

Anatomical Structure of the Axis of *Arceuthobium minutissimum* Hook. f., the Smallest Dicotyledonous Plant

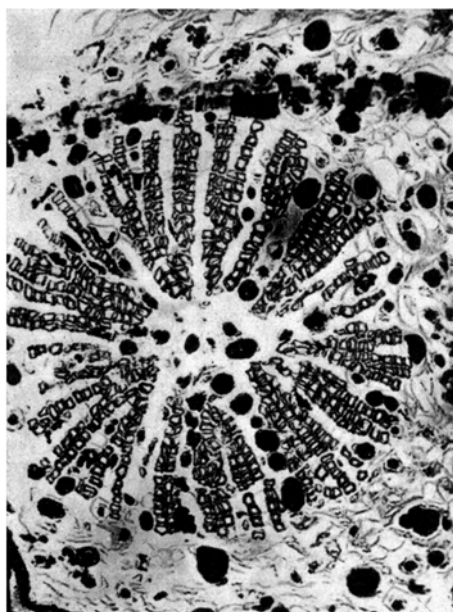
Arceuthobium minutissimum Hook. f. (*Arceuthobieae*), the most minute dicotyledonous plant, is endemic in India, and, according to HOOKER¹, it occurs as a leafless parasite restricted to a single host-species *Pinus excelsa* Wall., in the Kumaon Himalayas at an altitude of 10,700 ft. It exhibits perhaps the highest degree of adaptation to a parasitic mode of life known in the family *Loranthaceae*.

According to HOOKER¹, there is no stem but only an inconspicuous stock that ramifies within the bark which the minute branches perforate but scarcely rise above the surface, appearing as a 2-lipped cup, male flower sessile in the cup, 3–5-partite, female flower pedicelled. DATTA², however, found a hermaphrodite flower of this plant in which the positions of the cup, the petals, the minute pedicel, etc., were shown. The aerial shoot system is very much reduced, while the endophytic vegetative system is well-developed and mycelium-like, consisting of the strands and the sinkers, fuller details of which will form the subject matter of a separate communication.

In the course of the present investigation, the writer came across a few sections of the host bark containing transverse sections of the axis (the end portion of the minute pedicel of the female flower). The photomicrograph of the axis shows that xylem is more or less uniformly distributed in the form of radiating plates separated by medullary rays, which are generally 1 to 2 cells wide and are made up of non-lignified parenchyma cells. Ray cells, filled with taniferous compounds, are quite common. Xylem elements are represented by short-celled simple pitted tracheids. Vessels are completely absent. No distinct bundles are observed, but one broad and two narrower segments can be discerned which may, on careful observation, compare favourably with the Figure 287 B of *A. oxycedri*³. No phloem or phloem-like cells, or any fibre, were observed. There is a tendency to pith formation. Here the pith is made up of thin-walled rounded parenchyma cells, certain cells of which contain taniferous compounds. Outer tissues of the axis consist of thin-walled parenchyma and at places it shows a little meristematic activity, as is evident from their richer protoplasmic contents.

THODAY and JOHNSON⁴ refer to the vascular tissue of the aerial shoot of *A. pusillum* thus:—The groups of vascular tissue seen in T.S. bear a very close resemblance to sectors of an endophytic strand minus the large peripheral cells. The bulk of the group is composed of mixed xylem elements and living cells, while, on its outer margin, there are indications of meristematic activity here and there. Outside it again are cells some of which are elongated and tapering, although in contents and general characters the transition seems quite gradual from these to the typical cortical parenchyma. None of the cells show typical phloem characters. In L.S. most of the elements of the vascular strand are much longer than those of the endophytic strand. There are protoxylem elements, narrower tracheids pulled out in the reticulum. The oblique common end-walls of the tracheids often show a widening of the

reticulation to form several round pits, a feature less pronounced in the endophytic strand.



Transverse section of the axis of *Arceuthobium minutissimum* embedded in the host tissues.

Although this plant is most minute (more minute than *A. pusillum*), entirely parasitic, and much reduced in the scale of evolution within the genus *Arceuthobium*, it still exhibits a little similarity in the axis structure, when compared to its sister species *A. oxycedri*, which has well-developed aerial parts, although parasitic in nature.

In conclusion, I wish to offer my sincere and grateful thanks to Dr. S. P. AGHARKAR, Prof. of Botany (Retd), Calcutta University, under whose guidance, as a Ghose Research Scholar, I carried out this work.

R. M. DATTA

*Jute Agricultural Research Institute, Barrackpore,
24 Parganas, West Bengal, India, May 6, 1954.*

Zusammenfassung

Querschnitte der Achse zeigen, dass das Xylem nur aus kurzcelligen Tracheiden mit einfachen Tüpfeln besteht. Es ist mehr oder weniger gleichförmig in radiären Platten angeordnet und durch ein- bis zweicellige Markstrahlen getrennt, die Gerbstoffe enthalten. Anstelle ausgeprägter Leitbündel können ein breites und zwei schmale Segmente unterschieden werden. Phloem-elemente sind nicht vorhanden.

Weitere Untersuchungen zur Induktion von Keimblattveränderungen durch Röntgenstrahlen¹

In einer kürzlich erschienenen Mitteilung² wurde auf die Möglichkeit hingewiesen, Änderungen der Keimblatt-

¹ Sir J. D. HOOKER, *Flora of British India*, 5, 227 (1890).

² R. M. DATTA, *Nature* 167, 203 (1951).

³ Cf. C. R. METCALFE and L. CHALK, "Anatomy of the Dicotyledons" 2, 1191 (1950); 3, 1192 (1950).

⁴ D. THODAY and E. T. JOHNSON, *Ann. Bot.* 44, 393 (1930).

¹ Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

² B. HACCUS und E. REINHOLZ, *Naturwissenschaften* 40, 533 (1953).

Tabelle I

Dosis	Gekeimte Samen	Von den Embryonen waren:						
		dikotyl	synkotyl	anisokotyl	trikotyl		tetrakotyl	Mehrlinge
					t_r	t_u		
2000 r	2289	2259	35	14	38	15	2	1
in %	95,4				16,6	6,5		
4000 r	2334	2226	31	32	10	30	4	1
in %	97,3				4,3	12,8		
8000 r	557	517	11	13	—	16	—	—
in %	23,2					(28,7)		
16000 r	68	55	2	9	—	2	—	—
in %	2,8							
Kontrolle	2263	2259	—	1	3	—	—	—
in %	94,4				0,1			

Pro Serie wurden 2400 Samen angesetzt; t_r = regelmässig trikotyl; t_u = unregelmässig trikotyl.

zahl durch Röntgenbestrahlung frisch geernteter *Eranthis-hiemalis*-Samen herbeizuführen. Dieses Objekt gehört zu den Angiospermen mit «unvollständigen» Embryonen, das sind solche, die zur Zeit der Samenreife nur aus wenigen Zellen bestehen und noch keine Differenzierung in die charakteristischen Teile des Keimes aufweisen; ein in diesem Stadium vorgenommener Eingriff kann, wie gezeigt wurde, für Zahl und Gestaltung der Kotyledonen massgebend werden. Unsere weiteren Bemühungen gelten der Aufklärung des Wirkungsmechanismus. Die auf Ergebnisse von Parallelversuchen mit 2,4-D-Lösungen gestützte Arbeitshypothese, dass die Strahlung indirekt «durch Desorganisierung gewisser mit dem Wuchsstoffhaushalt zusammenhängender Stoffwechselprozesse wirke», wird zur Zeit an *Eranthis* geprüft. Das Ansetzen der Versuchsserien ist bei diesem Objekt jahreszeitlich gebunden und erfährt infolge der Schwierigkeiten, grössere Samenmengen zu beschaffen, eine gewisse Einschränkung. Auch ist die mehrjährige Pflanze, die im ersten Jahr nur ein einziges Laubblatt bildet, wenig geeignet, die Frage nach der genischen Bedingtheit der Synkotylie und Hyperdikotylie in Angriff zu nehmen.

Es wurde deshalb versucht, analoge Strahleneffekte an der annuellen Crucifere *Arabidopsis thaliana* (Rasse *Enkheim*), einem in der Genetik und Pflanzenphysiologie eingeführten Objekt¹, auszulösen, das neben der jahreszeitlichen Unabhängigkeit, der grossen Samenzahl und der Autogamie den Vorteil des synchronen Vorkommens der verschiedensten Embryostadien an einer einzigen, akropetal aufblühenden Infloreszenz besitzt. Bei *Arabidopsis* kann nur eine Bestrahlung der Embryonen auf der Mutterpflanze einen Erfolg in Aussicht stellen, weil im reifen Samen der Keimling bereits in Radicula, Hypokotyl, Plumula und Kotyledonen differenziert ist. Es wurden deshalb Infloreszenzen von intakten Pflanzen, die in ihrem basalen Abschnitt bereits Schoten trugen, also eine umfassende Skala von Entwicklungsstadien

¹ F. LAIBACH, Bot. Archiv 44, 439 (1943). – E. REINHOLZ, Fiat-Report Nr. 1006 (1947) und Naturwissenschaften 34, 26 (1947). – L. HÄRER, Fiat-Report Nr. 1090 (1947). – I. KUGLER, Fiat-Report Nr. 1094 (1947). – J. LANGRIDGE, persönliche Mitteilung. – H. J. OVERBECK, Wiss. Z. Univ. Greifswald, math.-nat. Reihe, Nr. 5 (1952/53). – F. G. GREGORY und G. G. HUSSEY, Proc. Linnean Soc. London 164, 137 (1953).

Tabelle II

Stellung der Schote	Kontrolle		2000 r		4000 r		8000 r		16000 r	
	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A
+ 2	7	—	5	—	9	—	10	—	—	—
+ 1	14	—	10	—	6	—	5	—	—	—
O*	7	—	2	—	13	—	16	—	—	—
– 1	14	—	14	—	13	1	19	1	1	—
– 2	22	—	18	2	39	5	17	—	—	—
– 3	10	—	25	1	25	3	21	—	—	—
– 4	12	—	11	1	44	6	39	3	—	—
– 5	20	—	14	1	36	3	77	10	—	—
– 6	15	—	13	1	70	14	9	2	2	2
– 7	28	—	103	17	53	15	37	15	—	—
– 8	198	—	91	19	42	12	21	13	1	—
– 9	40	—	10	1	63	25	29	17	—	—
– 10	93	—	18	2	82	18	12	7	—	—
– 11	120	—	15	2	76	24	3	—	1	—
– 12	110	—	14	—	152	3	2	—	—	—
– 13	98	—	18	—	88	—	1	—	—	—
– 14	24	—	45	—	68	—	7	—	—	—
– 15	32	1	28	—	31	—	15	—	1	—
– 16	72	—	69	—	90	—	2	—	3	—

G = Gesamtzahl der geprüften Keimlinge; A = Zahl der abnormen Keimlinge.

* Markierungsschote; Stadium, in dem sich die vergilbten Kelchblätter gerade ablösen.

aufwiesen, teils ohne, teils mit Bleiabdeckung der Blattrosette mit 2000 r, 4000 r, 8000 r und 16000 r bestrahlt (50 kVs, 1000 mA, 0,9 mm Al-Filter, 1000 r/min Dosisleistung in einem Focus-Objekt-Abstand von 59 cm).

Die Samen sämtlicher Schoten wurden, an der Mutterpflanze ausgereift, nach Dosen getrennt, gesammelt.

Neben einer grossen Zahl dikotyler Keimlinge kamen bei allen Bestrahlungsserien synkotype, anisokotype, trikotyle und vereinzelt tetrakotyle Sämlinge und Mehrlinge vor (Tab. I).

Die Auslösung von Keimblatt-Anomalien durch Röntgenstrahlen unter Anwendung der beschriebenen Methodik ist danach als sichergestellt zu betrachten. Ein nicht zu unterscheidender Effekt bei Embryonen von Pflanzen, deren Blattrosetten bleigeschützt bzw. ungeschützt waren, dürfte auf eine ausschliesslich lokale Beeinflussung hinweisen; eine regulatorische Funktion der unbestrahlten Bezirke scheint nicht stattzuhaben. Über die Dosisabhängigkeit der Aberrationsrate kann vorläufig keine Aussage gemacht werden. Eine solche könnte erst nach Einschaltung von Zwischendosen für den Bereich unter 8000 r erfolgen. Eine strenge Koordination gewisser Aberrationstypen zu bestimmten Röntgendosen besteht nicht. Für die Gruppe der auch genetisch besonders interessierenden Trikotylen, die spontan nur zu 0,2% (unter 18997 Kontrollpflanzen wurden 39 trikotyle gefunden) vorkommen, konnte die Feststellung gemacht werden, dass die Regelmässig-Trikotylen (t_1) – gleich starke Ausbildung aller 3 Kotyledonen – bei 2000 r dominieren, bei 4000 r nur noch selten gebildet werden und bei 8000 r ganz verschwinden, während die Unregelmässig-Trikotylen (t_2) mit Erhöhung der Dosis zunehmen. Es liegt nahe zu vermuten, dass der experimentell hervorgerufene Typus «trikotyl», der völlig symmetrisch gebaut ist und auch als häufigste Spontanabweichung vorkommt, seine Entstehung chemischen Umstimmungen in den bestrahlten Embryozellen verdankt, die bei niederen Dosen allein oder zumindest vorwiegend wirksam sind, während mit Zunahme der Ionisationsakte Zellschäden auf direktem biophysikalischem Weg entstehen, die sich dem chemischen Effekt überlagern und zu unregelmässigem Wachstum führen.

Um zu prüfen, ob Beziehungen zwischen dem beeinflussten Embryostadium und der Ausbildung des Keimblatt-Typus bestehen, sind Versuche an *Eranthis* im Gange¹. Wurden die Samen der Schoten verschiedener Etagen des Blütenstandes von *Arabidopsis*-Pflanzen getrennt auf die Abnormitäten ihrer Keimlinge geprüft, so konnte an dem allerdings erst kleinen Untersuchungsmaterial eine Relation zwischen bestrahlter Entwicklungsstufe und Aberrationstypus nicht gefunden werden. Wie Tabelle II zeigt, lieferten diese Versuche, in denen die einzelnen Schoten, ausgehend von einer Markierungsschote, nach ihrer Stellung im Blütenstand geordnet wurden, die Bestätigung für unsere Annahme, dass die Embryonen nur in einem frühen Entwicklungsstadium hinsichtlich ihrer Keimblattausbildung zu beeinflussen sind.

Eine ausführliche Schilderung der Versuche wird, sobald die Selbstungsnachkommenschaften der aberranten Typen ausgewertet sind, in einer Fachzeitschrift erfolgen.

ERNA REINHOLZ

Max-Planck-Institut für Biophysik, Frankfurt a.M.,
den 1. Juli 1954.

Summary

A previous experiment with *Eranthis* showed that ROENTGEN irradiation of "undivided" embryos led to

a change in the number of cotyledons. In the present publication, the induction of anomalies of the cotyledon was shown after irradiation of early embryo stages on the mother plant in *Arabidopsis thaliana*, an example of a plant with "complete" embryos.

Which aberration type (synkotyl, anisokotyl, trikotyl, tetrakotyl or multiple seedlings) will arise, seems to be determined neither by the ROENTGEN dose nor by the stage of development on irradiation. The appearance of predominately regular trikotyl types after application of 2000r, and their gradual disappearance with increasing doses in favour of the irregular trikotyl types, suggests that in the lower doses the main influences are upon the purely chemical reactions in the embryos, which are overlaid by cell damages occurring in a directly biophysical way with increase of the physical primary acts and lead to irregular growth.

Inhibition of Thiamine Synthesis by Vitamin B₁₂ in Wild Strains of *Escherichia coli*

Inter-relationship has been shown to exist between vitamin B₁₂ and amino acids¹, methionine², glycine³ and certain vitamins such as choline⁴, folic acid⁵, and ascorbic acid. BURKHOLDER's⁶ study on the absorption of vitamin B₁₂ by the cells of *Escherichia coli* led JÄNNES⁷ to investigate the effect of this vitamin on the synthesis of other vitamins of the B complex by the micro-organism. He observed that vitamin B₁₂ had no effect on the production of nicotinic acid, folic acid and biotin, but synthesis of pantothenic acid, was reduced by about 20% in presence of 0.03 γ B₁₂/ml. With 0.06 γ B₁₂/ml the synthesis was completely inhibited in certain cases. In view of this fact it was thought of interest to investigate the effect of vitamin B₁₂ on the biosynthesis of thiamine by *E. coli*⁸. The results obtained are presented in this communication.

Since thiamine synthesis in older cultures was rather low, two freshly isolated cultures of *E. coli*, maintained on nutrient agar slants, pH 7, were used for the present study. The glucose salt medium of DAVIS and MINGIOLI⁹ modified by the addition of 0.05% sodium chloride as suggested by JOHANSSON¹⁰ was used. One hundred ml of the medium was taken in 250 ml ERLÉNMEYER flasks and sterilized by autoclaving at 15 lbs. for 15 min. Sterile solution of vitamin B₁₂ in appropriate dilutions was added aseptically to the medium. A washed cell suspension of *E. coli* was made from 48 h

¹ L. W. CHARKEY, H. S. WILGUS, A. R. PATTON, and F. X. GASSNER, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 73, 21 (1950).

² A. E. SCHAEFER, W. D. SALMON, and D. R. STRENGTH, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 71, 123 (1949). – G. M. BRIGGS, E. G. HILL, and M. J. GILES, Poultry Sci. 29, 723 (1950).

³ H. MENGE and G. F. COMBS, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 75, 139 (1950).

⁴ A. E. SCHAEFER, W. D. SALMON, and D. R. STRENGTH, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 71, 202 (1949). – M. B. GILLIS and L. C. NORRIS, Poultry Sci. 28, 749 (1949).

⁵ L. S. DIETRICH, C. A. NICHOL, W. J. MONSON, and C. A. ELVEHJEM, J. Biol. Chem. 181, 915 (1949). – A. E. SCHAEFER, W. D. SALMON, D. R. STRENGTH, and D. H. COPELAND, J. Nutr. 40, 95 (1950).

⁶ P. BURKHOLDER, Science 114, 478 (1951).

⁷ J. JÄNNES, Experientia 10, H. 1, 31 (1954).

⁸ D. W. WOOLLEY and A. G. WHITE, J. Exptl. Medicine. 78, 495 (1943). – W. H. PETERSON and M. S. PETERSON, Bact. Rev. 9, 49 (1945).

⁹ B. D. DAVIS and E. S. MINGIOLI, J. Bact. 60, 17 (1950).

¹⁰ K. R. JOHANSSON, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 83, 448 (1953).

¹ B. HACCUS, unveröffentlicht.