

talitica di questo ho ora preparato il 5-ammino-triptofano che è, per quanto a mia conoscenza, il primo derivato del triptofano recante un gruppo amminico al nucleo benzenico. Questo prodotto presenta un certo interesse dal punto di vista teorico se si tiene conto del fatto che il 5-ossi-triptofano conserva ancora, sia pure in debole misura, l'attività vasocostrittrice della serotonina². Poichè le attività vasocostrittrici della 5-ammino- e della 5-nitro-triptamina sono rispettivamente uguali a circa $\frac{1}{3}$ e $\frac{1}{25}$ di quelle della serotonina³ mi è sembrato interessante studiare l'eventuale parallelismo fra l'attività biologica di un triptofano e della ammina corrispondente.

Le prove biologiche preliminari eseguite nei nostri Laboratori da MILLA e GRUMELLI, non hanno però dimostrato tanto per il 5-nitro- che per il 5-ammino-triptofano, fino ad una concentrazione di 100 γ /ml di liquido del bagno (Tyrode), alcun effetto contrattile sull'utero di ratto in estro; queste sostanze non hanno neppure esercitato, nelle medesime concentrazioni, alcun effetto inibitore della contrazione massimale dell'utero provocata da 0,1 γ /ml di serotonina (contrazione invece totalmente inibita da 0,1 γ /ml di Dibenamina).

Il dicloridrato del 5-ammino-triptofano è stato preparato nel modo seguente: 1 g di cloridrato di 5-nitro-triptofano¹ viene sciolto in 150 cm³ di etanolo al 90% e idrogenato a pressione ordinaria in presenza di 150 mg di biossido di platino secondo ADAMS. Il consumo di idrogeno corrisponde al teorico. Dopo filtrazione del catalizzatore e evaporazione del solvente sotto pressione ridotta in corrente di azoto, si sospende il residuo (0,9 g) a freddo in 3 cm³ di etanolo anidro saturo di HCl. Si filtra il dicloridrato così ottenuto e lo si lava 2-3 volte con delle piccole quantità di alcool isopropilico anidro. Il residuo così ottenuto (0,7 g) viene sospeso in 60 cm³ di alcool isopropilico e sciolto all'ebollizione aggiungendo il quantitativo minimo di acqua. Dopo filtrazione con carbone animale si raffredda e si aggiunge etere anidro fino a inizio di intorbidamento. Dopo alcuni giorni in ghiacciaia si filtrano i piccoli prismi incolori così ottenuti e li si lava con etere.

Resa 0,3 g. P.F. 278°C con dec. Trov.: % C 45,30; % H 5,29; % N 14,10 (per C₁₁H₁₃N₃O₂ · 2HCl calc.: % C 45,21; % H 5,17; % N 14,38).

R_f: 0,17 (acqua, *n*-butanolo, acido acetico 50:40:10). Macchia violacea con la ninidrina e aranciata con la dimetilaminobenzaldeide.

Assorbimento nell'U.V. max. 2245 (log ϵ 4,49)
2825 (log ϵ 2,66)
min. 2480 (log ϵ 3,03).

F. RAVENNA

Laboratori Ricerche Maggioni e C., Milano, 12 maggio 1958.

Summary

5-amino-tryptophan has been prepared by catalytic hydrogenation of 5-nitro-tryptophan.

These two products have been shown to be devoid of both serotonin-like and serotonin-inhibiting activity on uterus of rats in oestrus.

² A. EK e B. WITKOP, J. Amer. chem. Soc. 75, 500 (1953).

³ D. W. WOOLLEY e E. SHAW, J. biol. Chem. 203, 69 (1953).

Über Fritillariacyanin, ein neues Anthocyanin aus den Blüten der japanischen Schachblume

Die Blütenfarbstoffe der japanischen Schachblume, *Fritillaria camschatcensis* Ker-Gawl, wurden von K. HAYASHI *et al.*¹ papierchromatographisch untersucht; sie fanden zwei Anthocyanine, nämlich Keracyanin (?) und Chrysanthemin.

Im Winter 1955 gelang es mir, den Blütenfarbstoff dieser Pflanze kristallisiert zu gewinnen. Das zweimal umkristallisierte luftgetrocknete Präparat zersetzte sich bei 182°C (unkorr.) unter Gasentwicklung und ergab die Formel C₂₆H₂₉O₁₄Cl · 3 H₂O. Im Hydrolysat wurde keine esterartig gebundene organische Säure, sondern nur drei Spaltstücke, das Aglykon und zwei Zucker, gefunden; das Aglykon war mit Cyanidinchlorid identisch; die Zucker erwiesen sich nach Farben-Reaktionen und Papierchromatographie als Xylose und Rhamnose. Nach spektrophotometrischen Untersuchungen scheint Farbstoff als Cyanidin-3-biosid vorzuliegen; Reihenfolge und Bindungsart der beiden Monosen im Disaccharid des ursprünglichen Farbstoffs sind noch ungewiss.

Diesem neuen Anthocyanin möchte ich die Bezeichnung Fritillariacyanin geben.

Eine ausführliche Mitteilung wird an anderer Stelle erfolgen.

M. SHIBATA

Pflanzenphysiologisches Laboratorium, Biologisches Institut der Universität Toyama (Japan), 8. April 1958.

Summary

Fritillariacyanin, the colouring principle of the dark purple flower of *Fritillaria camschatcensis* Ker-Gawl, has been crystallized. It is a cyanidin xylorhamnoside.

¹ K. HAYASHI und Y. ABE, Bot. Mag. Tokyo 69, 227 (1956).

Le rôle de l'hétérosis dans la compétition entre *ebony* et son allèle normal

L'observation directe du comportement sexuel a montré que la mutation *ebony* est responsable, à l'état homozygote, d'une moindre activité des mâles. Nous émettons l'hypothèse, dans une note précédente¹, que l'avantage hétérotique auquel on attribue parfois le maintien du gène *ebony* dans les populations mixtes pourrait consister partiellement en une plus grande activité des hétérozygotes, ce que certaines observations semblaient suggérer. Voici quelques précisions à ce sujet.

Matériel et techniques. Nous utilisons les souches *ee(e)* et ++(*e*) à cytoplasme *ebony e*¹, *ee(+)* et ++(+)² à cytoplasme *sauvage* Canton spécial obtenues par une méthode que nous avons déjà décrite. Pour l'expérimentation, nous employons cette fois des cages circulaires, d'un diamètre intérieur de 10 cm environ (elles étaient fabriquées par F. SCHOLLAERT, technicien au Laboratoire de Technologie Forestière de l'Institut Agronomique). Les individus utilisés étaient âgés de 4 à 5 jours. Les mesures d'activité portaient sur 50 couples vierges. Pour les tests d'isolation sexuelle, il était nécessaire de distinguer les hétérozygotes, qui phénotypiquement ne diffèrent pas

¹ A. A. ELEN, Exper. 13, 293 (1957).

des *sauvages*. Ceux de père *sauvage* – *+e* – étaient marqués d’une tache verte, ceux de père *ebony* – *e+* – d’une tache rouge au thorax, en se servant des «magic markers» des «Speedry Products» de Richmond Hill, N.Y., USA. Des expériences préalables avaient en effet montré que les accouplements se font au hasard entre mouches *sauvages* marquées de rouge et de vert, et que l’activité générale n’est pas affectée par le marquage. Dans l’avenir cependant, une couleur autre que le rouge serait à préférer, qui tranche mieux sur la couleur normale du thorax. Chaque mesure portait sur 25 couples vierges des quatre catégories *sauvages* (*++*), *ebony*(*ee*), hétérozygotes de père *sauvage* (*+e*), hétérozygotes de père *ebony*(*ee*), soit 100 couples au total.

	Table I							
	Cytoplasme (e)				Cytoplasme (+)			
	++	+e	e+	ee	++	+e	e+	ee
17°C	10	21	46	4	26	76	44	16
25°C	65	80	69	11	80	66	76	27
30°C	26	54	21	4	31	84	37	6

Résultats et discussion. La Table I relève le nombre de copulations observées pour 100 couples de chaque catégorie (décembre 1957), la Table II groupe les résultats de 8 tests de choix sélectif (mars 1958) portant au total sur 800 couples dans chacune des souches (*+*) et (*e*). Comme on pouvait s’y attendre d’après les expériences précédentes, les données de la Table II sont inconciliables avec l’hypothèse de la panmixie: les mâles *ee* se montrent bien moins actifs que les mâles *++*, d’autre part il semble bien y avoir, en certains cas tout au moins, un réel avantage hétérotique. En présence du cytoplasme (*e*) les hétérozygotes de père *sauvage* se montrent nettement plus actifs que les *++* eux-mêmes, tandis que les produits du croisement réciproque sont moins actifs. Par contre, dans l’autre lignée (*+*) à cytoplasme *sauvage*, ce sont plutôt les hétérozygotes de père *ebony* qui font montre d’une activité légèrement plus grande. Les données de la Table I permettent, une fois de plus, d’attirer notre attention non seulement sur l’importance du sens du croisement, mais encore sur la relativité de la notion d’hétérosis en fonction des conditions physiques. A basse température les hétérozygotes – quelque soit le sens du croisement – sont toujours plus actifs que les *sauvages*, mais il n’en va pas nécessairement de même aux températures plus élevées. Il n’est pas sans intérêt de signaler ici qu’à 25°C, lors du croisement des deux souches originales *sauvage* Canton spécial et *ebony e¹¹*, nous avons jadis obtenu 76% de copulations pour les hétérozygotes de père *sauvage*, 62% pour ceux de père *ebony*, 60% pour les homozygotes *sauvage* et 20% pour les *ebony*, tandis qu’à 17°C et 30°C les hétérozygotes se montraient toujours plus actifs, quel que soit le sens du croisement (avril 1957). En septembre 1956, nous obtenions, à 25°C: 32% pour les *ebony*, 52% pour les *sauvages*, et 70% pour les deux hétérozygotes. Toutes ces données ne sont évidemment pas rigoureusement comparables, puisqu’il est évident que le niveau général d’activité varie au cours du temps: en septembre 1956, avril 1957, décembre 1957, mars 1958 nous trouvons

respectivement 72%, 56%, 77% et 42% pour les lignées à cytoplasme (*e*), 57%, 62%, 65% et 32% pour les lignées à cytoplasme (*+*). Les activités relatives peuvent aussi varier, ainsi que le montre la comparaison de la Table II avec les données de la Table I relatives à 25°C. Il serait donc souhaitable de pouvoir procéder à des mesures régulières de l’activité sexuelle pendant une durée assez longue.

Est-il possible à partir de ces résultats de tirer quelques conclusions relatives aux populations artificielles? Les conditions des cages où nous observons le comportement sexuel ne sont pas exactement celles des élevages, où l’activité sexuelle est loin de se restreindre à ce que nous en voyons pendant les deux premières heures. Cependant, même si l’activité des mâles *ebony* demeure constante ou même s’élève pendant les jours qui suivent la mise en route de l’élevage, la très grande supériorité des mâles *sauvage* pendant les deux premières heures pourrait contribuer à expliquer la diminution si rapide de la proportion d’*ebony* dès les premières générations.

Quant au maintien en équilibre du gène *ebony*, dans les générations suivantes, en quelle mesure peut-il dépendre d’une plus grande activité sexuelle des hétérozygotes? Certainement pas de façon exclusive, ainsi que L’HÉRITIER et TEISSIER l’ont montré depuis longtemps². La concurrence larvaire est aussi un facteur important. Cependant les résultats des expériences d’élevage sont assez en accord avec nos observations sur l’activité sexuelle. Pour des populations composées au départ de 20 couples vierges *ebony e¹¹* et 20 couples vierges *sauvages* Canton special, la proportion d’*ebony* se stabilisa aux environs de 8% à 30°C, de 6% à 25°C, de 18% à 17°C. Or, d’après les tests d’activité sexuelle, c’est surtout à basse température, et aussi, dans une moindre mesure, à 30°C que se manifeste la supériorité des hétérozygotes, tandis qu’à 25°C, seuls ceux de père *sauvage* semblent avantagés. Ces élevages – selon la méthode de BUZZATI-TRAVERSO³ – concernaient les souches *e¹¹* et Canton spécial. D’autres – selon la technique de REED⁴ – eurent comme point de départ les lignées à cytoplasme (*e*) et (*+*) sélectionnées après 12 générations de croisements répétés dans le même sens. A 30°C la population ne put se maintenir dans aucun cas. A 25°C la stabilisation se fit aux environs de 2% pour les lignées (*e*), de 4% pour les lignées (*+*); à 17°C vers 9% dans les deux cas. Contrairement à ce qu’on aurait pu attendre, les différences cytoplasmiques n’influencent donc guère, ou même pas du tout, le niveau d’équilibre. Ce qui signifie peut-être que ces différences, assez nettes, comme le montrent les tests d’activité sexuelle, après 30, ou même 12 générations de croisements répétés dans le même sens, disparaissent tout simplement lorsqu’*ebony* et *sauvages* se trouvent à nouveau réunis dans une même population.

A. A. ELENS

Laboratoire de Génétique générale, Institut Agronomique de l’Université de Louvain, le 23 avril 1958.

² PH. L’HÉRITIER et G. TEISSIER, C. R. Soc. Biol. 124, 880 (1937).
³ A. BUZZATI-TRAVERSO, Mem. Ist. ital. Idrobiol. 4, 41 (1947).
⁴ S. REED in M. DEMEREC, Biology of Drosophila (Wiley & Sons, London 1950).

♀	♂ ++					♂ +e					♂ e+					♂ ee				
	++	+e	e+	ee	Total	++	+e	e+	ee	Total	++	+e	e+	ee	Total	++	+e	e+	ee	Total
Cytopl. (e)	30	27	16	19	92	44	50	35	24	153	25	24	19	16	84	6	2	2	2	12
Cytopl. (+)	22	22	18	21	83	10	26	16	23	75	14	37	18	26	95	0	1	2	1	4

Summary

Whereas in homozygous state the gene *ebony* noticeably diminishes the sexual activity of the males, it can on the contrary increase it in heterozygous state; but this heterotic effect depends in a large measure on the direction of the crossing, and also on the genic and cytoplasmic context. It depends moreover on the temperature.

The role of this activity in the populations where *ebony* is made to compete with its normal allele is discussed briefly.

Über den Intermediär-Stoffwechsel von *Aspergillus niger*

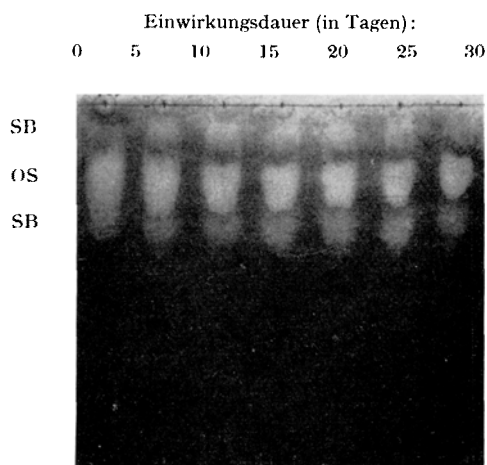
Aspergillus niger vermag alle Zwischenglieder des Tri-carbonsäurezyklus zu metabolisieren, so dass bei ihm der Ablauf des KREBSschen Abbauschemas als gesichert erscheint. Daneben sind aber noch andere Reaktionsmöglichkeiten in Erwägung zu ziehen.

So produziert der Pilz unter geeigneten, für das Wachstum wenig günstigen Bedingungen bekanntlich in erheblicher Menge Zitronensäure. Diese Anreicherung eines einzelnen Metaboliten muss offenbar als pathologisch, als Störung des normalen Ablaufes des KREBS-Zyklus gedeutet werden¹. Die Arbeiten von RAMAKRISHNAN *et al.*² haben in Verfolgung derartiger Überlegungen gezeigt, dass während des Gärablaufes die Aktivität des «condensing enzyme» eines zitronensäureaktiven *A. niger*-Stammes ansteigt, diejenige der Aconitase und der Isocitricodehydrase dagegen erheblich absinkt, um schliesslich völlig zu verschwinden. Nach Verbrauch der dargebotenen Kohlenhydrate (zum Beispiel Glucose) ist der gleiche Organismus befähigt, die primär gebildete Zitronensäure wieder in den Stoffwechsel einzubeziehen; dies erfolgt – wie eigene sowie die Versuche anderer Autoren gezeigt haben³ – auch in Gegenwart des Aconitasehemmstoffes Fluoressigsäure.

Besondere Erwägung verdient weiterhin die Tatsache, dass der Schimmelpilz auf Acetat – wie auch in Gegenwart anderer C₂-Verbindungen – als einziger Kohlenstoffquelle zu wachsen bzw. diese Stoffe zu metabolisieren in der Lage ist⁴. Gemäss KORNBERG und COLLINS⁵ ist der von KORNBERG und KREBS⁶ nach Untersuchungen vor allem an *Pseudomonas* aufgestellte «Glyoxylsäurezyklus» offenbar auch für den Umsatz von Acetat durch *A. niger* verantwortlich zu machen. Die Synthese von Zellmaterial aus C₂-Verbindungen würde durch diese Reaktionsfolge (Acetat → Glyoxylsäurezyklus → Malat → umgekehrte Glykolyse → Kohlenhydrat) auf diese Weise eine plausible Erklärung finden.

In diesem Zusammenhang scheinen einige Ergebnisse unserer Untersuchungen zum Säureabbau verschiedener Säuren durch vorgebildete, entsprechend vorbereitete Myzeldecken von *A. niger* von Interesse zu sein. Oxalsäure wird zum Beispiel vom Myzel in geeigneter Konzentration (1%) nur in Gegenwart einer anderen Kohlenstoff-

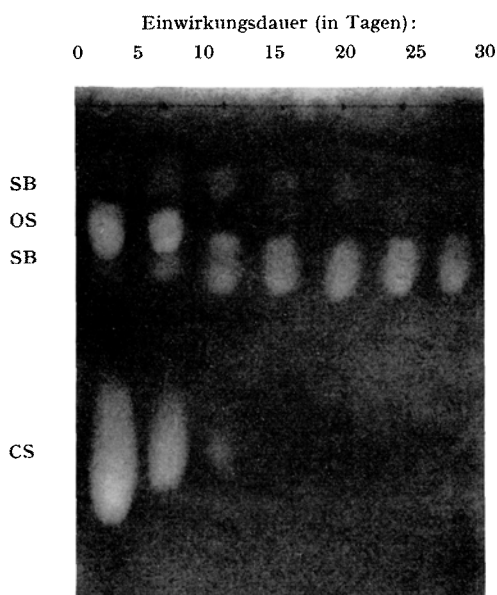
quelle (zum Beispiel Zitronensäure, Bernsteinsäure), nicht dagegen als Einzelkomponente umgesetzt (Abb. 1 und 2)⁷. Einen andersartigen Befund erhält man bei Verwendung von Malonsäure. Der Pilz vermag dieselbe so-



Erläuterungen. OS: Oxalsäure; SB: Saure Bestandteile (Salze) der Nährlösung

Abb. 1. Chromatogramm der sauren Bestandteile einer mit *A. niger* (Myzeldecke) bebrüteten Lösung der notwendigen Nährsalze unter Zusatz von 10⁻¹ Mol/l Oxalsäure

wohl in Gegenwart einer anderen Kohlenstoffquelle (zum Beispiel Zitronensäure, Bernsteinsäure) wie auch allein abzubauen (Abb. 3 und 4); im letzteren Falle erfolgt dies allerdings wesentlich verlangsamt.



Erläuterungen. OS: Oxalsäure; CS: Zitronensäure; SB: Saure Bestandteile (Salze) der Nährlösung

Abb. 2. Chromatogramm der sauren Bestandteile einer mit *A. niger* (Myzeldecke) bebrüteten Lösung der notwendigen Nährsalze unter Zusatz von 3% Zitronen- und 10⁻¹ Mol/l Oxalsäure

¹ Vgl. K. TÄUFEL und H. RUTTLÖFF, Ernährungsforsch. 1, 271 (1956); Nahrung 1, 303 (1957).

² C. V. RAMAKRISHNAN, R. STEEL und C. P. LENTZ, Arch. Biochem. Biophys. 55, 270 (1955).

³ E. JENEY und T. ZSOLNAI, Zbl. Bakteriologie, I, Orig. 168, 453 (1957).

⁴ K. BERNHAUER und Z. SCHEUER, Biochem. Z. 253, 11 (1932). – T. CHRZASZCZ und M. ZAKOMORNY, Biochem. Z. 285, 340 (1936).

⁵ H. L. KORNBERG und J. F. COLLINS, Biochem. J. 68, 3 P (1958).

⁶ H. L. KORNBERG und H. A. KREBS, Nature (London) 179, 988 (1957).

⁷ Vgl. A. ALLSOPP, J. exp. Bot. 1, 71 (1950). – H. MÜLLER, Arch. Mikrobiol. 15, 137 (1950).