

Anorganisches Phosphat wurde nach ROCKSTEIN und HERRON¹¹, Protein nach STRAUCH¹² bestimmt. Der zeitliche Verlauf der Superpräzipitation und die damit verbundene Turbiditätszunahme wurde bei 550 nm gemessen.

Resultate. Die Figur zeigt die Ionenstärkeabhängigkeit der Magnesium-aktivierten ATPase- und ITPase-Aktivitäten von Herz- und Skelettmuskelaktomyosin.

Bei Erhöhen der Ionenstärke über 0.1 μ fällt die ATPase-Aktivität sehr viel stärker ab als die ITPase-Aktivität. Deshalb ist bei physiologischer Ionenstärke auch die ITPase-Aktivität von Herzmuskelaktomyosin höher als die ATPase-Aktivität (vgl. MUIR et al.¹³).

Bei Ionenstärken unter 0.1 μ verhalten sich die ITPase- und ATPase-Aktivitäten von Aktomyosin in ihrer Ionenstärkeabhängigkeit völlig verschieden. Die ITPase-Aktivität, die zwischen 0.08 und 0.1 μ ihr Optimum erreicht, fällt nämlich im Gegensatz zur ATPase-Aktivität nicht nur bei Erhöhung der Ionenstärke (über 0.1 μ), sondern auch bei Senken der Ionenstärke (bis etwa 0.03 μ). Dieser Aktivitätsabfall bei geringer Ionenstärke ist bei «natürlichem Aktomyosin» (NAM) wesentlich stärker als bei «desensibilisiertem Aktomyosin» (DAM), das von Tropomyosin B und dem Troponinkomplex gereinigt ist.

Wir haben deshalb geprüft, ob Tropomyosin B, das die Magnesium-aktivierte ATPase-Aktivität nicht hemmt⁹, für die biphasische Ionenstärkeabhängigkeit der ITPase-Aktivität verantwortlich ist. Die Magnesium-aktivierte ITPase von DAM kann durch Beimischung von Tropomyosin B um maximal 40% gehemmt werden (halbmaximale Hemmwirkung bei einem Mischverhältnis von 1 Teil Tropomyosin B auf 10 Teile DAM von Skelett-

muskel). Diese Hemmwirkung ist von der Ionenstärke abhängig: Bei sehr kleiner Ionenstärke wird die stärkste Hemmung erreicht, bei Ionenstärken über 0.06 μ hemmt Tropomyosin B die Magnesium-aktivierte ITPase-Aktivität nicht mehr (siehe Tabelle).

Auch die Superpräzipitation von DAM (des Herzmuskels) mit ITP als Substrat wird durch Beimischung von Tropomyosin B gehemmt, d. h. der Anstieg der Extinktion bis zur Hälfte des Endwertes wurde statt nach 40 sec erst nach 60 sec nach Zugabe von Magnesium-ITP erreicht.

Folgerung. Unter bestimmten Versuchsbedingungen konnten wir eine Hemmwirkung des Tropomyosin B auf die Aktin-Myosin-Interaktion nachweisen. Diese Ergebnisse sprechen für die oben erwähnte Hypothese, dass die kontraktile Aktivität der Myofibrille von Herz- und Skelettmuskel durch den Troponinkomplex indirekt über das Tropomyosin B erfolgen könnte.

Summary. The ionic strength dependence of the magnesium-activated actomyosin ITPase activity (of heart and skeletal muscle) is distinctly different from that of the magnesium-activated ATPase activity. The former is inhibited by lowering the ionic strength below 0.1 μ , an effect which can be attributed to an ionic strength dependent inhibitory action of tropomyosin B.

W. A. HÄCKER¹⁴

*Institut für Zellphysiologie der Ruhr-Universität.
Abt. f. Zellphysiologie, Gebäude ND/4.O.G.,
D-463 Bochum-Querenburg (Deutschland),
12. Dezember 1972.*

Hemmwirkung des Tropomyosin B auf die Magnesium-aktivierte ITPase-Aktivität von DAM^a Abhängigkeit von der Ionenstärke (ohne Berücksichtigung der Basisionenstärke des Testansatzes)

Tropomyosin B (μ g) ^b	50	100	200	300	400	500	600
Ionenstärke 0.00	25	33	40	41	42	43	44
Ionenstärke 0.06	0	0	0	0	0	4	0

^a In % auf 1 mg Aktomyosin im Testansatz. ^b 100% jeweiliger Testansatz ohne Tropomyosin B.

¹⁰ M. C. SCHAUB und S. V. PERRY, *Biochem. J.* 123, 367 (1971).

¹¹ M. ROCKSTEIN und P. W. HERRON, *Analyt. Chem.* 23, 1500 (1951).

¹² L. STRAUCH, *Z. klin. Chem.* 3, 165 (1965).

¹³ J. R. MUIR, A. WEBER und R. E. OLSON, *Biochem. biophys. Acta* 234, 199 (1971).

¹⁴ Herrn Prof. Dr. J. C. RÜEGG danke ich für viele wertvolle Diskussionen und das kritische Durchlesen des Manuskriptes. Ebenso bin ich Herrn Dr. M. C. SCHAUB für viele hilfreiche Diskussionen und die Mitteilung unveröffentlichter Resultate zu Dank verpflichtet. Fräulein L. MINTERT und meine Frau GERALDINE möchte ich auf Grund der ausgezeichneten technischen Assistenz lobend hervorheben.

Alarm Pheromone of Grain Aphids

KISLOW and EDWARDS¹ reported that several species of aphids are repelled by the odour of droplets released from their cornicles. We were interested in finding out the structure of the pheromone(s) involved. In a personal communication SIDDALL² informed us that the structure

of the alarm pheromone of the green peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer), studied by KISLOW and EDWARDS, is that of β -farnesene. BOWERS et al.³ identified *trans*- β -farnesene as the alarm pheromone of the rose, pea, greenbug and cotton aphids, respectively *Macrosiphum*

Table I. Relative intensities of the 10 most abundant ions in the mass spectra of the alarm pheromone of several species of aphids (parent peak M = 204)

m/e	133	93	81	79	69	67	55	53	41	39
alarm pheromone of:										
<i>Sitobion avenae</i>	19	52	18	19	100	20	20	18	80	17
<i>Rhopalosiphum padi</i>	16	49	18	18	100	19	21	15	85	17
<i>Metopolophium dirhodum</i>	17	50	18	19	100	20	20	14	84	17
<i>Myzus persicae</i>	16	48	17	18	100	19	19	14	82	13
Synthetic β -farnesene ⁴	17	50	18	19	100	20	20	15	85	16

rosae (L.), *Acyrtosiphon pisum* (Harris), *Schizaphis graminum* (Rondani) and *Aphis gossypii* (Glover). After SIDDALL's communication we wondered whether also grain aphids possess an alarm pheromone, and if so, what its structure might be.

In collaboration with Dr. D. HILLE RIS LAMBERS (Aphid Research TNO, Bennekom) we set up mass cultures of the grain aphids *Macrosiphum* (*Sitobion*) *avenae* F., *Rhopalosiphum padi* L., *Metopolophium dirhodum* Wlk. and of the green peach aphid *Myzus persicae* Sulzer.

The grain aphids were reared on wheat plants and the green peach aphid on radish plants at temperatures of 20–25°C under long day conditions (18 h light).

By irritating the insects they can all be made to produce droplets from their cornicles. Insects of the same species react to these droplets by waving their antennae, cessation of sucking and taking to flight. In cross reactions an aphid species reacts also to cornicle droplets of any of the other species investigated.

The droplets were collected by immersing the aphids in hexane. About 10 sec after immersion the aphids released their droplets. Using this method it was not necessary to homogenize the aphids.

The hexane extracts were biologically active not only towards the corresponding species, but also in cross reactions towards the other aphid species. Concentrated hexane extracts were directly subjected to gas chromatography. 3 different stationary phases were used, viz. 5% OV-101, 5% OV-225 and 5% OV-17 at 140°C. All 4 aphid extracts were found to contain a compound having exactly the same retention index as synthetic β -farnesene⁴ (RI = 1435 on OV-101; RI = 1607 on OV-225 and RI = 1535 on OV-17). Gas chromatographic fractions were collected by cooling capillary tubes with liquid nitrogen.

In the bioassay method described by BOWERS et al.³, the fractions containing the above-mentioned compound

were biologically active towards the grain aphids as well as the green peach aphid. Similar results were obtained with synthetic β -farnesene. To elicit a comparable reaction, somewhat less farnesene was needed for *R. padi* and somewhat more for *S. avenae* than for *M. dirhodum* and *M. persicae*.

Samples of the hexane extracts were also injected into the combined gas chromatograph-mass spectrometer LKB 9000 (5% OV-225, 140°C; 70 eV)⁵. The mass spectra of the alarm pheromones of *Sitobion avenae*, *Rhopalosiphum padi*, *Metopolophium dirhodum* and *Myzus persicae* are identical to that of β -farnesene (parent peak $M = 204$). The results of the gas chromatography-mass spectrometry are given in Table I. Table II summarizes our results and those of KISLOW and EDWARDS¹, and of BOWERS et al.³.

Zusammenfassung. In den Getreideblattläusen *Rhopalosiphum padi*, *Metopolophium dirhodum* und *Macrosiphum* (*Sitobion*) *avenae* und in der grünen Pfirsichblattlaus *Myzus persicae* wurde β -Farnesen als das Alarmpheromon nachgewiesen.

W. H. J. M. WIJNTJENS, A. C. LAKWIJK and
T. VAN DER MAREL

Centraal Laboratorium TNO, P.O. Box 217 Delft
(The Netherlands), 5 January 1973.

¹ C. J. KISLOW, L. J. EDWARDS, *Nature*, Lond. 235, 108 (1972).

² J. SIDDALL, Zeecon Corporation, Palo Alto, California, personal communication.

³ W. S. BOWERS, L. R. NAULT, R. E. WEBB, S. R. DUTKY, *Science* 177, 1121 (1972).

⁴ The synthetic β -farnesene was a gift of Dr. J. SIDDALL, Zeecon Corporation Palo Alto, California.

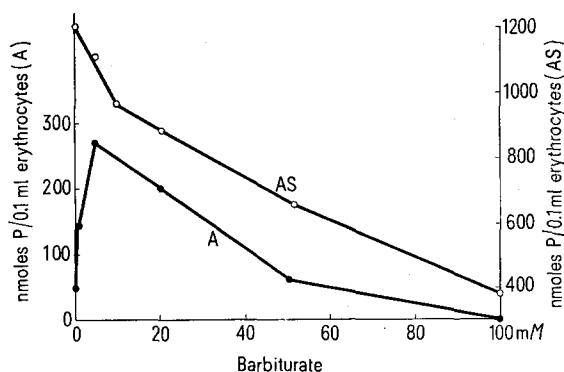
⁵ The mass spectra were run and interpreted in collaboration with Dr. E. TALMAN and Mr. S. J. SPIJK, Centraal Laboratorium TNO, Delft, The Netherlands.

Effect of Barbiturate on Mg^{++} -Dependent ATPase in Human Erythrocytes

A number of substances exerting their effect on the nerve tissue also influence the activity of Mg^{++} -dependent adenosine triphosphatase (ATPase) in the membrane of human erythrocytes. According to our previous observa-

tions, the activity of this enzyme changes in the presence of adrenaline, noradrenaline¹, glutamate, aspartate², pyridoxine and gammaaminobutyric acid³, serotonin, atropine, physostigmine and chlorpromazine⁴. The coverage of substances studied has been extended to barbiturate which is known to have suppressive effect on cerebral cortex and reticular activation system.

Materials and methods. Centrifuged fresh human erythrocytes were used throughout the experiments, hemolyzed in 4 mM ATP solution or 4 mM ATP in 0.025% saponin. Barbiturate and buffer were added to the hemolysates. Final concentrations of individual substances were as follows: 1.33 mM ATP, 0.2 M Tris buffer (tris(hydroxymethyl)aminomethane) at pH of 7.4, 2.65 mM $MgCl_2$ and 5×10^{-4} M ouabain. If added, final saponin concentration in the incubation medium was 0.008%. Final barbiturate concentration is given in results. The activity of Mg^{++} -dependent ATPase was expressed in nmoles of phosphate (P) split from the ATP added by 0.1 ml of packed erythro-



The activity of Mg^{++} -dependent ATPase in erythrocytes in the presence of barbiturate. The activity is expressed in nmoles P/0.1 ml of erythrocytes/1 h of incubation. The left-hand scale is for erythrocytes hemolysed by 4 mM ATP (A), the right one for erythrocytes hemolysed by 4 mM ATP in 0.025% saponin (AS).

¹ L. MIRČEVOVÁ and A. ŠIMONOVÁ, *Experientia* 25, 1028 (1969).

² L. MIRČEVOVÁ, A. ŠIMONOVÁ and Z. MOKRÝ, *Archs int. Physiol. Biochim.* 78, 953 (1970).

³ L. MIRČEVOVÁ and A. ŠIMONOVÁ, *Folia haemat., Zg.* 96, 81 (1971).

⁴ L. MIRČEVOVÁ and A. ŠIMONOVÁ, *Archs int. Physiol. Biochim.* 79, 903 (1971).