

same extent, probably due to lower rate of respiration. Fat formation at this concentration was retarded but the iodine value markedly increased. NORD *et al.*¹ using riboflavin at 0.8 mg/l and nicotinic acid at 0.5 mg/l obtained similar results with *Fusarium lini* but not with pigmented *F. lycopersici*. In the latter case both vitamins promoted growth and fat formation but did not appreciably affect the iodine value. The results yielded by *P. lilacinum* are evidence that this mould is able, as is *F. lini*, to incorporate both riboflavin and nicotinic acid in its dehydrogenating systems implicated in fat synthesis.

The author wishes to thank Professor T. K. WALKER for his interest in the work.

K. NAGUIB

College of Science and Technology, University of Manchester, September 9, 1957.

Résumé

L'addition de riboflavine ou d'acide nicotinique aux cultures de *Penicillium lilacinum* Thom. a augmenté remarquablement la valeur iodique de la graisse formée. Mais c'est seulement la riboflavine, qui a accéléré la formation de la graisse.

Aminosäuren als gallenerregende Stoffe der Reblaus (*Viteus [Phylloxera] vitifolii* Shimer)

Während über die biologische Wirkung des galleninduzierenden Sekretes der Reblaus bereits eine ganze Reihe aufschlussreicher Ergebnisse vorliegt, ist über dessen chemische Natur bisher noch nichts bekannt¹. Diese Untersuchungen über die stofflichen Grundlagen der Reblaus-Cecidogenese konnten erst in Angriff genommen werden, nachdem die experimentelle Galleninduktion an der Wurzelspitze von Vitis-Sämlingen zu einem brauchbaren Test weiterentwickelt wurde² (vgl. die Abbildung).

Für die Analyse der wirksamen Bestandteile im Reblausseichel wurden die einzelnen Sekrettröpfchen von mehreren Tausenden von Blatt-Rebläusen (Material aus 5 Gewächshäusern und etwa 20 a Freiland-Gallenkultur) in destilliertem Wasser oder in Filterpapier gesammelt und zunächst unter Beachtung vorher erarbeiteter Kautelen bis zur Aufarbeitung aufbewahrt. Nach groben Schätzungen und Vergleichswägungen standen für die Aufarbeitung insgesamt etwa 0,4 mg und für die im folgenden näher beschriebenen Versuche etwa 0,2 mg reinen Reblausseichels zur Verfügung.

¹ F. ANDERS, Exper. 11, 322 (1955); Verh. dtsch. zool. Ges. Erlangen 1955, 421; Exper. 13, 29 (1957); Naturwissenschaften 44, 95 (1957). – Auch von anderen Autoren, so in letzter Zeit insbesondere von H. H. HOPP, Weinwissenschaft 9, 9 (1955); Zusammenfassung bei B. Götz, Weinberg und Keller 3, 126 (1956), wurden Untersuchungen über die galleninduzierenden Stoffe der Reblaus in Angriff genommen; doch wurden diese Versuche fast ausschließlich mit Preßsäften und Extrakten aus ganzen Tieren durchgeführt, wodurch die Ergebnisse dieser Autoren in wesentlichen Punkten von den unseren abweichen.

² F. ANDERS, Naturwissenschaften 44, 95 (1957).

Im Verlaufe der Arbeiten wurde nun unsere Aufmerksamkeit aus einer ganzen Reihe sehr heterogener Gründe, die hier nicht näher erörtert werden können, auf die Stoffgruppe der Aminosäuren gelenkt, wobei sich schon in Vorversuchen herausstellte, dass der Reblausseichel im Vergleich mit Preßsäften aus ganzen Rebläusen eine sehr kräftige Ninhydrinreaktion zeigt. Auch Vergleichsreaktionen mit bekannten Substanzgemischen liessen eine für tierische und pflanzliche Objekte ungewöhnlich hohe Konzentration ninhydrinpositiver Körper im galleninduzierenden Sekret vermuten. Es wurden deshalb in zwei Versuchen je etwa 0,1 mg reinen Reblausseichels mit kurzer Laufstrecke auf schmalen Streifen (wegen der für normale Analysen äusserst geringen Substanzmenge) in Phenol bzw. Patridge-Gemisch eindimensional aufsteigend chromatographiert (SCHLEICHER und SCHÜLL, Nr. 2043 bM) und mit Ninhydrinreagens besprüht. Auf diese Weise wurden in beiden Fällen übereinstimmend je drei ninhydrinpositive Körper gefunden, bei denen es sich nach Vergleichschromatogrammen mit einzelnen Aminosäuren bzw. Aminosäuregemischen um Lysin, Histidin und Tryptophan handelt.



Reblaus-Sämlinge im Keulen- bzw. Wurzelgallentest mit Aminosäuren des galleninduzierenden Sekrets der Reblaus.

Histidin konnte ausserdem an der blauen Fluoreszenz, die übrigens schon am nativen Reblaussekret zu beobachten ist, identifiziert werden. Tryptophan, dessen Fluoreszenz infolge der geringen Substanzmenge nicht mehr eindeutig erkennbar war, konnte darüber hinaus in anderen Versuchen nach WINKLER und PETERSEN³ bestimmt werden. Lysin war bereits in Vorversuchen an der nach Besprühen eines Chromatogrammes mit Folins Reagens auftretenden charakteristischen Färbung («dunkeltaubenblau»)⁴ erkannt worden. Das Vorhandensein des stark basischen Lysins und der beiden heterozyklischen Verbindungen Histidin und Tryptophan steht mit dem relativ hohen pH-Wert des Sekretes von fast 9 in gutem Einklang.

Neben diesen drei genannten Aminosäuren, die im Chromatogramm weitaus vorherrschend sind, finden sich offenbar noch zwei weitere, vermutlich Glutaminsäure und Valin, im Reblausseichel. Eine exakte Identifizierung dieser beiden Substanzen ist jedoch erst nach

³ S. WINKLER und S. PETERSEN, Hoppe-Seylers Z. 231, 210 (1935). – S. WINKLER, Z. anal. Chem. 105, 303 (1936).

⁴ E. Merck AG (Darmstadt), Chromatographie.

Verarbeitung einer grösseren Sekretmenge möglich, wobei sich dann möglicherweise auch noch weitere – allerdings in unvergleichlich schwächerer Konzentration vorliegende – freie Aminosäuren nachweisen lassen.

Quantitative Untersuchungen über den Aminosäuregehalt des galleninduzierenden Sekretes der Reblaus stehen zwar noch aus, doch lassen sich an Hand von Vergleichschromatogrammen mit bekannten Lösungen grobe Schätzwerte angeben. Ein solcher Vergleich zeigt, dass rund 0,1 mg reinen Reblaussekretes etwa 5–10 γ Lysin, die gleiche Menge (vielleicht etwas weniger als Lysin) Histidin und etwas weniger Tryptophan enthält, was bei sehr vorsichtiger Schätzung einer für biologische Lösungen ungewöhnlich hohen Aminosäurekonzentration von insgesamt wenigstens 10% entspräche.

Durch diesen Nachweis der Aminosäuren im Sekret der Reblaus ist nun allerdings noch nicht bewiesen, dass diese auch die cecidogenen Agenzien sind, zumal auch noch andere Stoffe, zum Beispiel mehrere Zucker, gefunden wurden. Es wurden deshalb zunächst die genannten fünf sowie weitere 15 ausgewählte Aminosäuren einzeln auf ihre galleninduzierende bzw. keulenbildende Potenz⁵ an Wurzelspitzen von Vitis-Sämlingen getestet. Dabei zeigte sich, dass zwar viele Aminosäuren in einem geeigneten Lösungsverhältnis Wurzelverdickungen auszulösen vermögen, doch konnte in keinem Falle eine den natürlichen Substanzen der Reblaus entsprechende starke Wirkung beobachtet werden. Lediglich Tryptophan vermag stärkere Anschwellungen der Wurzelspitze («Wurzelkeulen») hervorzurufen, die jedoch denen, die durch das Reblaussekret verursacht sind, wesentlich an Umfang und Ausdehnung nachstehen.

In den weiteren Versuchen wurden nun Substanzgemische geprüft. Dabei zeigte die Kombination von Glutaminsäure, Histidin und Tryptophan eine so starke keulenbildende Wirkung, dass Ausdehnung und Umfang der hierdurch verursachten Anschwellungen an manchen Rebensämlingen selbst von echten Gallen der Wurzelspitze (sogenannte Nodositäten) nicht mehr übertroffen werden. Auch zytologisch herrscht nach den bisherigen Untersuchungen volle Übereinstimmung. Ein Unterschied besteht lediglich darin, dass erstere infolge meist allseitiger Einwirkung der Agenzien symmetrisch und letztere wegen der lokalen Injektion durch den Parasiten asymmetrisch gestaltet sind. Lysin und Valin verstärken diesen Effekt nur noch unwesentlich. Die beigegebene Abbildung veranschaulicht die Wirkung einer 0,025-prozentigen wässrigen Lösung von Lysin, Glutaminsäure, Histidin, Tryptophan und Valin, die im Keulentest geprüft wurde (Aufnahme 48 h nach Versuchsbeginn).

Wenn nun auch nicht mehr daran gezweifelt werden kann, dass die Reblausgalle allein oder doch wenigstens vorwiegend durch die im Speichelsekret des Parasiten enthaltenen Aminosäuren verursacht wird, so bestehen doch noch erhebliche Diskrepanzen hinsichtlich der optimal wirksamen Konzentration der künstlichen Gemische im genannten Test, die bei dem niedrigen Wert von etwa 0,0075 bis 0,05% liegt und der ausserordentlich hohen Konzentration im reinen Sekret (siehe oben). Indessen ist diese Unstimmigkeit nur eine scheinbare, denn bei der natürlichen Injektion des Sekretes durch die Reblaus sowie auch bei lokaler künstlicher Applikation dringt der Reblaussekret auf Grund seiner hygroskopischen Natur zunächst rein passiv in einen grösseren

Bereich des Wirtsgewebes vor⁶, wobei er wahrscheinlich sehr bald so stark verdünnt wird, dass sich auch hier die im Test ermittelte optimal wirksame Konzentration einstellt. Aus diesem Grunde sind auch unsere Versuche zur experimentellen Gallenbildung durch lokale Applikation mit künstlichen Substanzgemischen sowohl an der Wurzel als auch am Blatt der Rebe nur dann erfolgreich verlaufen, wenn hohe Aminosäurekonzentrationen verwendet wurden.

Es bleibt nun noch die Frage nach der Herkunft der galleninduzierenden Aminosäuren zu erörtern, zumal unsere frühere Auffassung, das cecidogene Agens sei ein Sekret der Speicheldrüse, nach den vorliegenden Befunden unwahrscheinlich geworden ist. Die ungewöhnlich hohe Konzentration der Aminosäuren sowie auch der Nachweis eines proteolytischen Verdauungsfermentes bei der Reblaus⁷ lassen vermuten, dass die gefundenen galleninduzierenden Stoffe kein Sekret der Speicheldrüse, sondern in Wirklichkeit Spaltprodukte der Nahrungsproteine darstellen, die vom Parasiten nicht vollständig verwertet werden können. Sie werden daher offenbar als Exkrete – die Reblaus hat keinen After – durch das Speichellohr ausgeschieden. Diese sehr wahrscheinliche Annahme, dass die gefundenen Aminosäuren Exkretionsprodukte sind, findet eine – evolutionistisch gesehen – interessante Parallele bei gewissen Mutanten von *Ephesia* und auch wohl *Drosophila*, bei denen unter anderem auch Tryptophan – eine offenbar starke Wirkungskomponente der Reblauscecidogenese – im Exkret ausgeschieden wird⁸.

Die Untersuchungen werden an Gallen anderer Insekten sowie an gewissen Tumoren, die viele Parallelen zur Cecidogenese aufweisen, fortgesetzt.

Den Herren Dr. BAYER und Dr. RADLER von der biochemischen Abteilung unseres Institutes danke ich für die bereitwillige Hilfe bei der Versuchsanstellung.

Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

F. ANDERS

Forschungsinstitut für Rebenzüchtung, Geilweilerhof, Siebeldingen (Pfalz), 24. September 1957.

Résumé

Les sécrétions salivaires du *Phylloxéra* contiennent à un très haut degré de concentration les acides aminés suivants: la lysine, l'histidine et la tryptophane; deux autres acides aminés – vraisemblablement l'acide glutamique et la valine – s'y trouvent à l'état moins concentré. Ces substances appliquées expérimentalement sont capables de provoquer la formation des galls de la vigne tout aussi bien que les sécrétions naturelles du *Phylloxéra*. Pour cette raison, il semble suffisamment prouvé que ces substances sont identiques à l'agent cécidogène du *Phylloxéra* ou qu'elles représentent au moins sa composante la plus efficace.

⁵ F. ANDERS, Verh. dtsh. zool. Ges. Erlangen 1955, 421.

⁷ J. L. PRINC, Moskau 1950; zit. nach B. Götz, WEINBERG und KELLER 3, 126 (1956).

⁸ P. S. CHEN und A. KOHN, Z. Naturf. 11b, 305 (1956). – A. EGELHAAF, Z. Naturf. 12b, 405 (1957).

⁵ F. ANDERS, Naturwissenschaften 44, 95 (1957). – Wurzelkeulen, zum Beispiel auch C-Tumoren [A. LEVAN, Hereditas 24, 471 (1938)] und die Gallen an der Wurzelspitze der Rebe können als prinzipiell gleichwertige Gebilde betrachtet werden.