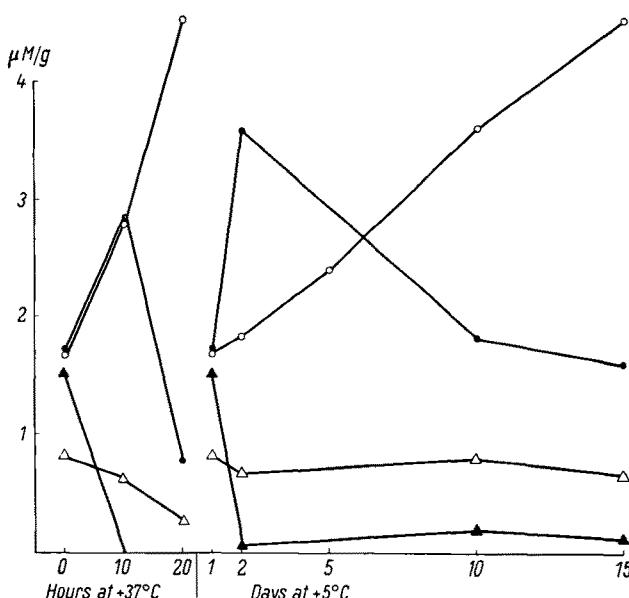


tracted from the solution with ether<sup>3</sup>. The extract was adjusted to pH 8.5 and chromatographed through Dowex 2 (chloride form, 200–400 mesh, 1 × 12 cm) after washing with water and then by elution with 0.01 M NH<sub>4</sub>Cl (the total volume of this fraction was about 1200 ml); then by elution with hydrochloric acid in the following concentrations: 0.001 M HCl; 0.003 M HCl; 0.005 M HCl; 0.01 M HCl; 0.02 M NaCl in 0.01 M HCl; 0.05 M NaCl in 0.01 M HCl; 0.2 M NaCl in 0.01 M HCl. 10 eluates 50 ml each were taken from every fraction manually and optical density at 250 m $\mu$  and 260 m $\mu$  was determined by use of Beckman spectrophotometer.



The amount of ATP (▲), ADP (△), IMP (●) and hypoxanthine (○) in beef muscle during autolysis at two different temperatures.

In each pattern 10 greater peaks were detected, from which IMP, ADP and ATP were identified. AMP could not be reliably identified, although a little peak in the fraction eluted with 0.003 M HCl supported the possibility of its presence. The quantity was determined using molecular extinction coefficients: 14200 at 260 m $\mu$  for phosphates of adenosine and 13200 at 250 m $\mu$  for IMP<sup>4</sup>. The fraction, which was eluted with 0.01 M NH<sub>4</sub>Cl was all counted as hypoxanthine, using molecular extinction coefficient 8100 at 260 m $\mu$ <sup>5</sup>.

Breakdown of nucleotides is distinct from the Figure, where mean values from 4 muscles are indicated. It is evident that, before the first analysis of specimens, the greater part of ATP was already dephosphorylated. That agrees with the high content of IMP and hypoxanthine. The amount of ADP during autolysis at + 5°C remained at the same level. It is probably nucleotide bound in myofibrils, which is not attacked by enzymes at lower temperature<sup>6</sup>.

From the amount of hypoxanthine and IMP, the equivalent content of ammonia may be deduced. On the day of slaughter, the amount of both is equivalent to 6 mg% of ammonia in muscle. On the second and tenth day, it is

equivalent to 9 and 10 mg% of ammonia respectively. From this fact, it is seen that ammonia is released from nucleotides only up to the second day. The desamination is probably in close connection with the destruction of ATP (the same agrees also for autolysis at + 37°C). As ATP is a criterium for beginning of *rigor mortis* in muscle<sup>7</sup>, it may be said that the production of ammonia from nucleotides finishes at the beginning of *rigor mortis*.

The author wishes to express his thanks to Dr. Z. BRAĐA from the Oncological Institute in Brno for the possibility of measuring with a Beckman spectrophotometer.

Z. DVOŘÁK

Institute for Research of Meat and Fish, Brno (Czechoslovakia), December 4, 1957.

### Zusammenfassung

Der postmortale Zerfall von Adenosintriphosphat im Kindermuskel wurde mit der Ammoniakbildung verglichen. Die Ammoniakbildung aus Nukleotiden ist mit dem Eintreten der Totenstarre beendet.

<sup>7</sup> T. ERDÖS, Studies Inst. Med. Chem. Univ. Szeged 3, 51 (1943).

## Über Pflanzenwachstumsregulatoren\*

### Beiträge zur Kenntnis der phytotoxischen Wirkung von Triazinen

Die phytotoxische Wirkung von 2-Chlor-4,6-bis-(diäthylamino)-s-triazin wurde erstmals von GAST, KNÜSLI und GYSIN<sup>1</sup> beschrieben. Später wurden weit wirksamere Verbindungen dieser Körperklasse aufgefunden, unter denen besonders Simazin [2-Chlor-4,6-bis-(äthylamino)-s-triazin] hervorsticht<sup>2</sup>.

In dem durch Triazine hervorgerufenen Vergiftungsbild tritt normalerweise eine typische Chlorose auf. Es war deshalb naheliegend, die Frage zu prüfen, ob im Verlauf der Vergiftung Störungen in der CO<sub>2</sub>-Assimilation, bzw. Stärkebildung auftreten. Für diese orientierenden Untersuchungen wurde *Coleus Blumei* Benth. als Versuchspflanze gewählt, ein Objekt, welches eine intensive Stärkeproduktion aufweist. Etwa 20 cm hohe Pflanzen wurden mit je 50 mg Simazin und Chlorazin behandelt. Als Vergleichsmittel wurde CMU in derselben Dosierung verwendet. Chlorazin wurde in Wasser emulgiert, Simazin und CMU in suspendierter Form appliziert. Pro Topf wurden 50 ml der Versuchslösungen, welche die oben angegebenen Mengen der Wirkstoffe enthielten, verwendet. Die Flüssigkeitsmenge genügte, um die Topferde vollständig zu durchnässen. Die Pflanzen wurden vorerst während 6 Tagen im Gewächshaus gehalten, dann für zwei Tage ins Dunkle verbracht und hernach erneut belichtet. Nach sechs bzw. acht (nach der Dunkelperiode) und zehn Tagen (nach Beginn der zweiten Belichtung) wurden Blätter entnommen, mit heißem Alkohol vom Chlorophyll befreit und mit Jod-Jodkaliumlösung auf ihren Stärkegehalt geprüft. 6 Tage nach der Behandlung zeigten die mit CMU behandelten Pflanzen bereits als erste Ver-

\* 3. Mitteilung (siehe auch die zwei folgenden Arbeiten EXER und ROTH).

<sup>1</sup> A. GAST, E. KNÜSLI und H. GYSIN, Exper. 11, 107 (1955).

<sup>2</sup> A. GAST, E. KNÜSLI und H. GYSIN, Exper. 12, 146 (1956).

<sup>3</sup> R. DAOUST and A. CANTERO, Cancer Res. 15, 734 (1955).  
<sup>4</sup> A. DEUTSCH and R. NILSSON, Acta chim. scand. 7, 1288 (1953).

<sup>5</sup> W. E. COHN in: S. P. COLOWICK and N. O. KAPLAN, *Methods in Enzymology*, vol. 3 (Academic Press, New York 1957), p. 740.

<sup>6</sup> S. V. PERRY, Biochem. J. 51, 495 (1952).

Behandlung	Stärkegehalt von Coleusblättern		
	6 Tage hell	2 Tage dunkel	2 Tage hell
Unbehandelt . . . . .	Viel Stärke	Keine Stärke	Viel Stärke
CMU . . . . .	Keine Stärke	Keine Stärke	Keine Stärke
Chlorazin (G 25804) . . . .	Viel Stärke (wie Unbehandelt)	Keine Stärke	Wenig Stärke
Simazin (G 27692) . . . .	Sehr wenig Stärke (nur in den Randpartien)	Keine Stärke	Keine Stärke

giftungssymptome eintrocknende Blattränder; zu diesem Zeitpunkt erschienen die mit Chlorazin oder Simazin behandelten Pflanzen äußerlich noch vollständig normal.

Die Ergebnisse der Stärkeprobe gehen aus vorstehender Tabelle und den photographischen Aufnahmen (Abb. 1, 2) hervor.

Die Ergebnisse zeigen eindeutig, dass alle drei Substanzen die Akkumulation von Stärke verhindern, wobei Chlorazin aber deutlich schwächer als CMU oder Simazin wirkt.

In weiteren Versuchen wurde die Frage untersucht, wie bald nach der Behandlung der Versuchspflanzen die

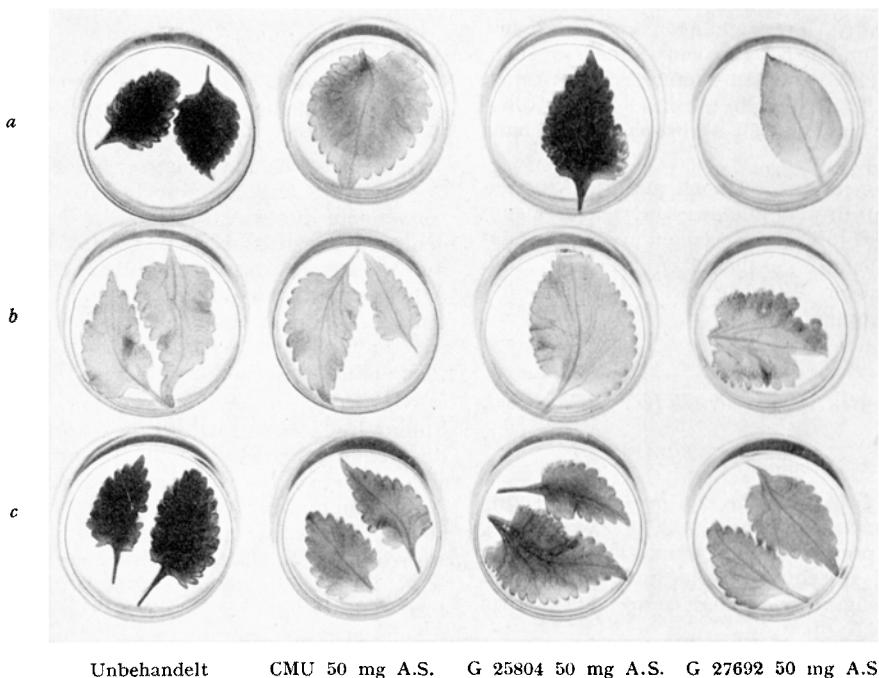


Abb. 1. Stärkegehalt von Coleusblättern nach Behandlung mit verschiedenen Herbiziden.  
a Pflanzen nach Behandlung 6 Tage hell; b wie a + 2 Tage dunkel; c wie a + b + 2 Tage hell.

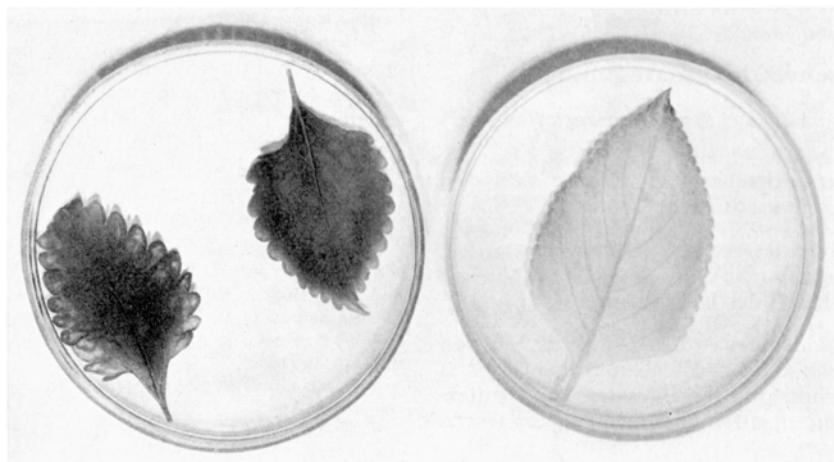


Abb. 2. Blätter von unbehandelter (links) und mit Simazin behandelter (rechts) Coleuspflanze, 6 Tage nach der Behandlung.

Stärkebildung ausbleibt. Coleuspflanzen, welche mit 30 mg Simazin AS pro Pflanze behandelt worden waren, zeigten noch drei Tage später eine normale Stärkebildung, am 4. Tag eine deutliche Abnahme und vom 6. Tag an keine Stärke mehr. Bei *Tropaeolum majus* erfolgt die Reaktion viel rascher. 15–20 cm hohe Pflanzen, welche ebenfalls mit 30 mg AS pro Topf behandelt worden waren, zeigten schon am ersten Tag nach der Behandlung keine Stärke mehr und 5 Tage später bereits starke Nekrosen.

Diese Versuche lassen die Frage offen, ob die verwendeten Herbizide bei der Zuckerbildung oder erst bei der Stärkeakkumulation eingreifen. Ein weiterer Versuch zeigte aber eindeutig, dass der Eingriff schon bei der Zuckerbildung erfolgt: werden nämlich stärkefreie Coleusblätter im Dunkeln auf einer Lösung von 0,125 mol Saccharose schwimmen gelassen, so wird auch in Gegenwart von Simazin Stärke gebildet.

COOKE<sup>3</sup> stellte für CMU fest, dass dieses Herbizid ebenfalls die Photosynthese stört, und zwar bereits bei der Hill-Reaktion eingreift. Untersuchungen von EXER mit Simazin (l. c.) und ähnlichen Triazinen<sup>4</sup> haben ergeben, dass auch diese die Hill-Reaktion hemmen. Somit gehen CMU und Simazin in ihrer phytotoxischen Wirkung, mindestens in bezug auf die  $\text{CO}_2$ -Assimilation, durchaus parallel.

In diesem Zusammenhang sei noch auf die Arbeiten von JENSCH<sup>5</sup> und FRIEDHEIM<sup>6</sup> hingewiesen, welche zeigen, dass zwischen Harnstoffen und Triazinen auch auf anderen Gebieten auffallende Parallelitäten bestehen, zum Beispiel bezüglich ihrer Wirkung auf Bakterien und Protozoen (Trypanosomen).

A. GAST

Forschungslaboratorien der J. R. GEIGY AG., Basel,  
2. Dezember 1957.

### Summary

Experiments with *Coleus Blumei* and *Tropaeolum* showed that triazine compounds inhibit the photosynthesis, and, consequently, prevent the accumulation of starch. The chloroplasts of starchfree coleus leaves kept on a solution containing sugars and simazine are able to form starch again.

besonders die Aktivität der DPNH-Oxydase untersucht, entweder direkt durch Verfolgung der Extinktionsabnahme bei  $340 \text{ m}\mu^1$  oder durch Messung der Reduktion von zugegebenem Cytochrom c oder Dichlorphenol-indophenol<sup>2</sup>. Diese Reaktionen konnten durch Simazin nicht beeinflusst werden.

Ein weiterer Beweis für das einwandfreie Funktionieren der Atmungskette ist der unveränderte Sauerstoffverbrauch von ungewaschenen Chloroplastensuspensionen (Spinat) in Anwesenheit von Hemmstoff (Warburgversuche).

In diesem Zusammenhang sind vielleicht noch die Versuche von HEIM et al.<sup>3</sup> zu erwähnen. Das Herbizid AT (3-Amino-1,2,4-triazol) reduziert den Katalasegehalt der behandelten Pflanzen. Gesättigte Simazinlösungen lassen hingegen keine Hemmung der Chloroplastenkatalase erkennen.

Eine Hemmung der Hillreaktion durch Äthyl- und Phenylurethan ist schon 1940 von HILL und SCARISBRICK<sup>4</sup> beobachtet worden. Ein bedeutend wirksameres Harnstoffderivat, das CMU (1,1-Dimethyl-3-parachlorphenyl-Harnstoff) wurde 1956 von COOKE<sup>5</sup> beschrieben. CMU bewirkt eine Abnahme der Kohlehydrate in behandelten Versuchspflanzen (siehe auch Arbeit GAST<sup>6</sup>).

Aus diesen Gründen lag es nahe, die Versuche von COOKE zu wiederholen. Für das Studium der Hillreaktion verwendete dieser Autor den von HORWITZ<sup>7</sup> vorgeschlagenen Redoxfarbstoff Janusgrün. Es zeigte sich in unseren Versuchen, dass technisches Janusgrün zuerst mit Äther extrahiert und dann an Aluminiumoxyd chromatographiert werden musste, um damit brauchbare Resultate zu erhalten. Gleichzeitig haben wir auch die ganze Methode näher untersucht.

Werden alle anderen Faktoren, wie Belichtungszeit, Chlorophyllkonzentration usw. konstant gehalten, so ist die Menge des gebildeten Diäthylsafanins von der eingesetzten Menge Janusgrün abhängig. Es wurde diejenige Janusgrünkonzentration ermittelt, bei welcher am meisten Diäthylsafanin erhalten wird. Wir konnten nachweisen, dass die Hillreaktion auch von Simazin gehemmt wird. COOKE konnte mit  $10^{-7} \text{ m}$  CMU die Hillreaktion fast vollständig unterdrücken. Wir benötigten dagegen für eine 50%ige Hemmung  $8 \times 10^{-7} \text{ m}$  CMU oder  $7 \times 10^{-7} \text{ m}$  Simazin. Diese Differenz beruht wahrscheinlich auf der Anwesenheit von Begleitstoffen des Janusgrün, welche die Wirkung von Simazin oder CMU verstärken. Wir haben im Ätherextrakt des technischen Farbstoffes solche Hemmstoffe nachweisen können. Eine analoge Potenzierung der Hemmung haben wir auch mit Strychnin beobachtet. Dieses Alkaloid ist ein Aktivator der Hillreaktion (MACDOWALL<sup>8</sup>). Im Vergleich zu den Kontrollen ohne Strychnin werden mit alkaloidhaltigen Ansätzen bei gleicher Simazinkonzentration die stärkeren Hemmungen erzielt. Um diese durch den unphysiologischen Redoxfarbstoff bedingten Effekt auszuschalten, wurden Versuche mit dem natürlichen Wasserstofffaktoptor DPN (Diphosphopyridin-nukleotid) aufgenommen. SAN PIETRO

<sup>1</sup> K. H. BÄSSLER und K. LANG, Arch. exp. Path. Pharmakol. 229, 568 (1956).

<sup>2</sup> H. B. BURCH, O. H. LOWRY, A. M. PADELLA und A. M. COMBS, J. biol. Chem. 223, 29 (1956).

<sup>3</sup> W. G. HEIM, D. APPLEMAN und H. T. PYFROM, Amer. J. Physiol. 186, 19 (1956).

<sup>4</sup> R. HILL und R. SCARISBRICK, Proc. Roy. Soc. London B 129, 238 (1940).

<sup>5</sup> A. R. COOKE, Weeds 4, 397 (1956).

<sup>6</sup> A. GAST, Exper. 14, 134 (1958).

<sup>7</sup> L. HORWITZ, Plant Physiol. 30, 10 (1955).

<sup>8</sup> F. D. H. MACDOWALL, Plant Physiol. 24, 462 (1949).

## Über Pflanzenwachstumsregulatoren

### Der Einfluss von Simazin auf den Pflanzenstoffwechsel\*

Beim Kohlensäurestoffwechsel der Pflanze sind drei Reaktionsgruppen zu unterscheiden:

1. Die Photolyse des Wassers (Hillreaktion);
2. Die Atmung;
3. Die Assimilation der Kohlensäure.

Gewisse Strukturähnlichkeiten des Herbizids Simazin (2-Chlor-4,6-bis-äthylamino-1,3,5-triazin, früher G 27692) mit Flavinadenin-dinukleotid veranlassten uns, Untersuchungen mit Flavinfenmenten aufzunehmen. Es wurde

\* 4. Mitteilung (siehe vorstehende Arbeit von A. GAST und nachstehende Arbeit von W. ROTH).