

kurzfristigen Versuchsdauer noch offen, ob die Wirkung über den Energiestoffwechsel der *Acetabularienzelle*⁹ geht, wie es in Dunkelheit¹, 2,4-Dinitrophenol² und Monojodessigsäure³ der Fall ist – unter diesen Bedingungen erfolgt ebenfalls Wuchshemmung und Nukleolenreduktion – oder über eine mehr oder weniger direkte Blockierung der Proteinsynthese, wie sie für Co angegeben worden ist.¹⁰

G. WERZ

Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Wilhelms-
haven, den 27. Februar 1957.

Summary

The effect of Cobalt-II-nitrate was tested on the marine green alga *Acetabularia*. Application of Co immediately stopped regeneration as well as synthesis of cytoplasmic proteins. Later on a decrease of the protein contents was observed. Without affecting the size of the nucleus, Co caused a reduction of the nucleolar size and shape within 4 days. By histochemical methods, Co was found to be stored in the nucleus and nucleolus. However, it is not clear whether the Co was already bound *in vivo*. Size and distribution of the polyphosphate bodies were not changed within 6 days. No storage of Co *in vivo* could be observed within the polyphosphates.

⁹ J. HÄMMERLING, *Vortrag Internat. Genetic. Symposia* (Tokio 1954). – J. HÄMMERLING und H. STICH, *Z. Naturforsch.* 11b, 162 (1956).

¹⁰ H. B. LEVY, E. T. SKUTCH und A. L. SCHADE, *Arch. Biochem.* 24, 198 (1949). – J. C. HEATH, *Exp. Cell Res.* 6, 311 (1954). – J. S. ROTH, *Exp. Cell. Res.* 10, 146 (1956).

Über die Umwandlung von markiertem Glykokoll durch *Fusarium lycopersici*

Zahlreiche Untersuchungen mit verschiedenartig markiertem Glykokoll haben gezeigt, dass diese Aminosäure vom pflanzlichen und tierischen Körper in mannigfaltiger Weise umgewandelt wird¹. Neben Purinen, Porphyrinen und anderen entstehen dabei verschiedene Aminosäuren. Die Hefe *Torulopsis utilis* (Henneb.) Lodd. bildet aus carboxylmarkiertem Glykokoll vor allem markiertes Serin und Prolin und nur geringe Mengen von Asparaginsäure, Glutaminsäure und Lysin². In ähnlicher Weise erhielt man mit Leberhomogenisaten aus methylenmarkiertem Glykokoll vor allem markiertes Serin und nur geringe Mengen von Asparaginsäure, Glutaminsäure und Arginin³. GREENBERG und WINNICK⁴ fütterten Ratten mit carboxylmarkiertem Glykokoll und fanden die Hauptmenge der Radioaktivität der Proteinhydrolysate wiederum im Glykokoll und wesentlich geringere Anteile in Asparaginsäure, Glutaminsäure und Arginin; Serin, Prolin und Tyrosin waren inaktiv. In diesen Versuchen entwichen während der ersten

18 Stunden rund 50% des radioaktiven Kohlenstoffes mit dem Kohlendioxyd. Das Bakterium *Diplococcus glycinophilus* Cd. et B. bildet aus carboxylmarkiertem Glykokoll viel, aus methylenmarkiertem dagegen nur wenig radioaktives Kohlendioxyd⁵.

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Biosynthese des Welketoxins Fusarinsäure⁶ verfolgten wir die Umwandlung von Glykokoll durch den Pilz *Fusarium lycopersici* Sacc., den Erreger einer Welkekrankheit der Tomatenpflanzen. Wir verwendeten dazu in der Methylengruppe mit C¹⁴ markiertes Glykokoll (Radiochemical Centre, Amersham, Bucks., England) mit einer spezifischen Aktivität von 14,9 μ C/mg, das je

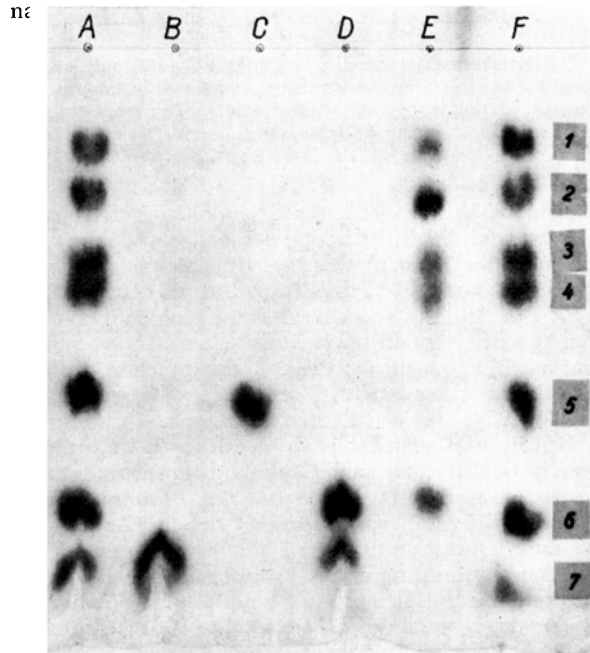


Abb. 1. Papierchromatogramm des Proteinhydrolysats von *Fusarium lycopersici* (Phenol-Wasser-Ammoniak). A alle Aminosäuren gemischt; B Valin; C Alanin; D Leucin + Valin; E Proteinhydrolysat; F Proteinhydrolysat, stärker konzentriert. 1 Asparaginsäure; 2 Glutaminsäure; 3 Serin; 4 Glykokoll; 5 Alanin, nicht radioaktiv; 6 Leucin; 7 Valin.

Versuchsanordnung. Zu wachsenden Kulturen von *Fusarium lycopersici* (Stamm ETH 4406) gaben wir 1 mg markiertes Glykokoll pro Gramm Myzelgewicht. Das in den folgenden 24 h gebildete Kohlendioxyd wurde aufgefangen und seine Radioaktivität nach Überführung in Bariumcarbonat bestimmt⁶. Die Hydrolyse des mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschenen und durch Extraktion mit einem siedenden Alkohol-Äther-Gemisch (3:1) gereinigten Myzels erfolgte mit 15 Teilen Salzsäure (6 n) in einer luftdicht verschlossenen Flasche bei 120°C während 12 h. Nach Entfernung der Pigmente und der Salzsäure wurde das Hydrolysat in Wasser aufgenommen und chromatographiert (WHATMAN Nr. 1, Phenol-Wasser-Ammoniak). Die radioaktiven Stellen des Chromatogramms wurden ausgeschnitten, eluiert und wieder chromatographiert. Die radioaktiven Aminosäuren konnten auf diese Weise gereinigt und durch

¹ K. LANG, in: *Künstliche Radioaktive Isotope in Physiologie, Diagnostik und Therapie* (Springer, Berlin, Göttingen und Heidelberg 1953), S. 222. – S. WEINHOUSE, in: *Symposium on Amino Acid Metabolism* (John Hopkins Press, Baltimore 1955), S. 637.

² G. EHRENSVÄRD, E. SPERBER, E. SALUSTE, L. REIO und R. STJERNHOLM, *J. biol. Chem.* 169, 759 (1947).

³ T. WINNICK, J. MORING-CLAESON und D. M. GREENBERG, *J. biol. Chem.* 175, 127 (1948).

⁴ D. M. GREENBERG und T. WINNICK, *J. biol. Chem.* 173, 199 (1948).

⁵ H. A. BARKER, B. E. VOLCANI und B. P. CARDON, *J. biol. Chem.* 173, 803 (1948).

⁶ B. D. SANWAL, *Phytopath. Z.* 25, 333 (1956).

Chromatographie unter Verwendung von Vergleichssubstanzen identifiziert werden⁷.

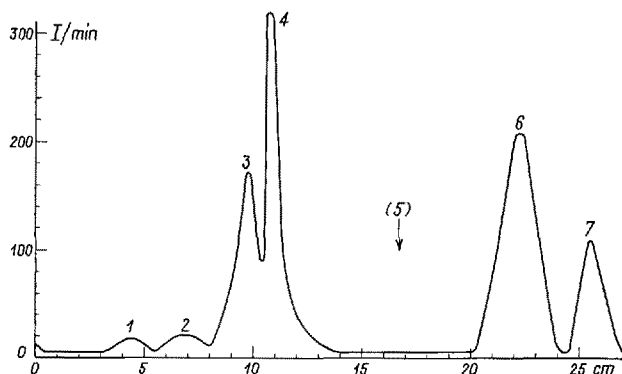


Abb. 2. Radiochromatogramm des Proteinhydrolysats von *Fusarium lycopersici* (Phenol-Wasser-Ammoniak). Abszisse: Entfernung vom Startpunkt. Ordinate: Impulse pro Minute. 1 Asparaginsäure; 2 Glutaminsäure; 3 Serin; 4 Glykokoll; 6 Leucin; 7 Valin. Bei (5) liegt das nicht radioaktive Alanin.

Ergebnisse. Wird markiertes Glykokoll jungen, intensiv wachsenden Pilzkulturen (in den ersten 6 Tagen nach Beimpfung der Kolben) verabreicht, erscheinen in den folgenden 24 h rund 2% der Radioaktivität im Kohlendioxyd. Die Bildung von markiertem Kohlendioxyd ist in den ersten Stunden nach Zugabe am stärksten und nimmt nachher rasch ab; die 2% entsprechen deshalb praktisch der gesamten im Kohlendioxyd abgegebenen Radioaktivität. Das von älteren, weniger rasch wachsenden Kulturen abgegebene Kohlendioxyd ist nur in Spuren radioaktiv. 4 h nach Glykokollzugabe findet sich der grösste Teil der Radioaktivität des Proteinhydrolysates im Glykokoll, Serin, Valin und Leucin; Asparaginsäure und Glutaminsäure sind nur wenig radioaktiv. Serin, Asparaginsäure und Glutaminsäure wurden als bekannte Umwandlungsprodukte des Glykokolls bereits erwähnt; dagegen sind Valin und Leucin unseres Wissens bisher noch nicht nachgewiesen worden. Über den Mechanismus dieser Reaktionen kann zur Zeit noch nichts ausgesagt werden.

Der Fritz-Hoffmann-La-Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz, der Schweizerischen Koordinationskommission für die technische Hilfe und der Volkart-Stiftung möchten wir für die Ermöglichung dieser Untersuchungen auch an dieser Stelle bestens danken.

H. KERN, B. D. SANWAL
und D. KLUEPFEL

Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Zürich, den 5. April 1957.

Summary

C¹⁴-methylene-labelled glycine was added to growing mycelium of *Fusarium lycopersici*. Young, rapidly growing mycelium converts about 2% of the radioactivity into carbon dioxide; with older mycelium, the carbon dioxide is almost inactive. In the protein hydrolysate, labelled glycine, serine, valine and leucine and small quantities of aspartic acid and glutamic acid were found. Valine and leucine apparently have not been identified before as metabolic products of glycine.

⁷ B. D. SANWAL, in: *Papierchromatographie in der Botanik* (Springer, Berlin, Göttingen und Heidelberg 1955), S. 30. – H. DÖRFEL, l.c. 105.

Effect of Mutagens on the Content of Nucleic Acids in Wheat

It has been noticed by HEVESY¹, SKIPPER and MITCHELL², HOLMES³ and many others that irradiation with a considerable range of X-ray doses reduces the rate of deoxyribonucleic acid (DNA) formation in growing tissues. Inhibition of ribonucleic acid (RNA) synthesis has been found to be less marked, or synthesis may even be increased. These results are mostly based on experiments carried out in animal tissues or in microorganisms; studies in plant material have been comparatively few. SISSAKIAN⁴ has recently reported the effects of X-ray radiation on the biosynthesis of nucleic acids in rye seedlings. He found that the treatment affected adversely the DNA metabolism and that DNA was more susceptible than RNA to radiation damage. The present study was undertaken (1) to compare the effects of treatment with physical and chemical mutagens on the synthesis of nucleic acids in wheat seedlings and (2) to estimate the relative effects of X-ray radiation on DNA and RNA synthesis at different stages in the post-irradiation development of treated seedlings.

For a comparative study of the effects of different mutagens on nucleic acid synthesis, dormant seeds of *Triticum aestivum* (var. N.P. 718) were treated with X-rays (50 KV; unfiltered), mustard oil from *Brassica campestris* var. *toria* and nitrogen mustard (Di 2-chloroethyl-methylamine hydrochloride). The dosages used were 11 000 r of X-rays, 0.0005% nitrogen mustard for 40 min and mustard oil for 6 h. Mustard oil was included in the study in view of its capacity to induce chromosome breakage⁵. Estimations of DNA and RNA contents were carried out in 3-day-old seedlings by the method of OGUR and ROSEN⁶ and submitted to phosphorus analysis. The plumule and radicle were separately analysed and the experiment was replicated thrice. The mean values of DNA and RNA content found per unit weight of radicle and plumule are given in Table I. It will be seen that there is a decrease in the content of both DNA and RNA in the radicles and plumules of treated seedlings and the percentage of reduction in each treatment is given in Table II. In the case of X-ray and mustard oil treatment, the plumule showed a greater percentage of reduction than the radicle. All the differences are statistically significant.

There was complete inhibition of growth of both plumule and radicle after 72 h in seedlings from the nitrogen mustard treatment and this may account for the uniform reduction in the DNA and RNA contents in the two tissues. X-rays and mustard oil, however, caused a greater inhibition of the shoot part of the plant. In the root meristems, there was a tendency for a rapid elimination of aberrant cells. This was particularly evident in *Allium* root tips treated with mustard oil, where the meristems which developed subsequent to the treatment had practically all normal cells, even though a large percentage of cells showed aberrations in the region of the tumour which developed soon after the treatment (Figure). Some such factor may be responsible for the reduced susceptibility observed of the radicle to

¹ G. HEVESY, *Nature* 163, 869 (1949).

² H. E. SKIPPER and J. H. MITCHELL, *Cancer* 4, 363 (1951).

³ B. E. HOLMES, *Brit. J. Radiol. N. S.* 22, 487 (1949).

⁴ N. M. SISSAKIAN, *Proc. International Conference on Peaceful uses of Atomic Energy* 11, 248 (1956).

⁵ M. S. SWAMINATHAN and A. T. NATARAJAN, *Curr. Sci.* 25, 382 (1956).

⁶ M. OGUR and G. ROSEN, *Arch. Biochem.* 25, 262 (1950).