

tively paired regions, the intensity of negative interference in adjacent intervals should be negatively correlated with the length of the interval within which an exchange is selected (PRITCHARD<sup>1</sup>). This is not found in our data. (b) Neither does the length of the interval influence the direction of such polarization as can be observed to occur in negative interference (SIDDIQI and PUTRAMENT<sup>2</sup>). (c) When the assumption is made that the position of the pairing segment is fixed, then a relationship should exist between the location of mutant sites within such a segment, and the intensity of negative interference resulting on both sides of the selected interval. In crosses where an asymmetry is found, the interval of selection lies near one of the ends of the segment. In this case one can predict an inverse correlation between the intensity of negative interference and the location of the selected interval (Fixed Paired Regions, STADLER<sup>3</sup> and TOWE). However, the relationship in our data is the exact opposite of this expectation.

**Zusammenfassung.** In Kreuzungen zwischen 12 Allelen der Lysin-heterotrophen Mutante lys-51 von *Aspergillus nidulans* wurde auf das gleichzeitige Vorkommen zusätzlicher Austauschereignisse zu beiden Seiten des lys-51-Locus geachtet. Dabei wurde polarisierte negative Interferenz festgestellt, deren Stärke und Vorzugsrichtung nicht vom Abstand zwischen zwei lys-51-Allelen abhängig sind.

E. PEES

Department of Genetics, University of Leiden  
(The Netherlands), April 29, 1965.

<sup>1</sup> R. H. PRITCHARD, *Genetical Res.* 1, 1 (1960).

<sup>2</sup> O. H. SIDDIQI and A. PUTRAMENT, *Genetical Res.* 4, 12 (1963).

<sup>3</sup> D. R. STADLER and A. M. TOWE, *Genetics* 48, 1323 (1963).

### Die Wirkung der Ascorbinsäure auf die Katalaseinduktion in Mikroorganismenkulturen

Eine charakteristische Eigenschaft der aeroben, bzw. fakultativen Mikroorganismen ist, dass sie über eine Katalaseaktivität verfügen<sup>1</sup>. Der natürliche Induktor des Enzyms ist der Sauerstoff, bzw. das im Laufe des Zellstoffwechsels entstandene Peroxyd<sup>2</sup>. Dies beweist, dass die Zellatmung in engem Zusammenhang mit der Katalaseaktivität steht. Das Enzym erscheint in der Kultur nach dem Absinken der Sauerstofftension, d.h. im Verhältnis zur Zellvermehrung verspätet<sup>3</sup>. Die experimentelle Feststellung, dass die Anwesenheit der die Sauerstofftension des Nährbodens herabsetzenden Ascorbinsäure die Peroxydaseaktivität hemmt, liess die Untersuchung der Ascorbinsäurewirkung auf die Katalaseinduktion interessant erscheinen.

Die Versuche wurden an *Staphylococcus aureus*-Schüttelkulturen vorgenommen, die mit 40 ml auf pH 7,3 eingestellter Nährbouillon angesetzt wurden. Der eine Teil diente zur Kontrolle, während der andere 1% Ascorbinsäure enthielt. In den zu verschiedenen Zeitpunkten der Inkubation entnommenen Proben wurde auf jodometrischem Wege die Katalaseaktivität bestimmt<sup>4</sup>, während

der Ascorbinsäuregehalt durch Titrieren mit 2,4-Dichlorphenol-indophenol ermittelt wurde<sup>5</sup>.

Figur 1 veranschaulicht die Veränderung der auf analoge Densitätswerte bezogenen Katalaseaktivität zu verschiedenen Zeitpunkten der Inkubation. Wie ersichtlich, wird die Katalase im Laufe der Entwicklung der Mikroorganismen allmählich induziert.

Die Änderung der Katalaseaktivität und des Ascorbinsäuregehaltes der Kultur geht aus Figur 2 hervor.

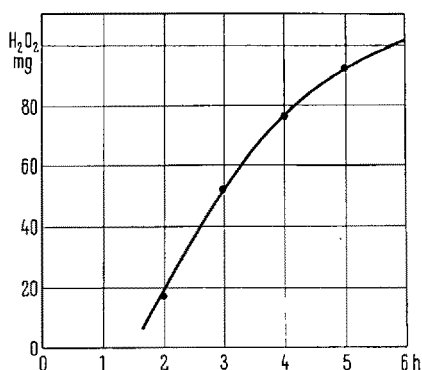


Fig. 1. Darstellung der relativen Enzyminduktion einer Zelle auf Grund der auf gleiche Densitätswerte berechneten Katalaseaktivität.

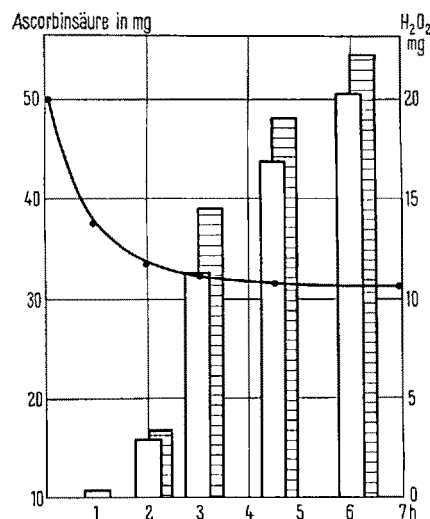


Fig. 2. Veränderung des Ascorbinsäuregehaltes der Kultur, sowie der Katalaseaktivität in askorbinsäurehaltigen (schraffiert) und Kontrollkulturen (weiss).

<sup>1</sup> J. G. KAPLAN, *J. gen. Physiol.* 47, 103 (1963).

<sup>2</sup> H. CHANTRENNE und C. COURTOIS, *Biochim. biophys. Acta* 14, 397 (1954).

<sup>3</sup> C. BHUWANESWARAN, A. SREENIVASAN, und D. V. REGE, *Enzymologia* 23, 194 (1961).

<sup>4</sup> R. K. CLAYTON, *Biochim. biophys. Acta* 40, 165 (1960).

<sup>5</sup> L. F. HARRIS und S. N. RAY, *Lancet* 1935 i, 71.

**Diskussion.** Beim Studium der zeitlichen Katalase-induktion während der Kulturperiode zeigte sich, dass sie in der logarithmischen Phase der Vermehrung – nicht proportional der Zellenzahl, sondern mit kleinerer Verschiebung – erscheint. Potentiometrische Messung der Sauerstofftension<sup>6</sup> ergab, dass dieselbe zu diesem Zeitpunkt der Züchtung wesentlich geringer ist als zu Versuchsbeginn. Proportional der weiteren Herabsetzung der Sauerstofftension steigt der auf eine Zelle bezogene Katalaseaktivitätswert, was beweist, dass die Katalase in der Zelle allmählich im gleichen Grade induziert wird, wie der Sauerstoffgehalt abnimmt. Bei Anwesenheit von Ascorbinsäure geht auch die initiale Sauerstofftension im Verhältnis zu der der Kontrollen wesentlich zurück<sup>7</sup>. Die Vermehrung der Zellen tritt auch hier ein, und im Densitätswert der Kulturen ist kein Unterschied festzustellen.

Die Katalaseinduktion setzt aber früher ein, und infolgedessen wird bei den weiteren Messungen eine scheinbare Katalaseaktivitätssteigerung, eine Katalaseaktivierung zugunsten der askorbinsäurehaltigen Kultur beobachtet.

Die die Enzyminduktion fördernde Wirkung der Ascorbinsäure lässt sich auf Grund experimenteller Befunde erklären: Infolge des reduzierenden Charakters der Ascorbinsäure lässt die Sauerstoffkapazität der Kultur schneller nach und so wird die Entstehung des sauerstoffarmen Milieus im Interesse der Katalaseinduktion sozusagen beschleunigt. Wenn man in Betracht zieht, dass mit der steigenden Katalaseaktivität die Funktion des Peroxydasesystems allmählich in den Hintergrund gedrängt wird<sup>8</sup>, so ergibt sich die Rolle der Ascorbinsäure in der Hemmung des Peroxydasesystems nicht so sehr aus ihrer chemischen Eigenschaft und ihrer Reaktion mit der Peroxydase, sondern ist eher mit der Verminderung des Sauerstoffdruckes in der das Peroxydase-Katalasesystem enthaltenden Kultur zu erklären. Die Ascorbinsäure verursacht in den Katalase-Peroxy-

dase-Enzymsystemen die gleiche Verschiebung des Schwerpunktes zugunsten der Katalase, wie sie während der Atmung der lebenden Zellen zur Zeit der logarithmischen Phase eintritt.

Die Verminderung des Ascorbinsäuregehaltes in den Mikroorganismen nicht enthaltenden Nährböden kommt schneller zustande als in einer Kultur<sup>9</sup>. Nach unseren experimentellen Befunden kommt die rapide Verringerung des Ascorbinsäuregehaltes der Kultur während der Katalaseaktivitätssteigerung zum Stillstand. Dies beweist, dass in Gegenwart der Katalase jene optimalen Verhältnisse, welche die Oxydierung der Ascorbinsäure bewirken, nachlassen bzw. aufhören und das Medium reduzierenden Charakter annimmt. Demnach bedeutet das Erscheinen der Katalase in der Kultur auch einen Schutz der Ascorbinsäure gegenüber der Oxydation.

**Summary.** Catalase activity of *Staphylococcus aureus* increases the effect of ascorbic acid. Namely the ascorbic acid decreases the dissolved oxygen content of the medium, and low oxygen tension is the natural inducer of catalase synthesis.

H. HORTENSIA MAZAREAN  
und E. KOVÁCS

Biochemisches Institut der Medizinischen Universität  
Szeged (Ungarn), 22. März 1965.

<sup>6</sup> E. KOVÁCS, H. H. MAZAREAN und Á. JÁKI, Enzymologia, im Druck (1965).

<sup>7</sup> P. KISS und E. KOVÁCS, Zbl. Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankh. Hygiene 112, 711 (1959).

<sup>8</sup> I. YAMAZAKI und L. H. PIETTE, Biochim. biophys. Acta 77, 47 (1963).

<sup>9</sup> E. KOVÁCS und K. P. MÁRTON, Die Fleischwirtschaft 10, 676 (1958).

## Effect of Chloramphenicol on the Expansion of Isolated Cotyledons of *Cucurbita pepo* in Light and in Presence of Kinetin

Isolated cotyledons of *Cucurbita pepo* possess the remarkable capacity of expanding when placed in water and in light. This expansion is enhanced by kinetin<sup>1</sup>. Enhanced synthesis of protein has been found in light-induced expansion of leaves<sup>2</sup>, and indeed evidence has been presented that growth effects of auxin are mediated by new synthesis of protein<sup>3</sup>. The aim of this investigation was to study whether synthesis of new protein is necessary for light-induced and kinetin-induced expansion of pumpkin cotyledons. Growth in the presence of chloramphenicol has been studied, because chloramphenicol is known to inhibit the synthesis of protein in bacteria<sup>4</sup> and in tissues of higher plants<sup>5</sup>. In leaves or leaf discs, it has been shown to inhibit the light-activated synthesis of protein but not the 'dark synthesis'<sup>5,6</sup>. It has also been shown that, while light-induced expansion of cotyledons is inhibited by chloramphenicol, the kinetin-induced expansion is not inhibited.

Seeds of *Cucurbita pepo* var. King of the Mammoths were germinated in the dark for 2–3 days, and seedlings with a hypocotyl of about 5 mm were used for the experiments. For each concentration of chloramphenicol, namely 100 mg, 500 mg and 1000 mg/l, one of the two cotyledons was placed in 10 ml chloramphenicol solution contained in petri dishes, while the other opposite cotyledon was placed in an equal volume of 10 mg/l solution of kinetin containing chloramphenicol. The results are averages of the areas measured by a planimeter of ten cotyledons of a typical experiment, although the experiment was repeated several times. The results are shown in the Table.

<sup>1</sup> D. BANERJI and M. M. LALORAYA, Naturwissenschaften, in press.

<sup>2</sup> M. DE DEKEN-GRESON, Biochim. biophys. Acta 14, 203 (1954).

<sup>3</sup> L. D. NOODEN and K. V. THIMANN, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 50, 194 (1963).

<sup>4</sup> T. D. BROCK, Bact. Rev. 25, 32 (1961).

<sup>5</sup> B. PARTHIER, B. MALAVIYA, and K. MOTHES, Pl. Cell Physiol. Tokyo, in press.

<sup>6</sup> M. M. MARGULIES, Pl. Physiol. 39, 579 (1964).