

The difference in the response of frog and snail hearts to variations in calcium concentration does not seem to be due to a fundamental difference in the action of calcium on the respective myocardia. The effect of calcium on both contraction rate¹⁰ and strength of contraction¹¹ in the frog is similar to that in *Helix*. The only striking difference is in the effects of calcium on the 'tone' of the heart.

In an electrically driven frog ventricle increases in calcium concentration are not followed by increases in resting tension, but the peak tension of the contraction is increased and the contraction is prolonged¹². In the spontaneously contracting frog heart the increase in 'tone' is due to fusion of succeeding contractions. In *Helix* ventricle the contractions never fuse. The simultaneous decrease in contraction rate is sufficient to keep each contraction separate.

According to the hypothesis of JULLIEN et al.^{14–16} the action of calcium in *Helix* ventricle is to stabilize the muscle fibre membrane by promoting the binding to the membrane of an unknown compound in an oxidised state that is an intermediary in the oxidative metabolism of the cell, and which has an inotropic effect when released into the perfusion fluid where it is reduced. With calcium-rich solutions the compound is firmly bound to the membrane and the inotropic action is absent, leading to 'diastolisation'. This action is antagonised by potassium, so that with low-calcium concentrations the action of potassium predominates, causing release of the compound and leading to 'systolisation'.

This hypothesis fails to account for the increase in tension with high-calcium concentrations which do not produce total failure, and for the fact that it is the resting tone that is increased by calcium-deficiency (contracture), whilst the individual contractions are usually smaller. An alternative explanation is that calcium-rich solutions decrease the excitability of the membrane by hyperpolarizing it, causing the contraction rate to be reduced.

The second (and independent) action of calcium is an inotropic one and is seen as long as spontaneous contractions persist. With calcium-deficient solutions the reverse would occur. A degree of depolarisation might be produced, making the membrane more excitable, and also producing contracture.

In the frog, low-calcium concentrations abolish contractility, electrical potentials still being recorded when contractions have ceased¹⁰. Thus if the myocardium is completely unable to contract no contracture is possible.

It seems that a higher concentration of calcium is needed to preserve contractility in the frog heart than in *Helix* ventricle. The high intracellular concentration of calcium in *Helix* ventricle might help to preserve contractility under conditions of severe calcium depletion.

Zusammenfassung. Untersuchungen über den Einfluss von Veränderungen der Calciumkonzentration auf die spontane *Helix*-Herzkamertätigkeit weisen darauf hin, dass Calcim hier keine Wirkung ausübt, die von seiner Wirkung auf Muskelgewebe im allgemeinen grundverschieden ist. Hochkonzentierte Calciumlösungen steigern die Kontraktionsspannung und bei höchsten Konzentrationen kann die Muskelregbarkeit abnehmen, während schwachkonzentierte Calciumlösungen die Muskelregbarkeit erhöhen.

D. H. PAUL

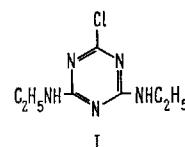
Department of Zoology and comparative Physiology, University of Birmingham (England), April 21, 1961.

¹⁴ J. RIPPLINGER and M. JOLY, C. R. Soc. Biol. 149, 969 (1955).

¹⁵ A. JULLIEN, J. RIPPLINGER, and M. JOLY, Ann. Sci. Univ. Besançon, 2e série, fasc. 5, 67 (1956).

¹⁶ J. RIPPLINGER, Ann. Sci. Univ. Besançon, 2e série, fasc. 8, 3 (1957).

auf: (a) Schmelzpunkt: 159–162°C (Zers.). (b) Analyse⁶: gef. C: 50,99%; H: 4,47%; N: 6,59%; OCH₃: 14,69%. Für C₉H₉NO₅ ber. C: 51,18%; H: 4,30%; N: 6,63%; OCH₃: 14,70%. (c) Papierchromatographie: Whatman No. 4; absteigend; FeCl₃ als Entwicklungsreagens. Lösungsmittelgemisch: n-Butanol: Essigsäure: Wasser = 8:2:2, Rf-Wert: 0,83, Färbung: violett; Lösungsmittelgemisch: n-Propanol: NH₃(25%) = 7:3, Färbung: keine. (d) UV-Spektrum⁶: Lösung von 10 µg Substanz/ml Wasser: λ_{max} 262,5 mµ. (e) UV-Spektrum nach Kochen in Wasser⁶: Lösung von 10 µg Substanz/ml Wasser: λ_{max} 227,5 und 286,0 mµ.



¹ A. GAST, E. KNÜSLI and H. GYSIN, Exper. 12, 146 (1956).

² W. ROTH, C. R. Acad. Sci. 245, 942 (1957).

³ M. MONTGOMERY and V. H. FREED, Res. Prog. Report, Western Weed Control Conference, p. 93 (1959).

⁴ M. T. H. RAGAB and J. P. MC COLLUM, Weeds 9, 72 (1961).

⁵ W. ROTH, *Recherches sur l'action sélective de substances herbicides du groupe des triazines*, Thèse Université de Strasbourg (1958), im Druck.

⁶ Wir danken dem Analytischen Laboratorium der J. R. Geigy AG. für die Ausführung dieser Bestimmungen.

Beitrag zur Kenntnis der Resistenzphänomene einzelner Pflanzen gegenüber dem phytotoxischen Wirkstoff Simazin

Die phytotoxischen Verbindungen vom Typ des Simazins, 2-Chlor-4,6-bis-äthylamino-s-triazin, zeichnen sich durch eine ausgeprägte Wirkungslücke gegenüber Mais und verwandten Pflanzen aus und sind daher hervorragend zum selektiven Einsatz in dieser Kultur geeignet¹. Es konnte gezeigt werden², dass Maispreßsaft befähigt ist, Simazin auf noch nicht genau abgeklärte Art abzubauen. Als Endprodukt des Abbaus in der intakten Maispflanze konnte in mit radiomarkiertem Simazin ausgeführten Versuchen Kohlendioxyd nachgewiesen werden, das den Tracer-Ringkohlenstoff enthielt^{3,4}.

Da der Maispreßsaft nach zweistündigem Erhitzen auf 80°C mit Simazin nicht mehr reagiert, schloss man zunächst auf eine enzymatische Natur dieses abbauenden Prinzips. Später konnte dann aber mittels eines Arbeitsganges, der die pflanzlichen Phenole erfassen sollte, aus Maispreßsaft eine Fraktion isoliert werden, die *in vitro* mit Simazin zu reagieren vermochte⁵.

Nach längerem Stehen dieser Fraktion, die im Papierchromatogramm schon recht einheitlich erschien, schied sich ein Kristallatisat ab, das durch Umkristallisation aus Methanol in schwach rosa gefärbte Prismen übergeführt werden konnte. Diese wiesen die folgenden Eigenschaften

Bei der Durchsicht der Arbeiten über die Isolierung von Inhaltsstoffen des Mais lenkte sich unsere Aufmerksamkeit auf eine kürzlich von VIRTANEN et al.⁷⁻¹³ bearbeitete Substanzgruppe. Ausgehend von der fungiziden Aktivität des Benzoxazolons⁷ sowie des 6-Methoxybenzoxazolons⁸, isoliert aus Roggen bzw. Mais und Weizen, fanden sie, dass diese Körper in Wirklichkeit Artefakte sind. Die in den Pflanzen vorkommenden Prekursoren sind Glucoside, denen die Konstitution (II) zukommt. Durch Enzymeinwirkung bildet sich beim Zerstören des pflanzlichen Gewebes das entsprechende Aglucon (III), das unter Hitzeeinfluss in das Benzoxazolon (IV) übergeht⁹⁻¹²:

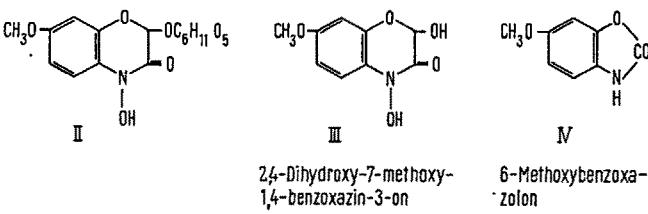
Die oben aufgezählten Charakteristika der von uns aus Mais isolierten, offensichtlich mit Simazin (I) interferierenden Substanz $C_9H_9NO_5$ lassen auf Identität mit (III) schliessen.

Die Fähigkeit dieses 2,4-Dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-ons (III), mit Simazin (I) reagieren zu können, wurde in folgendem Versuch bestätigt: 2,5 mg der Verbindung III wurden in 10 ml Phosphatpuffer pH 3,6 (0,15 m) gelöst und mit 0,1 mg Simazin, das seinerseits in 25 ml Wasser gelöst war, versetzt. Nach vier-tägigem Aufbewahren des Reaktionsgemisches im Dunkeln bei Raumtemperatur wurde das unveränderte Simazin mit Chloroform extrahiert, mit Schwefelsäure zu Hydroxy-Simazin hydrolysiert und die Extinktion des Kations dieser Substanz bei $240 \text{ m}\mu$ gemessen⁶. Es konnten nur noch 15% des eingesetzten Simazins aufgefunden werden. Demgegenüber war im entsprechenden Kontrollversuch ohne Zugabe von (III) noch sämtliches Simazin unverändert vorhanden.

Gleiche Umsetzungsrationen wurden auch erhalten, wenn an Stelle von 2,4-Dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-on das 2,4-Dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-on oder die beiden entsprechenden Glucoside eingesetzt wurden¹⁴. Verbindungen vom Typ der Benzoxazolone (IV), wie sie durch Erhitzen der 2,4-Dihydroxy-benzoxazinone entstehen, vermögen mit Simazin nicht zu reagieren; die eingangs erwähnte Hitzeempfindlichkeit der Abbauaktivität des Maispreßsaftes findet damit ihre Erklärung.

VIRTANEN fand in den Pflanzen Glucosidgehalte von Promille-Größenordnung¹³; demgegenüber liegen die in den Pflanzen gefundenen Simazinmengen in der Größenordnung eines hundertstel Promilles, so dass das in den Abbauversuchen eingesetzte Verhältnis ungefähr dem natürlichen entsprechen dürfte.

Die genauen Zusammenhänge der Interferenz von Simazin und ähnlichen Verbindungen mit Substanzen vom Typ II und III bedürfen noch weiterer Abklärung. Widerspruchsvoll erscheint zunächst die Tatsache, dass Substanzen vom Typ II und III auch aus Pflanzen wie Weizen und Roggen isoliert wurden, die gegen Simazin relativ empfindlich sind. Abgesehen davon, dass ihr Gehalt unter den einzelnen Pflanzenspecies und sogar Sorten variieren kann und sich auch mit dem Entwicklungsstadium der Pflanzen ändert¹³, zeigen zum Beispiel neuere Untersuchungen, dass der Mais seine aussergewöhnliche Resistenzfähigkeit gegenüber Simazin nicht nur der



Fähigkeit, diesen Wirkstoff abzubauen, verdankt. Diese ist auch andern Pflanzen eigen^{4,15,16}. Als weiterer wichtiger Faktor wurde aber gefunden, dass der Mais in manchen Fällen relativ weniger Simazin aufnimmt als andere Pflanzen^{5,15}; so dürfte ein günstiges Verhältnis der Menge des vorhandenen abbauenden Systems zur aufgenommenen Menge des abzubauenden Substrates das Auftreten phytotoxischer Konzentrationen verhindern. Ferner scheint es, dass noch weitere, anders geartete physiologische Systeme existieren, die eine Resistenz gegenüber Triazinherbiziden bedingen können. Untersuchungen in diesen Richtungen sind im Gange.

Summary. 2,4-Dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one (III), isolated from corn sap, detoxifies the herbicide Simazine, 2-chloro-4,6-bis-ethylamino-s-triazine, *in vitro*. 2,4-Dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-one and the corresponding natural precursors of it and of (III), glucosides, behave in the same manner. It is very likely, therefore, that these glucosides and aglucones play a role in the resistance phenomena of some plant species against Simazine and related phytotoxic compounds. 6-Methoxybenzoxazolone and benzoxazolone, derived from the abovementioned benzoxazinones by heating, do not interfere with Simazine.

W. ROTH und E. KNÜSLI

*Wissenschaftliche Laboratorien der J. R. Geigy A.G., Basel,
14. April 1961.*

- 7 A. I. VIRTANEN und P. K. HIETALA, Acta chem. scand. 9, 1543 (1955).
 - 8 A. I. VIRTANEN, P. K. HIETALA und O. WAHLROOS, Suomen Kemist. B 29, 143 (1956).
 - 9 O. WAHLROOS und A. I. VIRTANEN, Acta chem. scand. 13, 1906 (1959).
 - 10 A. I. VIRTANEN und P. K. HIETALA, Acta chem. scand. 14, 499 (1960).
 - 11 P. K. HIETALA und A. I. VIRTANEN, Acta chem. scand. 14, 502 (1960).
 - 12 E. HONKANEN und A. I. VIRTANEN, Acta chem. scand. 14, 504 (1960).
 - 13 A. I. VIRTANEN, Angew. Chemie 70, 544 (1958).
 - 14 Wir sind Herrn Prof. A. I. VIRTANEN für die freundliche Überlassung von Mustern dieser Substanzen zu grossem Dank verpflichtet.
 - 15 D. E. DAVIS, H. H. FUNDERBURK, jr., und N. G. SANSING, Weeds 7, 300 (1958).
 - 16 T. J. SHEETS, Weeds 9, 1 (1961).

Electronmicrographs on the Plastids in the Root of *Azolla imbricata*

Plastid structures of higher plants have been previously investigated in detail with the light microscope as well as with the electron microscope. As to the chloroplasts of higher plants, it is generally recognized that they consist of the grana, which contain the pigment, and of a colour-

less stroma¹. However, in the chloroplasts of lower plants, e.g. some algae (*Euglena*, *Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Spirogyra*, *Nitella*, and *Fucus*)^{2,3}, the defined grana structures are not observed, but the lamellae are fairly well ordered³.

- ¹ E. STEINMANN and F. S. SJÖSTRAND, *Exp. Cell Res.* 8, 15 (1955).
² D. VON WETTSTEIN, *Hereditas* 43, 303 (1957).
³ A. J. HODGE, J. D. MCLEAN, and F. V. MERCER, *J. biophysic. biochem. Cytol.* 1, 605 (1955).