

pflanzen auf Kotyledonen, Wurzeln und Achsen verteilt und diese Organe (je 5 g) getrennt zweimal mit 70% Äthylalkohol extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden bei 40°C im Vakuum im Wasserbad eingedampft und dann auf gleiches Volumen (3 ml) mit 70% Äthylalkohol gebracht. Die konzentrierten Extrakte wurden zur papierchromatographischen Analyse der Saccharide und Aminosäuren benutzt^{13,14}. Die semiquantitative Auswertung der Chromatogramme geschah mittels visueller Abschätzung der Fläche und Intensität der Zucker- sowie Aminosäuren-Flecke nach der Sichtbarmachung mittels entsprechendem Reagenz.

In den mit SO₂ vergifteten Erbsenkeimlingen wurde in allen Fällen eine wesentliche Verminderung der Saccharosekonzentration und meistens eine merkwürdige Erhöhung des Glukose- und besonders Fruktosegehalts in Wurzeln und Achsen gefunden, insbesondere bei etiolierten Keimpflanzen. In den Kotyledonen dagegen konnten in den meisten Fällen keine bemerkenswerten Veränderungen des Saccharidgehaltes festgestellt werden. Weil die erwähnten Veränderungen nicht nur bei grünen, sondern auch bei etiolierten Keimpflanzen beobachtet wurden, kann es sich nicht ausschliesslich um eine Störung der Photosynthese handeln. Ebenso kann es sich nicht um eine blosse Hydrolyse der Saccharose mittels SO₂ im wässrigen Milieu der Pflanzengewebe handeln, weil im Modellversuch mit einer 10%igen Saccharoselösung in der Atmosphäre des 1% SO₂ papierchromatographisch nur eine schwache hydrolytische Spaltung der Saccharose festgestellt wurde. Unsere Befunde zeigen eine Störung der Saccharose-Biosynthese in den vergifteten Keimpflanzen. Der Mechanismus dieser Störung ist noch nicht bekannt und es muss darüber weiter geforscht werden.

In grünen Keimpflanzen, die bei Licht oder Dunkelheit mit SO₂ vergiftet wurden, waren der Alanin und Methioninsulfoxidgehalt erhöht, während die Konzentration der Glutaminsäure in allen 3 Organen, besonders in Wurzeln und Achsen, wesentlich geringer war. Bei etiolierten Keimpflanzen, deren Intoxikation bei Dunkel-

heit oder bei Licht verlief, wurde in allen 3 Organen bei Erhöhung des Alaningehalts ein geringerer Glutaminsäuregehalt festgestellt. In Wurzeln und Achsen war auch die Konzentration der γ -Aminobuttersäure vermehrt. Dieser Befund kann auf Grund der erhöhten Glutaminsäure-Dekarboxylierung, die zur γ -Aminobuttersäure führt, erklärt werden. Die mit SO₂ vergifteten grünen Keimpflanzen hatten in Wurzeln und Achsen einen geringeren Glutamingehalt, während in Kotyledonen und Wurzeln der Serin- und Homoserinegehalt kaum vermindert war. Der Eingriff des SO₂ in den Saccharidstoffwechsel bewirkt demnach Veränderungen des Gehalts besonders derjenigen Aminosäuren, deren Stoffwechsel mit demjenigen der Saccharide eng verbunden ist. Weitere Versuche über den Mechanismus der Einwirkung des SO₂ auf den Aminosäurestoffwechsel sind im Gange.

Summary. The influence of gaseous 1% sulphur dioxide during 24, 48, 72 and 96 h on saccharide and amino acid content, has been studied on 14–15-day old green and etiolated pea seedlings. In roots and shoots of intoxicated seedlings of both sorts, there was found a marked decrease of sucrose and a marked increase of glucose and fructose content, most probably as a consequence of disturbed sucrose biosynthesis. In cotyledons, roots and shoots there was also found an increase of alanine and a decrease of glutamic acid content.

J. KOŠTÍŘ, I. MACHÁČKOVÁ,
V. JIRÁČEK and E. BUCHAR

*Biochemisches Institut der
Naturwissenschaftlichen Fakultät der Karls-Universität,
Praha 2 (Tschechoslowakei), 17 November 1969.*

¹³ V. JIRÁČEK, J. SÜSS und J. KOCOUŘEK, *Planta med.* 10, 298 (1962).

¹⁴ V. JIRÁČEK, *J. Chromat.* 33, 312 (1968).

Wall Development and Tetrazolium Chloride Reduction in Heterocysts of Blue-Green Algae, *Anabaena ambigua*

Blue-green algae like *Anabaena* reduce 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC) even without the addition of external hydrogen donors like succinate^{1–3}. It is of special interest that the activity in the heterocysts is always high as shown by less time taken for the formation of formazon crystals in them compared with the vegetative cells. In *Anabaena ambigua* we found that unlike in other blue-green algae, the activity of TTC-reductase appeared to be extremely low or even absent in the vegetative cells, whereas in the heterocysts it was very high. Big formazon crystals indicating the TTC reduction appeared within a few minutes. The activity in the vegetative cells could, however, be enhanced several times if the filaments were incubated with succinate for several hours in the presence of light⁴.

In the light of the recent work by STEWART et al.⁵, the TTC-reductase activity of the heterocysts appears to be due to the nitrogenase present in them. During our studies on the physiology of the development of heterocysts and its control, we^{6,7} showed that the presence of wall is essential for such reduction. Proheterocysts⁸ have

no cellulose wall and they behave more like the vegetative cells in the matter of TTC reduction. They attain the capacity to reduce TTC only after they develop a thick cellulose wall (Figure). We may infer that enzymes concerned with nitrogen fixation are induced in a proheterocyst only after the wall is laid down. The wall is evidently needed to protect the reductases concerned with reduction of nitrogen. Mature heterocysts do not produce

¹ H. DRAWERT and I. TISCHER, *Naturwissenschaften* 43, 132 (1956).

² E. R. S. TALPASAYI, *Proc. Summer School in exp. Bot.*, Ooty (1965).

³ E. R. S. TALPASAYI, *Curr. Sci.* 36, 190 (1967).

⁴ S. R. KALE, *Phykos* 8, in press (1969).

⁵ W. D. P. STEWART, A. HAYSTEAD and H. W. PEARSON, *Nature* 224, 226 (1969).

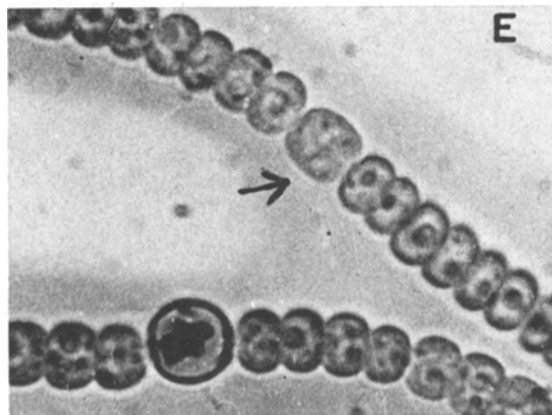
⁶ S. R. KALE, Ph.D. thesis (1969).

⁷ M. R. BAHAL, Ph.D. thesis (1969).

⁸ S. KALE and E. R. S. TALPASAYI, *R. Misra Commemoration Volume (B.H.U. Botanical Society, Varanasi 1967)*, p. 48.

oxygen in light as they lack photosystem II^{5,9,10}, but need to be protected from the oxygen present in the surrounding medium.

Ammonia, inhibitor of heterocyst development specifically prevents the formation of cellulose around a pro-heterocyst^{6,8}. It has been shown by STEWART et al.¹¹ that



Anabaena ambigua after treatment with TTC. Note the presence of formazan crystals in the heterocyst. The arrow indicates the proheterocyst devoid of wall and the absence of reduction.

ammonia also inhibits the synthesis of the nitrogenase complex. The presence of a wall around heterocyst seems to be vital for the proper functioning of the enzymes in it. The chemical composition of the wall needs to be investigated.

Zusammenfassung. 2,3,5-Triphenyl-Tetrazolium-Chlorid (TTC) wird in den Heterocysten der Blaualge *Anabaena ambigua* nur bei einer gut ausgebildeten Zellwand in grösseren Mengen reduziert. In allen übrigen Zellen, auch in den Proheterocysten, ist höchstens eine schwache TTC-Reduktion zu beobachten.

SHANTA R. KALE, MAYA BAHAL
and E. R. S. TALPASAYI¹²

Laboratory of Algal Physiology,
Department of Botany, Banaras Hindu University,
Varanasi-5 (India), 17 December 1969.

⁹ P. FAY, W. D. P. STEWART, A. E. WALSBY and G. E. FOGG, *Nature* 220, 810 (1968).

¹⁰ C. P. WOLK, *Planta* 86, 92 (1969).

¹¹ W. D. P. STEWART, G. P. FITZGERALD and R. H. BURRIS, *Arch. Mikrobiol.* 62, 336 (1968).

¹² Our thanks are due to the UGC, CSIR for the financial assistance and to the Head of the Department of Botany, for facilities.

Genetically Inactive DNA and Nuclear Lactate Dehydrogenase (1.1.1.27) Activity in the Erythrocyte of *Amphiuma tridactylum*

Amphibian red blood cells are particularly favourable objects in which to search for possible non-genetic functions of DNA. The dominant sequence of DNA transcription and translation is well known, and the characterization of the resultant haemoglobin in intact cells by microspectrophotometry at the region of the Soret band is simple¹⁻⁶. The complications of DNA-replication and mitosis do not exist beyond the erythroblast stage. Since erythropoiesis in *Amphiuma* is completed only in the circulation, blood samples contain cells at all stages of maturation, from the basophil erythroblast to the mature erythrocyte. In erythroblasts and early erythrocytes, DNA might reasonably be assumed to be actively transcribing the code for the synthesis of haemoglobin; in mature erythrocytes haemoglobin synthesis stops, and DNA no longer has a clear genetic function. *A. tridactylum* and other species of amphibians have been studied in sufficient detail^{6,7} for the identification of the principal maturation stages of erythrocytes to be unequivocal.

The blood cells of amphibians are being examined in this laboratory by biophysical, cytochemical and ultrastructural methods. These include the histochemical demonstration of some 30 enzyme systems. The results will be described in detail elsewhere¹. In this note, we wish to report the cytochemical identification of a metabolic function, nuclear lactate dehydrogenase activity, that was found to be correlated with the loss of genetic activity of DNA in erythrocytes of the giant newt, *Amphiuma tridactylum*.

Blood samples were taken from the auricles of heparinized *A. tridactylum* after anaesthesia in 3% w/v ethyl carbamate (urethane). Blood smears on coverslips were usually stabilized for 50 sec in ice-cold 0.02% v/v form-

aldehyde vapour, within 1 min of preparation. Air-dried unfixed smears and smears prepared after the blood had been collected in 100 vols. ice-cold balanced salt solution (BSS, modified from WOLF and QUIMBY⁸), containing 5% v/v polyvinylpyrrolidone, mol. wt. 160,000 (PVP), or 0.5% w/v crystallized bovine plasma albumin (BPA), buffered to pH 7.1, were also used. For the demonstration of lactate dehydrogenase activity (I.U.B. No. 1.1.1.27), the coverslips were incubated at 2–4 °C in a medium containing 0.03 M sodium lactate, 0.03 M NAD, 0.03 M either tetranitroblue tetrazolium or nitroblue tetrazolium chlorides, in BSS buffered to pH 7.1 and sometimes containing 5% PVP or 0.5% BPA as adjuvants^{9–11}. The coverslips were rapidly warmed to 25 °C after varying periods of incubation in the cold, further incubated at

¹ G. B. DAVID, A. M. ACCOLA and B. S. WILLIAMSON, in preparation (1970).

² B. THORELL, *Studies on the Formation of Cellular Substances During Blood Cell Production* (Kimpton, London 1947).

³ W. K. METCALF, *Blood* 6, 114 (1951).

⁴ M. H. F. WILKINS and S. DECARVALHO, *Blood* 8, 944 (1953).

⁵ G. NOMARSKI and M. BESSIS, *Revue Hémat.* 14, 399 (1959).

⁶ H. G. DAVIES, *J. biophys. biochem. Cytol.* 9, 671 (1961).

⁷ J. TOOZE and H. G. DAVIES, *J. Cell. Sci.* 2, 617 (1967).

⁸ K. WOLF and M. C. QUIMBY, *Science* 144, 1578 (1964).

⁹ G. B. DAVID, D. F. DEALMEIDA, G. O. CASTRO and A. W. BROWN, *Acta neurol. scand.* 38, Suppl. 1, 43 (1962).

¹⁰ G. B. DAVID, in *Comparative Neurochemistry* (Ed. D. RICHTER; Pergamon, Oxford 1964), p. 59.

¹¹ G. B. DAVID and A. W. BROWN, in *The Interpretation of Cell Structure* (Eds. S. M. MCGEE-RUSSELL and K. F. A. ROSS; Arnold, London 1968), p. 23.