

From the data, it appears that soon after irradiation there is a greater reduction in DNA content, in comparison with RNA, as reported by previous workers. Subsequently, however, the trend is reversed, there being a greater percentage of reduction in RNA than DNA content. (Table V; 3 days after seed treatment and 4 days after seedling treatment.) Thus, it seems likely that DNA synthesis, although initially it may be more affected than RNA, returns to normalcy at a more rapid rate than RNA following treatment with mutagens at a sub-lethal dosage. It is hence important to take into account the developmental stage at which the estimations are carried out in studies of this nature.

We are indebted to Dr. B. P. PAL and Dr. S. M. SIKKA for their interest in the study and encouragement.

S. BHASKARAN, A. T. NATARAJAN,
and M. S. SWAMINATHAN

Indian Agricultural Research Institute, New Delhi
(India), February 18, 1957.

Zusammenfassung

Eine vergleichende Untersuchung über die Wirkung von Röntgenstrahlen auf ruhende Weizensamen und Weizenkeimlinge und von Senföl auf den Gehalt von DNA und RNA in Spross und Wurzel von Keimlingen verschiedenen Alters wurde ausgeführt.

Fusaric Acid Production by *Fusarium orthoceras* in vitro

Fusaric acid, a wilt toxin produced by certain species of *Fusarium*, is known to be synthesized in culture medium by *Fusarium heterosporum* Nees¹, *F. bulbigenum* Cke. et Mass. var. *lycopersici* (Brushi) Wr. et Rg., *F. vasinfectum* Atk., *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Wr.², and *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr.³ The detection of this toxin in vivo in *F. vasinfectum* infected cotton plants has also been reported⁴. Recently, in an extensive study of 23 species of *Fusarium* (obtained from the Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Holland) it was observed that in addition to the species already reported, *F. orthoceras* App. et Wr. was capable of producing appreciable quantities of fusaric acid in culture.

Spore suspension of *F. orthoceras* was inoculated in 50 ml portions of Richard's medium in 250 ml conical flasks and incubated at laboratory room temperature (27–29°C). After 3 weeks, the fungal mat was filtered and the filtrate tested quantitatively for fusaric acid by bioassay⁵. The identity of the toxin in the filtrate was established by chromatographic determination of its R_f value in known solvents⁶. Approximately 50 ml

of the filtrate were reduced to 1 ml volume in vacuo and the concentrated filtrate was spotted on filter paper strips and run in butanol-acetic acid-water (4:1:5) in test-tubes⁷. Culture filtrate of *F. moniliforme*, known to contain fusaric acid, and dilute solutions of pure fusaric acid were similarly spotted and run. The paper strips were air dried and spread over bacterial seeded agar⁸ and incubated at 37°C for 18 h, when a clear zone of inhibition was formed around the position occupied by the toxin and pure fusaric acid on the filter paper. The R_f value of pure fusaric acid was found to be 0.89 and that of the toxin present in the filtrates of *F. orthoceras* and *F. moniliforme* was 0.87. R_f value of fusaric acid, when added to culture filtrate and similarly spotted and run in the solvent, was found to be 0.87. The lower R_f value of the toxin, when present in the filtrate, was probably due to salts and other interfering substances in the filtrate.

Under identical conditions, a three-weeks-old culture of *F. orthoceras*, grown in 50 ml Richard's medium in 250 ml conical flasks, produced 300 mg/l fusaric acid, whereas *F. moniliforme* and *F. vasinfectum* produced only 65 mg/l and 35 mg/l fusaric acid, respectively.

Dialyzed culture filtrate of *F. orthoceras* at 5 and 10% concentrations incited typical vein clearing symptoms² in cut shoots of susceptible cotton (Karunganni 2-Gossypium arboreum), thus further confirming the presence of fusaric acid.

I am much indebted to Prof. T. S. SADASIVAN for guidance and to Dr. E. GÄUMANN for the sample of fusaric acid. I thank Dr. C. V. SUBRAMANIAN for his interest in this work and the National Institute of Sciences of India for the award of an I.C.I. Research Fellowship.

C. S. VENKATA RAM

University Botany Laboratory, Madras, India, June 28, 1956.

Zusammenfassung

Durch biologische und papierchromatographische Methoden konnte nachgewiesen werden, dass auch *Fusarium orthoceras* den Welkestoff Fusarinsäure in die Kulturflüssigkeit abscheidet. Unter den angegebenen Bedingungen werden relativ grosse Mengen dieses Stoffes gebildet (300 mg/l gegenüber 65 mg/l durch *F. moniliforme* und 35 mg/l durch *F. vasinfectum*).

⁷ L. B. ROCKLAND and M. S. DUNN, Science 109, 539 (1949).

⁸ H. ZÄHNER, Phytopath. Z. 22, 227 (1954).

Untersuchungen über den Ascorbigengehalt von Kohlrabi (*Brassica oleracea* v. *gongylodes*) während der Vegetation und den Zusammenhang zwischen Ascorbigen und Wachstum bei den Pflanzen der Familie Brassicaceae

Ascorbigen kommt in den Pflanzen der Familie Brassicaceae vor und ist eine oxydationsbeständige Verbindung der Ascorbinsäure mit einem Indolderivat (Indolylpropendiol)¹. Über seine physiologische Bedeutung für die Pflanze war bisher nichts bekannt. Als Beitrag zur Aufklärung dieser Frage verfolgten wir in unserer Arbeit

¹ Ž. PROCHÁZKA, V. ŠANDA und F. ŠORM, Chem. listy 50, 167 (1956); Collection 22, 654 (1957).

¹ T. YABUTA, K. KAMBE, and T. HAYASHI, J. agric. chem. Soc. Japan 10, 1059 (1934).

² E. GÄUMANN, S. NAEF-ROTH, and H. KOBEL, Phytopath. Z. 20, 1 (1952).

³ E. GÄUMANN, Endeavour 13, 198 (1954).

⁴ K. LAKSHMINARAYANAN and D. SUBRAMANIAN, Nature 176, 697 (1955). – R. KALYANASUNDARAM and C. S. VENKATA RAM, J. Indian bot. Soc. 35, 7 (1956).

⁵ R. KALYANASUNDARAM, J. Indian bot. Soc. 34, 43 (1955).

⁶ R. KALYANASUNDARAM and C. S. VENKATA RAM, J. Indian bot. Soc. 35, 7 (1956).

den Ascorbigehalt der einzelnen Pflanzenteile und -organe während der Vegetation. Als Versuchspflanzen wurden rote und weisse Kohlrabi verwendet.

Das Ascorbigen wurde papierchromatographisch von anderen im Pflanzenmaterial anwesenden Indolderivaten abgetrennt und nach Elution aus dem Papierstreifen mit Trichloressigsäure kolorimetrisch bestimmt². Der zeitliche Verlauf des Ascorbigehaltes ist graphisch in der Abbildung dargestellt. Die Analysen wurden vom 2. Juli (das heisst 12 Tage nach dem Aussäen) bis zum 27. Oktober durchgeführt.

Einen überraschend hohen Ascorbigehalt fanden wir auf frühen Ontogenesestadien in den Spitzen (666,2 mg% der Trockensubstanz). In den Blättern ist er hoch, sinkt aber beim Altern. Im Spross wurden schon zu Beginn der Untersuchungen Spuren von Ascorbigen festgestellt. Die Konzentration erhöhte sich hier nur beim Reifen der Sprossknollen. In den Wurzeln von Kohlrabi ist das Vorkommen von Ascorbigen vorläufig nicht eindeutig nachgewiesen. Wir sind aber der Ansicht, dass Ascorbigen in den jungen Wurzeln, wenn auch nur in geringen Mengen, vorhanden ist. Dieselbe Verteilung des Ascorbigens in der jungen Pflanze zeigte sich auch bei der Untersuchung anderer Vertreter der Familie *Brassicaceae*³.

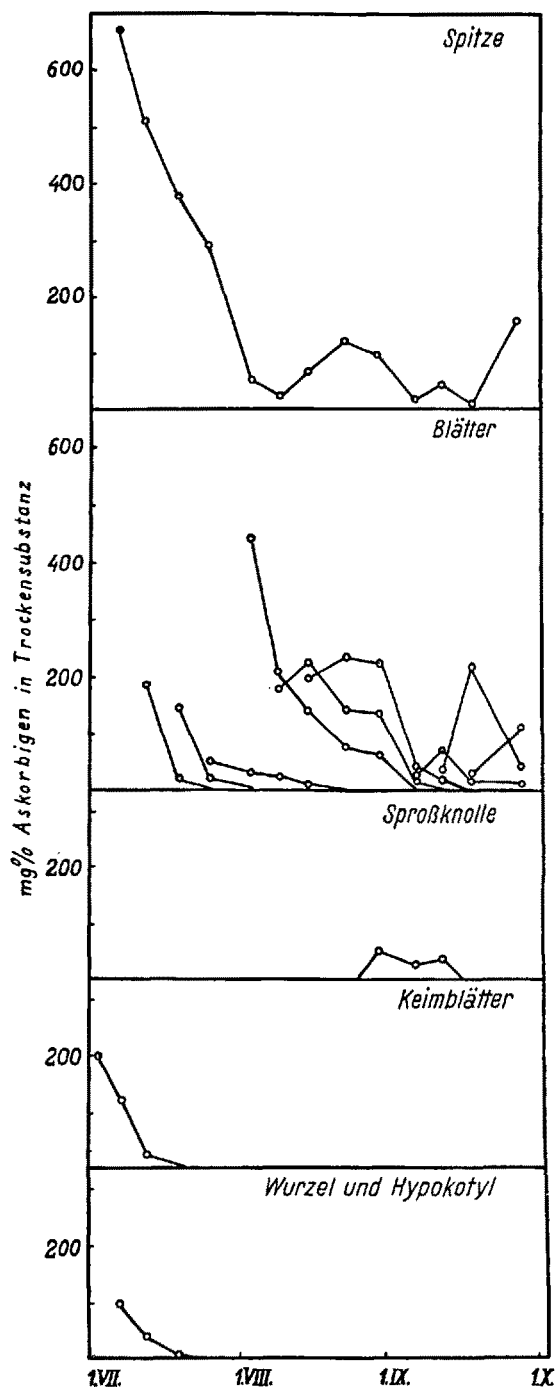
Starke Schwankungen des Ascorbigehaltes in den verschiedenen Pflanzenorganen lassen sich durch die Anwesenheit eines Enzymes oder Enzymsystemes erklären, welche das Ascorbigen spalten bzw. synthetisieren. Diese Annahme stützt sich auf unsere Resultate, nach denen der Ascorbigenspiegel im Spross keine merklichen Schwankungen zeigt, trotz beträchtlicher zeitlicher Schwankungen des Gehaltes der Blätter. Deshalb sind wir der Meinung, dass Ascorbigen in den Blättern unmittelbar metabolisiert wird. In Voruntersuchungen⁴ stellten wir bei Kohl- und Kohlrabiblättern durch Vakuum-Infiltration des Ascorbigens fest, dass es hier gespalten wird.

Im Avena-Test⁵ war Ascorbigen unwirksam, doch geht es bei alkalischer Hydrolyse *in vitro* teilweise in Heteroauxin über, das mit diesem Test nachgewiesen werden kann. Anhäufung des Ascorbigens in jungen Geweben und die Veränderungen seiner Konzentration während der Vegetation zeigen eine auffallende Ähnlichkeit mit Verteilung und Bewegung natürlicher Wachstoffsstoffe⁶.

Auf Grund seiner chemischen Konstitution und der festgestellten Gesetzmässigkeit der Verteilung in jungen Geweben *in vivo* ist eine Beteiligung des Ascorbigens am Metabolismus der Indolwuchsstoffe sehr wahrscheinlich. Bei Pflanzen der Familie *Brassicaceae* scheint seine Mitwirkung beim Wachstum von sehr grosser Bedeutung zu sein, was besonders der hohe Gehalt in jungen Geweben und die Schnelligkeit seiner Umwandlungen beweisen.

Um die Biogenese des Ascorbigens abzuklären, injizierten wir in Vorversuchen Tryptophan in Kohlrabipflanzen und stellten danach eine deutliche Erhöhung

des Ascorbigehaltes fest. Aus unseren Untersuchungen geht ebenfalls hervor, dass junge Blätter von Gemüsesorten verschiedener Arten und Gattungen der Familie *Brassicaceae* eine auffallend hohe Menge von Ascorbigen enthalten. Vergleicht man diese mit der



niedrigen Konzentration in den Knollen einzelner Pflanzen dieser Familie, wird der Unterschied noch deutlicher. Ein höherer Gehalt an Ascorbigen ist in Pflanzen zu erwarten, die in ihrer Frühreife geerntet werden³. Diese Erkenntnis kann sowohl in der Landwirtschaft wie in der Lebensmittelindustrie praktisch angewendet werden.

² M. VALENTA, M. KUTÁČEK und F. ICHA, Sborník čs. akademie zemědělských věd. = Ann. Acad. tchécosl. Agric., rosl. výroba 29, 193 (1956).

³ M. VALENTA, M. KUTÁČEK und F. ICHA, Sborník čs. akademie zemědělských věd. = Ann. Acad. tchécosl. Agric. (im Druck).

⁴ Zur Zeit noch nicht veröffentlichte Forschungsergebnisse.

⁵ Z. PROCHÁZKA, V. ŠANDA und F. ŠORM, Chem. Listy 50, 167 (1956).

⁶ H. SÖDING, Die Wuchsstofflehre (G. Thieme, Stuttgart 1952), Kap. 3/4.

Eine ausführliche Beschreibung unserer Arbeit wird in der Zeitschrift «Chemické listy» erscheinen.

M. KUTÁČEK, M. VALENTA und F. ICHA

Landwirtschaftliche Hochschule in Prag, Abteilung Chemie, den 5. Januar 1957.

Summary

The distribution of ascorbigen in various organs of kohlrabi during vegetation suggests that ascorbigen probably plays a part in the metabolism of the indole growth-substances of numerous Brassicaceae.

Influence of Estrogen and Progesterone on the Oxygen Consumption of Rats, with Reference to the Role Played by the Thyroid

The administration of small doses of estrogen in a single dose or within a short duration of time, stimulates thyroid activity (EPSTEIN and WOLTERINK¹, MONEY *et al.*², and REINEKE and SOLIMAN³). In rats, SOLIMAN⁴ found that the oxygen consumption is greater during estrus than during the other stages of the reproductive cycle. The rise in oxygen consumption of rats during estrus was also accompanied with increased thyroid activity (SOLIMAN and REINEKE⁵ and FELDMAN⁶). The chronic administration of large doses of estrogen, either has no effect on the thyroid (SOLIMAN and REINEKE⁷) or has a depressing effect on it (EMGE and LAQUEUR⁸).

¹ D. EPSTEIN and L. F. WOLTERINK, Poultry Sci. 28, 763 (1949).
² W. L. MONEY, L. KRISCHNER, L. KRAINTZ, P. MERRILL, and R. W. RAWSON, J. Clin. Endocrin. 10, 1282 (1950). – W. L. MONEY, L. KRAINTZ, J. FAGER, L. KRISCHNER, and R. W. RAWSON, Endocrinology 48, 682 (1951).
³ E. P. REINEKE and F. A. SOLIMAN, Iowa State Coll. J. Sci. 28, 67 (1953).
⁴ F. A. SOLIMAN, Egypt. Vet. Med. J. 1, 37 (1954).
⁵ F. A. SOLIMAN and E. P. REINEKE, Amer. J. Physiol. 178, 89 (1954).
⁶ J. D. FELDMAN, Endocrinology 58, 327 (1956).
⁷ F. A. SOLIMAN and E. P. REINEKE, Amer. J. Physiol. 183, 63 (1953).
⁸ L. A. EMGE and G. L. LAQUEUR, Endocrinology 29, 96 (1941).

Progesterone is known to exercise a thermogenic effect which is not mediated through the thyroid (ROTHSCHILD and RAPPORT⁹). A single injection of 0.4 mg of progesterone decreases the uptake of radioactive iodine by the thyroid, while 0.8 mg increased thyroid uptake of radioactive iodine (SOLIMAN and REINEKE⁷). It was intended in the present investigation to study the effects of estrogen and progesterone on the oxygen consumption of rats, and to clarify the role played by the thyroid under these conditions.

28 mature male albino rats, with a body weight ranging from 160–180 g were used in this experiment. 12 rats were castrated, 10 castrated-thyroidectomized and the rest were kept as controls. The rats were then divided into 5 groups of 5 or 6 rats each. A group of castrated rats and another of castrated-thyroidectomized ones were injected with 2 µg of estradiol monobenzoate contained in 0.2 ml of cottonseed oil. 24 h later, their oxygen consumption was measured by the use of a closed circuit apparatus adopted by MACLAGAN and SHEAHAN¹⁰. The same groups of animals were then immediately injected intraperitoneally with one dose of 0.4 mg progesterone contained in 0.2 ml of cottonseed oil. Their oxygen consumption was again determined after 48 h from progesterone administration.

Each rat of the other groups of castrated and castrated-thyroidectomized ones was injected intraperitoneally with a single dose of 0.4 mg progesterone. The oxygen consumption of these rats was then determined 48 h after the progesterone injection. The data were analysed statistically, using the 't' test, for evaluating the differences between the averages.

As it appears in the accompanying table, castration of male rats resulted in a significant drop in oxygen consumption as compared with the controls. Thyroidectomy of castrated rats resulted in a further drop in oxygen consumption. The administration of 2 µg of estradiol benzoate in a single dose increased the oxygen consumption of castrated rats, but had no effect on castrated-thyroidectomized ones. These findings indicate that the stimulating effect of estrogen on oxygen consumption is not a direct one, but seems to be mediated through the thyroid.

The administration of progesterone caused an increase in the oxygen consumption of both castrated, and

⁹ J. ROTHSCCHILD and R. L. RAPPORT, Endocrinology 50, 580 (1952).
¹⁰ N. F. MACLAGAN and M. M. SHEAHAN, J. Endocrin. 6, 456 (1950).

The effects of estrogen and progesterone on the oxygen consumption of castrated and castrated-thyroidectomized rats

Group No.	Operative Procedure	Number of Animals	Oxygen Consumption in ml/100 g Body Weight per hour			
			No. Treatment	Estrogen	Progesterone	Estrogen- Progesterone
I	Control	6	124.12 ± 7.41 *	—	—	—
II	Castrated	6	100.21 ± 6.10	139.40 ± 5.59	—	147.46 ± 5.26
III	Castrated	6	98.42 ± 2.97	—	137.99 ± 2.85	—
IV	Castrated-Thyroidectomized . .	5	59.63 ± 5.99	64.97 ± 4.17	—	93.65 ± 1.99
V	Castrated-Thyroidectomized . .	5	67.26 ± 3.00	—	97.70 ± 3.83	—

* Standard error.