

Oxidation of IBA by excited molecular oxygen. IBA 50 mg/l, sodium hypochlorite 30% w/v, hydrogen peroxide 30% v/v (pH 7.0, temp. 20°C ± 2). Each value determined with 15 plant segments

Angles	Light				Dark		
	Water	IBA + sodium hypochlorite	IBA + H ₂ O ₂	IBA + sodium hypochlorite + H ₂ O ₂	IBA + sodium hypochlorite	IBA + H ₂ O ₂	IBA + sodium hypochlorite + H ₂ O ₂
Initial	88.8	94.6	86.6	90.6	112.1	81.5	91.6
Final	141.3	66.4	56.4	139.9	86.1	58.3	131.8
Difference	+ 52.5 ± 6.1	- 28.2 ± 4.8	- 30.2 ± 5.9	+ 49.3 ± 5.3	- 26.0 ± 6.6	- 23.2 ± 3.1	+ 40.2 ± 5.4

On the basis of the above findings, the author is tempted to hazard the explanation that the H atoms, originating from the oxidation of the side-chains of IBA molecules, are transferred to an acceptor, the acceptor being the molecular O₂ itself. The author believes that in many biological peroxide systems, the chemiluminescence may be found as an indication of the breakdown mechanisms; and in addition, similar observations may be made in radiobiological and radiation chemical reactions. Application of these ideas deserve further investigations⁷.

Zusammenfassung. Indolbuttersäure wird durch ange-regten molekularen Sauerstoff in vitro inaktiviert. Die

Bedeutung dieses Befundes liegt darin, dass dadurch ein möglicher Weg für die Inaktivierung pflanzlicher Wuchs-stoffe in vivo aufgezeigt wird.

R. K. KAKKAR

Botany Department, The University, Allahabad (India), August 31, 1965.

⁷ The author acknowledges with appreciation the generous gift of IBA and IPA from Messrs. Calbiochem AG, Lucerne (Switzer-land). – This work was financed by a grant (No. F. 8-5/63 G) from the University Grants Commission.

Biochemical Genetical Studies on Host-Parasite Relationship¹. Pathogenicity of Two Mutants of *Fusarium vasinfectum* Atk. on Cotton Plants

During our studies on the pathogenicity of *Fusarium vasinfectum* on the cotton plant *Gossypium arborium*, we have isolated a pair of nutritionally deficient mutants by nitrous acid treatment of the conidia. The pathogenicity of these strains when compared with the normal type has yielded interesting results.

The nitrous acid treatment was carried out as follows: A suspension containing 5 · 10⁸ conidia/ml was obtained in 0.1M acetate buffer of pH 4.4, from a ten-day-old slant culture of *Fusarium vasinfectum* in Czapeck's agar medium. 1 ml of 0.5M sodium nitrite was added to 9 ml of the spore suspension, and at the end of 12 min it was plated out in agar medium. The colonies that came up after 48 h of incubation were tested for their nutritional requirements by the auxanographic method, keeping Czapek's medium as control. Two mutants were isolated, one a partial requirer of nicotinic acid and the other re-quiring para amino benzoic acid (PABA) for growth.

The pathogenicity of the mutants was tested by dif-ferent methods. They were grown in Richard's medium with appropriate concentrations of the nutrients needed. The parent strain was also grown in Richard's medium, alone and in the presence of the vitamins to serve as con-trols. At the end of 28 days, the cultures were filtered and the pH of the filtrate was adjusted to the alkaline side. It was then extracted with petroleum ether repeatedly and the ether extracts were concentrated. Cut shoots of

wild susceptible variety of cotton (K₆, Cotton Karun-ganni, *Gossypium arboreum*) were incubated for 8 h in test tubes containing 5 ml portions of the concentrated ex-tracts diluted to 10 ml with water. Incubation of cut shoots in 10 ml water served as controls. It was observed that in the case of the nicotinic acid deficient strain, cul-ture fluids produced very early wilting as compared to the normal, and that the PABA requirer could produce no wilting. Further, the presence of nicotinic acid or *p*-amino benzoic acid in the growth medium of the parent strain revealed no change in its action on normal wilt production. Also, the partial requirer of the nicotinic acid strain produced a blue pigment when grown in agar medium.

Tests on the pathogenicity of the mutant strains to the cotton plants were carried out in vivo also. The mutant strains and the parent wild type were cultured on separate sand-oat medium with appropriate levels of the respec-tive vitamins. On germination of K₆ seeds in soil (steri-lized at 22 lb/in² pressure for 2 h) mixed with 5% of 21-day-old sand-oat cultures has shown severe wilting in plants that received the nicotinic acid requirer. Normal parent strain caused wilting in seven days irrespective of the presence or absence of the vitamins. No wilting oc-curred in plants treated with PABA requiring mutant strain, inoculum.

¹ No. III. Scheme sponsored and financed by the United States Department of Agriculture under USPL 480 funds.
² G. F. PEGG, Ann. Bot. 26, 219 (1962).

The production of fusaric acid by the parent and mutant strains was studied by the agar-cup technique with *Escherichia coli* (Davis strain 113-3) as the test organism. It has been shown that the doubly virulent partial requirer of nicotinic acid produced approximately twice the amount of fusaric acid as the normal parent strain. On the other hand, only traces of fusaric acid could be detected by chromatography on paper² with butanolacetic acid-water as solvent in PABA requirer.

The biochemical variations of the mutant strains from the parent strain and the chemical nature of the blue pigment are being worked out in detail³.

Zusammenfassung. Von *Fusarium vasinfectum* Atk. wurden nach Behandlung mit salpetriger Säure zwei auxotrophe Mutanten isoliert. Die eine ist Niacin-hetero-

troph und erweist sich als doppelt virulent, verglichen mit der Wildform. Die andere Mutante benötigt *p*-Aminobenzoessäure und ist nicht pathogen. Die Pathogenität der Mutanten scheint mit der Produktion von Fusarsäure parallel zu laufen.

K. RAMAKRISHNA RAO and
E. R. B. SHANMUGASUNDARAM

University Biochemical Laboratories, Madras (India),
October 6, 1965.

³ Acknowledgment: The authors wish to thank Dr. RADHA SHANMUGASUNDARAM for critical discussions.

Nucleotidsynthese und Kohlenhydratstoffwechsel in Hämolysaten

In früheren Arbeiten¹⁻³ wurde über Herstellung und Eigenschaften eines Hämolysats aus menschlichen Erythrocyten berichtet, in welchem die Fähigkeit der intakten Erythrocyten, Purinnucleosid-triphosphate aus Nucleosiden (bzw. aus R5P und Purin) zu synthetisieren, unvermindert erhalten geblieben ist. Aus der vorliegenden Arbeit geht hervor, dass auch die glykolytische Wirksamkeit der Erythrocyten dem Eingriff einer vorsichtigen Hämolyse standhält. Jedoch wird die Aktivität beider Reaktionssysteme wesentlich beeinflusst durch die Zusammensetzung der Reaktionsmischung. Mitbestimmend sind vor allem die Natur der zugesetzten Substrate, Versuchs-pH und individuelle Zusammensetzung der verwendeten Blutprobe. Variiert einer dieser Faktoren, so gehen ATP- und Laktatgehalt durchaus nicht immer parallel; unter bestimmten Bedingungen bewegen sie sich sogar in entgegengesetzter Richtung. Dieser überraschende Befund bildet den Gegenstand der vorliegenden Untersuchung. Die Tabelle zeigt, wie sich ATP- und Laktatgehalt unter der Einwirkung verschiedener Substrate ändern.

Nach Inkubation mit R5P steigt der ATP-Gehalt der Mischung auf über das Dreifache an (ca. 100 μ Mol/100 ml Blut). Weniger stark ATP-bildend wirkt FDP; noch schwächer, immerhin eindeutig positiv, freie Hexose. Die HMP führen dagegen zu einer drastischen Verminderung des ATP. Gleichzeitig steigt AMP an. Dieses Ergebnis wurde bisher in allen unseren Versuchen bestätigt. Der AMP-Zuwachs übertrifft noch die Menge des dephosphorylierten ATP. R5P, FDP und Hexosen ändern den AMP-Gehalt wenig. Der Gesamtgehalt an Adenin-nucleotiden wird durch R5P wesentlich gesteigert, nicht aber durch die anderen Substrate. Offenbar findet eine Pentosephosphatbildung aus Hexosephosphaten unter den gegebenen Bedingungen nicht in nennenswertem Masse statt.

Das nach ³ bereitete Hämolysat enthält nur wenig Milchsäure. R5P ruft eine kräftige Laktatbildung hervor. Noch mehr Laktat entsteht nach HMP-Zusatz, wobei allerdings zu beachten ist, dass stöchiometrisch die Laktatbildung aus HMP um $\frac{1}{6}$ grösser sein muss als die aus R5P. Bei FDP ist die Glykolyse nur halb so stark; noch

geringer bei den Hexosen. Das Verhalten der Hexosen ändert sich aber vollständig nach Zugabe von Hexokinase; Laktat steigt an; ATP zeigt den für HMP charakteristischen Abfall bei entsprechendem AMP-

Einfluss verschiedener Metabolite auf die Adeninnucleotid- und Laktatbildung

Nr	Substrat	AMP	ATP	Laktat	ATP/ Laktat
0	Hämolysat, nicht inkub.	4,5	30,0	30	1,000
1	Ribose-5-phosphat	+ 0,5	+ 72,0	+ 330	0,283
2	Glukose	+ 2,2	+ 9,0	+ 130	0,244
3	Fruktose	+ 2,0	+ 5,0	+ 100	0,269
4	Glukose-1-phosphat	+ 27,0	- 18,0	+ 460	0,024
5	Glukose-6-phosphat	+ 37,0	- 20,0	+ 380	0,024
6	Fruktose-6-phosphat	+ 19,5	- 18,4	+ 360	0,029
7	Fruktose-1,6-diphosphat	- 0,5	+ 23,5	+ 200	0,232
8	3-Phosphoglycerat	- 0,2	+ 15,0	+ 70	0,450

Die Reaktionsmischung enthält in einem Gesamtvolumen von 12 ml 10 ml Hämolysat¹ aus 5 ml Aderlassblut, sowie folgende Substanzen in μ Mol pro 1 ml Hämolysat: 7,2 Merkaptoäthanol; 1,2 MgCl_2 ; 4,8 Phosphat pH 7,4; 0,6 Adenin; 6,0 R5P bzw. eines der anderen Substrate. Inkubation 1 h bei 37°C. Trennung der Nucleotide über Dowex 1; ihre spektrophotometrische Bestimmung². Die Zahlen sind Mittelwerte aus Blut vier verschiedener Individuen, ausgedrückt in μ Mol/100 ml Blut. In Zeile 1-8 sind die Zunahme bzw. Abnahme von AMP, ATP und Laktat gegenüber dem zugehörigen Anfangswert angegeben. Laktat wurde nach HOHORST⁴ bestimmt.

Abkürzungen: AMP, Adenosin-5-monophosphat; ADP, Adenosin-5-diphosphat; ATP, Adenosin-5-triphosphat; Gl-1-P, Glukose-1-phosphat; Gl-6-P, Glukose-6-phosphat; F-6-P, Fruktose-6-phosphat; FDP, Fruktose-1,6-diphosphat; 3-PG, 3-Phosphoglycerat; HMP, Hexosemonophosphat; R5P, Ribose-5-phosphat.

¹ W. KLEIN und E. BERETTA, Boll. Soc. It. Biol. sper. 39, 1722 (1963).

² W. KLEIN und E. BERETTA, Abstr. 6. Int. Cong. Biochem., New York 1964.

³ W. KLEIN, Z. physiol. Chem. 338, 168 (1964).

⁴ H. J. HOHORST, Biochem. Z. 328, 509 (1957).