

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 Sauerstofftension⁶ 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 zurück⁷. 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 Katalase-induktion sozusagen beschleunigt. Wenn man in Betracht zieht, dass mit der steigenden Katalaseaktivität die Funktion des Peroxydasesystems allmählich in den Hintergrund gedrängt wird⁸, 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 Kultur⁹. 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.

⁶ E. KOVÁCS, H. H. MAZAREAN und Á. JÁKI, *Enzymologia*, im Druck (1965).

⁷ P. KISS und E. KOVÁCS, *Zbl. Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankh. Hygiene* 112, 711 (1959).

⁸ I. YAMAZAKI und L. H. PIETTE, *Biochim. biophys. Acta* 77, 47 (1963).

⁹ 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 kinetin¹. Enhanced synthesis of protein has been found in light-induced expansion of leaves², and indeed evidence has been presented that growth effects of auxin are mediated by new synthesis of protein³. 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 bacteria⁴ and in tissues of higher plants⁵. In leaves or leaf discs, it has been shown to inhibit the light-activated synthesis of protein but not the 'dark synthesis'^{5,6}. 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.

¹ D. BANERJI and M. M. LALORAYA, *Naturwissenschaften*, in press.

² M. DE DEKEN-GRESON, *Biochim. biophys. Acta* 14, 203 (1954).

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

⁴ T. D. BROCK, *Bact. Rev.* 25, 32 (1961).

⁵ B. PARTHIER, B. MALAVIYA, and K. MOTHES, *Pl. Cell Physiol.* Tokyo, in press.

⁶ M. M. MARGULIES, *Pl. Physiol.* 39, 579 (1964).

Effect of chloramphenicol on the kinetin-induced and light-induced expansion of isolated cotyledons of *Cucurbita pepo*

	Area of cotyledons cm ² ± S.D.	% control	Fresh weight of cotyledons mg/3 cotyledons ± S.D.	% control	Dry weight of cotyledons mg/3 cotyledons ± S.D.	% control
Initial	1.633 ± 0.306	—	—	—	—	—
(A) Water	4.000 ± 0.554	—	1058 ± 14.7	—	187 ± 4.0	—
Kinetin 10 ppm	5.800 ± 0.504	145 of (A)	1470 ± 15.0	140 of (A)	170 ± 6.1	90.9 of (A)
(B) Chloramphenicol 100 ppm	3.420 ± 0.403	—	—	—	—	—
Ditto + kinetin 10 ppm	4.630 ± 0.506	135 of (B)	—	—	—	—
(C) Chloramphenicol 500 ppm	3.020 ± 0.701	—	813 ± 4.2	—	179 ± 4.6	—
Ditto + kinetin 10 ppm	4.500 ± 0.706	149 of (C)	1335 ± 14.3	160 of (C)	180 ± 4.8	100.6 of (C)
(D) Chloramphenicol 1000 ppm	3.280 ± 0.608	—	—	—	—	—
Ditto + kinetin 10 ppm	4.260 ± 0.807	129 of (D)	—	—	—	—

It is clear from the results that chloramphenicol inhibits somewhat the expansion of cotyledons in light; the values vary between 75% and 85% of the control expansion in light in water. A corresponding decrease in fresh weight is also observed, although dry weight shows no significant change. If kinetin was present along with chloramphenicol, increased expansion of cotyledons over that of controls was clearly marked, although it was significantly lower than the expansion in the presence of kinetin without chloramphenicol (Figure). However, when the increase due to kinetin in the presence of chloramphenicol is calculated against the growth of cotyledons in chloramphenicol alone, the percentage promotion of expansion and green weight are found to be approximately of the same magnitude as the increase caused by kinetin over that of the water controls. Kinetin causes about 45% increase over water controls in light, while the increase obtained in the presence of chloramphenicol varies between 30 and 50% of the chloramphenicol controls, which is in fairly good agreement.

No significant increase in dry weight could be observed in these growth effects. In kinetin-induced expansion there is in fact a slight reduction in the dry weight of cotyledons. This may be due to the oxidation of the reserve materials stored in the cotyledons to meet the

energy requirement of enhanced growth in the presence of kinetin. It is, however, well known that changes in dry weight may not necessarily be related to growth⁷ but green weight changes are closely related.

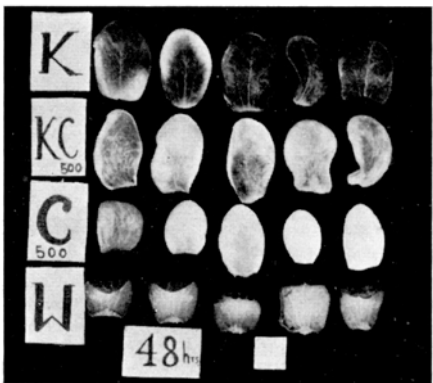
Chloramphenicol-treated cotyledons, both in kinetin solution and in water, however, exhibited marked inhibition of chlorophyll synthesis. The cotyledons remained virtually yellow during the first 48 h of growth, while the cotyledons floated in water and in kinetin solution turned dark green. In spite of the inhibition of chlorophyll synthesis, the kinetin-induced expansion was very marked (Figure). Chlorophyll synthesis and protein synthesis are known to proceed simultaneously in expanding green leaves. It remains to be demonstrated, however, whether chloramphenicol inhibits the synthesis of protein in cucurbita cotyledons, and whether kinetin-induced growth is independent of protein synthesis.

It is also not yet possible to say whether chloramphenicol interferes with photoconversion of protochlorophyll to chlorophyll directly or whether this is brought about by inhibition of the specific protein synthesized in light. Incidentally, pumpkin cotyledons are known to be the richest source of protochlorophyll of all leafy tissues⁸.

Zusammenfassung. Kotyledonen von *Cucurbita*-Keimlingen zeigen im Licht in Wasser eine deutliche Zunahme der Blattfläche. Durch Chloramphenicol kann dieses Flächenwachstum gehemmt werden. Die Hemmung wird durch Kinetin aufgehoben, wobei die durch Kinetin bewirkte prozentuale Zunahme der Fläche in Wasser und in Chloramphenicol enthaltenden Lösungen ungefähr gleich gross ist.

M. M. LALORAYA and D. BANERJI

Department of Botany, University of Allahabad (India), April 6, 1965.



The effect of chloramphenicol on the kinetin-induced growth of isolated cotyledons of *Cucurbita pepo* in light after 48 h incubation. K = kinetin 10 ppm, C = chloramphenicol 500 ppm, KC = kinetin 10 ppm + chloramphenicol 500 ppm, W = water.

⁷ K. V. THIMANN and M. M. LALORAYA, *Physiologia Pl.* 13, 165 (1960).
⁸ K. NOACK and W. KIESSLING, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 182, 13 (1929).