

und LANG⁹ fanden, dass belichtete Chloroplasten unter anaeroben Bedingungen DPN zu DPNH reduzieren können. Wir konnten zeigen, dass auch dieser Prozess mit Simazin hemmbar ist. Die für eine 50%ige Hemmung benötigte Inhibitormenge musste im Vergleich zur Janusgrünmethode weiterhin erhöht werden, wobei jedoch für diese Versuche dichtere Chloroplastensuspensionen eingesetzt wurden. Diese Technik ermöglichte es uns, den Angriffspunkt des Simazins innerhalb der Hillreaktion etwas genauer zu lokalisieren. Bei konstanter Inhibitor- und DPN-Konzentration verhält sich die Hemmung der Hillreaktion umgekehrt proportional zur verwendeten Chlorophyllmenge. Umgekehrt lässt sich die Hemmung bei konstanter Hemmstoff- und Chlorophyllkonzentration nicht durch die Variation der DPN-Konzentration beeinflussen. Simazin und DPN treten somit nicht miteinander in Konkurrenz.

Die Maispflanze ist gegenüber Simazin weitgehend resistent¹⁰. Nach ROTH¹¹ beruht diese Tatsache auf der Fähigkeit des Maises, Simazin enzymatisch abzubauen. Isolierte Maischloroplasten erweisen sich im Hilltest nach unseren Versuchen als gleich empfindlich wie Spinatchloroplasten.

Eine ausführliche Beschreibung der Methoden wird an anderer Stelle erscheinen.

B. EXER

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

Summary

Simazin inhibits the Hill reaction, i.e. the use of light energy for the synthesis of energy-rich compounds. Isolated maize (corn) and spinach chloroplasts are, when analyzed in the Hill reaction, equally sensitive to the inhibitory action of Simazin. Furthermore, it does not influence the activity of catalase, nor does it inhibit respiration.

Competitive inhibition of DPN is not seen in the presence of Simazin. On the other hand, this compound appears to interfere directly with the intermediate steps needing chlorophyll.

⁹ A. SAN PIETRO und H. M. LANG, *Science* 124, 118 (1956).

¹⁰ A. GAST, E. KNÜSLI und H. GYSIN, *Exper.* 12, 146 (1956).

¹¹ W. ROTH, *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 245, 942 (1957).

Substances régulatrices de la croissance végétale*

Etude de l'action de la Simazine sur la physiologie d'Elodea

Afin de préciser l'action phytotoxique de la Simazine – substance herbicide¹ –, une série d'expériences a été entreprise avec Elodea. Cette plante complètement submergée se prête particulièrement bien à l'étude des échanges gazeux et de l'action des substances en solution.

Méthode expérimentale. Les échanges gazeux sont analysés d'après la méthode indiquée par PAECH et SIMONIS².

* 5^e communication (voir les travaux précédents de A. GAST et B. EXER).

¹ A. GAST, E. KNÜSLI et H. GYSIN, *Exper.* 12, 146 (1956). – C. BARTLEY, *Agric. Chem.* 12, 34 (1957).

² K. PAECH et W. SIMONIS, *Stoffwechselphysiologie der Pflanzen* (Berlin 1952).

Des récipients de verre blanc d'un contenu de 100 cm³ sont utilisés comme suit:

récipient 1: eau;

récipient 2: deux rameaux d'Elodea immergés dans l'eau;

récipient 3: deux rameaux d'Elodea immergés dans une solution aqueuse de Simazine (2000 µg/l).

Une série d'essais comporte deux jeux des récipients 1 à 3; un jeu est exposé à la lumière du jour, l'autre est mis à l'obscurité. Après un temps donné, l'oxygène contenu respectivement dans l'eau et dans la solution de Simazine est dosé par la méthode iodométrique de WINKLER³. Le poids sec des plantes est déterminé à 110°C.

Le bilan de O₂ est exprimé en milligrammes de O₂ produit (+) ou utilisé (–) pendant 1 h/g de poids sec d'Elodea; il se calcule par différence 1° entre la teneur en oxygène dans l'eau (récipient 1) et celle de l'eau avec Elodea (récipient 2), 2° entre la teneur en O₂ du récipient 1 et celle de la solution de Simazine avec Elodea (récipient 3).

Influence de la Simazine sur l'assimilation chlorophyllienne et la respiration

Les échanges chlorophylliens et respiratoires sont étudiés d'une part dans l'eau, d'autre part dans la solution aqueuse de Simazine.

Dans le Tableau ci-dessous sont groupées les valeurs déduites d'une série de mesures, prise parmi une dizaine qui ont été effectuées et qui donnent des résultats conformes.

Tableau I

Exposition	Milieu	Bilan de O ₂ (mg)*
lumière . . .	eau	+ 2,21
	solution de Simazine	– 0,22
obscurité . .	eau	– 0,81
	solution de Simazine	– 1,32

* mg de O₂/g de poids sec d'Elodea/h.

On constate les faits suivants:

1° dans la solution de Simazine le bilan de O₂ est négatif à la lumière; ce qui montre que l'assimilation chlorophyllienne est inhibée.

2° à l'obscurité, l'utilisation d'oxygène est plus importante dans la solution de Simazine; pour le rameau immergé dans cette solution, l'activité respiratoire serait donc plus intense.

Réversibilité de l'action physiologique de la Simazine

Des rameaux d'Elodea sont immergés dans la solution de Simazine (2000 µg/l); après 48, 96 et 336 h respectivement, ils sont lavés à l'eau courante et immergés à nouveau dans l'eau pour l'évaluation du bilan de O₂. Les résultats sont groupés dans le Tableau II.

Ces résultats montrent que l'effet de la Simazine est réversible. En ce qui concerne l'assimilation chlorophyllienne, la restauration est totale après 96 h, mais pour une durée prolongée, 336 h par exemple, la restauration n'est plus que partielle.

³ L. W. WINKLER, *Z. anal. Chem.* 53, 665 (1914).

Tableau II

Durée de contact avec la Simazine (h)	Exposition	% par rapport au témoin	
		production O ₂	utilisation O ₂
48	lumière	100% et plus	—
96	lumière	100% et plus	—
336	lumière	10%	—
336	obscurité	—	100% et plus

Comportement des cellules en présence de la Simazine

Etude descriptive. Lorsque les rameaux d'Elodea exposés à la lumière sont transportés dans la solution de Simazine, on constate l'arrêt immédiat du dégagement des bulles d'oxygène. A ce moment-là, l'observation cytologique ne révèle aucun changement des constituants cellulaires: les plastes ont un aspect normal, le mouvement de cyclose se poursuit régulièrement. Après 96 h aucun changement ne peut être décelé au niveau des cellules par la simple observation. Après 336 h, le bourgeon terminal étant en grande partie altéré, l'observation cytologique dans les tissus apparemment sains révèle que la cyclose ne se produit plus dans toutes les cellules; elle est intermittente ou ralentie, mais les chloroplastes sont encore normaux d'aspect.

D'autre part, l'observation des chloroplastes en lumière ultraviolette, après 336 h d'immersion dans la solution de Simazine, montre que la fluorescence persiste.

Etude histochimique. Des rameaux d'Elodea sont immergés d'une part dans une solution aqueuse de chlorure de triphényltétrazolium (TTC) à 0,1%, d'autre part dans une solution de TTC (0,1%) et de Simazine (2000 µg/l). Le TTC est réduit dans les cellules d'Elodea en présence de Simazine: le dérivé hydrogéné «Formazane», teinté de rouge, s'observe parfaitement, d'abord à la périphérie de la cellule, puis au niveau des chloroplastes. Il est important que cette hydrogénation, connue comme phénomène diastasique et due à l'action de déshydrases, puisse s'observer en présence de la Simazine. Ce fait, de même que la restauration précédemment décrite, tendent à montrer que la Simazine n'agit pas par blocage des systèmes déshydrasiques en action dans la cellule.

W. ROTH

Institut de Botanique, Strasbourg, le 2 décembre 1957.

Zusammenfassung

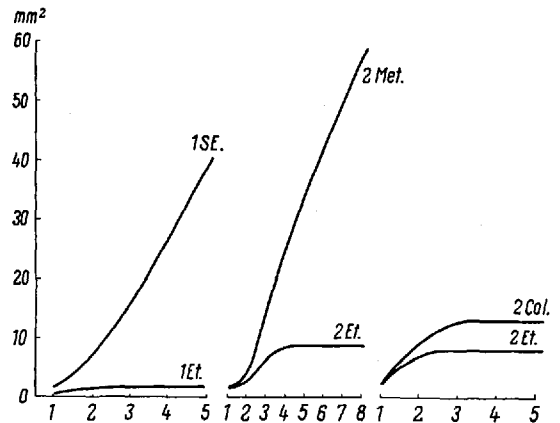
Durch Einwirkung von Simazin wird bei Elodea die Photosynthese gehemmt, der Sauerstoffverbrauch durch Atmung erhöht und keine Zerstörung der Zellbestandteile beobachtet. In Gegenwart von Simazin bleiben die Deshydrasesysteme der Zelle aktiv.

Metionina, etionina, colina nel metabolismo intermedio dei fibroblasti coltivati *in vitro*

L'azione antagonista e dismetabolica esplicita dall'etionina nei confronti della metionina, sia nella sintesi proteica che nel normale trasferimento dei metili labili, rende probabile un intervento diretto dell'antimetabolita sui processi dell'anabolismo cellulare. In queste ricerche noi abbiamo esaminato l'azione a livello cellulare dell'etionina, metionina e colina studiandone l'attività sul-

l'accrescimento dei fibroblasti in coltura *in vitro*, e cioè al di fuori di ogni possibile regolazione ormonica ed umorale.

Ci siamo serviti a tale scopo della tecnica di coltura in piastra secondo Carrel, aggiungendo l'etionina all'estratto embrionale utilizzato per l'allestimento sia della fase solida che di quella fluida di coltura, ad una concentrazione finale del 0,6 p. 100, e servendoci come espianto di stipiti di fibroblasti dal tendine e dal cuore dell'embrione di pollo di sette giorni di incubazione, previamente intrattenuti in goccia pendente per 5-6 passaggi. All'atto dell'allestimenti delle piastre ciascun espianto veniva diviso in due parti per quanto possibili uguali, l'una delle quali veniva sottoposta all'azione dell'etionina e l'altra mantenuta come controllo. L'accrescimento è stato valutato misurando planimetricamente l'area coperta nei giorni successivi dalle colture e dai controlli.



Azione dell'etionina, metionina e colina sull'accrescimento *in vitro* dei fibroblasti dal cuore di pollo. Curve di accrescimento assoluto in presenza di solo estratto embrionale diluito al terzo (SE), di estratto addizionato rispettivamente del 0,6% di sola etionina (Et), e di quantità equimolecolari di metionina, ma senza etionina (Met), di etionina + colina aggiunte contemporaneamente alla medesima coltura (Col.). In ordinate: aree ricoperte dalle colture in mm²; in ascisse: giorni di coltura. Spiegazioni nel testo.

In tutti i casi l'aggiunta di etionina alla fase liquida di coltura nella concentrazione suddetta porta ad un rapido blocco dell'accrescimento cellulare: dal secondo, terzo giorno non si osserva più incremento di area in tutte le colture trattate. Gli elementi coltivati mostrano segni di sofferenza cellulare grave, con aree di migrazione molto rade, cellule stellate con prolungamenti ramificati, ampia infiltrazione lipidica dei pochi elementi migrati nel coagulo. L'accrescimento dei controlli in solo estratto ed in estratto addizionato di metionina è invece regolare ed uniforme, con ampie aree di migrazione, costituite da cellule stipate di forma fusata. Nei controlli in metionina si osserva una infiltrazione lipidica notevole degli elementi migrati. Gli espianti sottoposti contemporaneamente all'azione dell'etionina e della colina mostrano un iniziale recupero della capacità di accrescimento, che per altro è quantitativamente limitato e di breve durata.

L'etionina esplica dunque un'azione diretta sui processi dell'anabolismo cellulare, che negli elementi coltivati *in vitro* si estrinseca in un rapido blocco della migrazione e riproduzione cellulare. Tale blocco è riferibile all'attività dismetabolica dell'antagonista, e non alla concentrazione aminoacidica elevata del mezzo, dato che i tessuti espiantati tolleramo bene quantità equimolecolari di metionina. L'incapacità della colina ad invertire l'inibizione pone il problema se il blocco sia da attribuire piuttosto ad un'inibizione dei meccanismi