Threonin und Valin. Nicht notwendig waren: Glykokoll, Alanin, Serin, Zystin, Tyrosin, Prolin, Oxyprolin, Glutaminsäure und Asparaginsäure.

Die Entstehung sterischer Nachbilder

Bekanntlich lassen sich durch längere beidäugige Fixation entsprechend heller körperlicher Objekte sterisch erscheinende Nachbilder gewinnen. Diese Art der Nachbilder ist insofern eine besondere, als hiebei das funktionelle Zusammenwirken beider Netzhäute im Sinne von Einfachsehen Voraussetzung ist, wobei dasselbe durch die binokulare Parallaxe des gebotenen körperlichen Objektes mit einer besonderen Qualität der Empfindung bzw. Wahrnehmung verknüpft ist, nämlich der nach der Tiefe.

Wie für das beidäugige Einfachsehen, liegen auch für das körperliche Sehen besondere zentral-nervöse Bedingungen vor: Die beiderseitigen Optikusleitungen, welche die Netzhauterregungen von Orten abführen, die im Sinne von Einfachsehen, beziehungsweise Tiefsehen gekoppelt sind, laufen in der Sehrinde einer Hemisphäre zusammen, wobei es zwischen diesen Leitungen keine subkortikalen Verbindungen gibt. Hinzu kommt noch, dass es eine fixe Zuordnung der Rezeptoreinheiten der beiderseitigen Retinae im Sinne von Korrespondenz (Plansehen), beziehungsweise binokularer Parallaxe oder Querdissipation (Stereosehen) nicht geben kann. Dies beweist die Feinheit der stereoskopischen Unterschiedsempfindlichkeit einerseits, die Grössenordnung der während Fixation bestehenden Lageänderungen der Augen (sogenannten Fixationsschwankungen) andererseits. Während erstere einen Wert von 5 Winkelsekunden erreicht, beträgt letztere 4 bis 6 Winkelminuten. Hieraus ergibt sich, dass die Auswertung der binokularen Parallaxe bei feinen Objekten nicht auf Grund der Bilderzeugung auf der lichtempfindlichen Schicht erfolgen kann, sondern nur auf Grund bestimmter nervöser Impulsmuster, welche sowohl retinal wie erst zerebral entstehen können.

In Anbetracht dieser Verhältnisse ist die Frage der Entstehung sterischer Nachbilder von grundsätzlicher Bedeutung. In Betracht kommt eine retinale sowie eine zentral-nervöse, also kortikale Genese. Die Frage kann experimentell entschieden werden, da ja nach Gewinnung eines entsprechend hellen sterischen Nachbildes ein Auge reversibel ein- und ausgeschaltet werden kann, und zwar durch Steigerung des Innendruckes.

Methodik: Die sterischen Nachbilder wurden gewonnen durch freizügige Vereinigung stereoskopischer Halbbilder eines Pyramidenstumpfes, deren Konturen in Leuchtlinien entsprechend der Helligkeit dargestellt waren. Bei diesem Vorgehen sind neben dem körperlich erscheinenden Sammelbild zwei plane Doppelbilder sichtbar, welche den subjektiven Vergleich zwischen den sterischen und nichtsterischen Nachbildern erleichtern. Die Beobachtung erfolgte im Dunkelraum, die temporäre Ausschaltung eines Auges durch fortschreitend star-

ken Fingerdruck. Die Versuche wurden an zwei VPn durchgeführt.

Ergebnisse: Aus den Versuchsreihen seien nur folgende Versuchsprotokolle angeführt:

Gute Nachbilder. Sterischer Eindruck des zentral gelegenen Nachbildes; links und rechts davon undeutliche, schwache und immer nur für kurze Zeit erscheinende Nachbilder der Doppelbilder. Alle Nachbilder nur deutlich bei offenen Augen. Auf Abdrücken des rechten Bulbus verschwindet der sterische Eindruck und es erscheint das plane Nachbild des linken Auges. — Neuerliche Fixation des binokularen Sammelbildes. Abdrücken links: sterischer Eindruck verschwindet, planes Nachbild des rechten Auges. Nach Freigabe Wiederkehr des sterischen Nachbildes.

Gute Nachbilder. Abdrücken rechts: sterischer Eindruck verschwindet, Nachbild des linken Bildes der Vorlage und des rechten Doppelbildes (i.e. Nachbilder des linken Auges). Nach Freigabe Wiederkehr des sterischen Eindruckes. Abdrücken links: Verschwinden des sterischen Eindruckes, Nachbild des rechten Bildes der Vorlage und deutliches Nachbild des linken Doppelbildes (Nachbilder des rechten Auges). Die Nachbilder der Doppelbilder sind im Vergleich zu dem des binokularen Sammelbildes vor dem Abdrücken immer flüchtiger — jeweils nur für Bruchteile von Sekunden sichtbar — und undeutlicher. Kurze Zeit nach Beginn des Abdrückens erscheinen sie in den meisten Fällen viel deutlicher als vorher und bleiben länger bestehen; manchmal erreichen sie fast die Helligkeit des binokularen Sammelbildes.

Zusammenfassend ergibt sich eindeutig, dass bei temporärer Erblindung eines Auges mit dem Schwinden des diesem zugehörigen Nachbildes auch der sterische Charakter des binokularen Sammelbildes erlischt, der mit Wiederkehr der Funktion des ausgeschalteten Auges wieder deutlich hervortritt. Die sterischen Nachbilder sind also peripheren, das heisst retinalen Ursprungs.

F. X. WOHLZOGEN

Physiologisches Institut der Universität Wien, den 22. Dezember 1950.

Summary

The behaviour of stereoscopic after-images was studied under conditions of temporary blindness of one eye (effected by artificially raising the intraocular pressure).

From these experiments it became evident that temporary blindness of one eye, and consequent disappearance of the respective after-image, also resulted in the cessation of the stereoscopic character of the binocular combination-image which, however, reappeared on release of the pressure and consequent return of the function of the temporarily eliminated eye. Therefore, the origin of stereoscopic after-images is a peripheral, i.e. retinal, one.

L'influence des hormones cortico-surréaliennes sur la régénération de l'épithélium cornéen du lapin; les problèmes statistiques que posent ces expériences

Plusieurs auteurs (RAGAN et collaborateurs¹, TAUBENHAUS et AMROMIN², CREDITOR et collaborateurs³, BAKER

¹ C. RAGAN, E. L. HOWES, C. M. PLOTZ, K. MEYER et J. W. BLUNT, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 72, 718 (1949).

² D. TAUBENHAUS et G. D. AMROMIN, Endocrinology 44, 359 (1949).

³ M. C. CREDITOR, M. BEVANS, W. L. MUNDY et C. RAGAN, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 74, 245 (1950).