

phloroglucinol-HCl test was employed to test the lignin content, no positive stain reaction was observed, indicating the non-ligniferous but cellulose nature of such cell walls. It may be concluded that sclereid formation was not inhibited at a lower IAA concentration like 0.125%, but the sclereids formed showed a number of intracellular structural variations. The influence of IAA and other antioxidants that promote cell growth but inhibit lignin synthesis, and the general role of auxins in cell wall synthesis have recently been discussed by SIEGEL<sup>10</sup> and LEOPOLD<sup>11</sup>. The cytochrome oxidase activity was identified in sclereid initials of *Rauwolfia* stem by histochemical studies<sup>12</sup>. The total suppression of sclereid development under the influence of a high concentration of IAA in the species presently investigated is well comparable with the observations made in *Pseudotsuga*. The other auxins NAA and 2,4-D were also tried in similar concentrations as mentioned above, and these inhibited further leaf development. Other details of sclereid differentiation, under the influence of IAA, as

well as the effects of NAA, and 2,4-D, will be published in subsequent papers.

*Zusammenfassung.* Die Blätter von *Fagraea fragrans* enthalten polymorphe Sklereide. Indolyl-Essigsäure (IES) in einer Konzentration von 0,125% hemmt die Verholzung der Sklereiden, höhere IES-Konzentrationen unterdrücken die Bildung der Sklereiden vollständig.

A. N. RAO and Miss M. SINGARAYAR

*Botany Department, University of Singapore (Singapore), 22 October 1967.*

<sup>10</sup> S. M. SIEGEL, *The Plant Cell Wall* (Pergamon Press, New York 1962).

<sup>11</sup> A. C. LEOPOLD, *Plant Growth and Development* (McGraw-Hill Co., New York 1964).

<sup>12</sup> A. J. MIA and S. M. PATHAK, *J. exp. Bot.* 46, 177 (1965).

### Bacteriophage Typing of *Vibrio eltor*

Studies on the phage-typing of *Vibrio eltor* have been described by NICOLLE and his group<sup>1,2</sup>, GALLUT and NICOLLE<sup>3</sup> and EISENTARK<sup>4</sup>. The phage-typing scheme of NICOLLE and his group did not prove to be of much practical value<sup>5</sup>. GALLUT and NICOLLE examined a total of only 14 strains of *V. eltor*, and their scheme provides only a broad classification into 3 groups. The scheme of NEWMAN and EISENTARK is yet to be assessed. A tentative scheme of phage-typing of *V. eltor* was proposed by MUKERJEE<sup>6</sup>, which has been discarded by the author himself because serious discrepancies had been observed on repetition of the test.

In 1965 a phage-typing scheme for epidemiological identification of El Tor strains was developed using 5 groups of phages, 3 being lytic mutants of temperate phages and 2 isolates from stool samples of cholera El Tor patients. Nine phage-types of *V. eltor* could be identified (Table I).

However, it was found subsequently that the host-range of the group V typing phage had changed, and it had to be discarded. It was replaced by a stool phage, H74/64, and a new scheme adopted by which 6 phage-types of strains could be identified (Table II).

This new group V phage, as may be seen from Table II, did not help in diversifying type determination as it lyses all El Tor strains isolated from cholera El Tor patients; but it helps to differentiate between the classical and the El Tor types of vibrios. Vibrios of phage-types 1 and 2 are invariably found to be non-lysogenic, whereas the other types are lysogenic.

Using the new scheme, 3464 strains of *V. eltor* isolated from the different epidemics between 1937 and 1966 have been typed. Celebes was found to have all the 6 phage-types of strains. It was also observed that the number of phage-types in the outbreaks in the course of the spread of the pandemic decreased progressively with time and distance from the original endemic focus in Celebes. In the initial phase, when cholera El Tor spread outside Celebes during 1961-62, large numbers of people carried the infection from Celebes to Hong Kong and the Philippines, and, as would be expected along the lines of

Table I

Phage-type of vibrio	Lysis by phage group				
	I	II	III	IV	V
1	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	-
3	+	+	+	-	-
4	+	+	-	-	-
5	+	-	-	-	+
6	+	+	-	-	+
7	+	+	-	+	+
8	+	+	+	-	+
9	-	+	-	-	+

Table II

Phage-type of vibrio	Lysis by phage group					Classification according to previous scheme
	I	II	III	IV	V	
1	+	+	+	+	+	1 and 2
2	+	+	+	-	+	3 and 8
3	+	+	-	+	+	7
4	+	+	-	-	+	4 and 6
5	+	-	-	-	+	5
6	-	+	-	-	+	9

<sup>1</sup> P. NICOLLE, J. GALLUT and L. LE MINOR, *Annls Inst. Pasteur*, Paris 99, 664 (1960).

<sup>2</sup> P. NICOLLE, J. GALLUT, P. DUCREST and J. QUINOU, *Revue Hyg. Méd. soc.* 10, 91 (1962).

<sup>3</sup> J. GALLUT and P. NICOLLE, *Bull. Wld Hlth Org.* 28, 389 (1963).

<sup>4</sup> F. S. NEWMAN and A. EISENTARK, *J. infect. Dis.* 114, 217 (1964).

<sup>5</sup> S. MUKERJEE, *Proc. Cholera Res. Symp., U.S. Pub. Hlth Serv.*, Publ. No. 7328, p. 9 (1965).

<sup>6</sup> S. MUKERJEE, *Indian J. med. Res.* 52, 331 (1964).

primary spread, multiplicity of phage-types of vibrios were seen to occur among the strains from those places. But during the subsequent spread of the disease from the secondary foci in these areas, only fewer phage-types of vibrios would be transmitted; in conformity with this argument only 2 types of vibrios could be found in Pakistan and India, where cholera El Tor entered in 1963-64.

The epidemiological validity of the phage-typing scheme has been established by demonstrating the uniformity in phage-types of strains in outbreaks originating from single sources of infection. Vibrios isolated in the localized outbreaks in Kowloon in 1964<sup>7</sup> originated from the Nam Yuen restaurant in Temple Street; similarly outbreaks in Indore, Karnal and Nagpur in India in 1965 and in Korat in Thailand in 1966, could be ascertained as having originated from a single source of infection. In all these outbreaks, the isolates of *V. eltor* were of identical phage- and sero-types. Successive isolates from 14 chronic carriers of *V. eltor* in the Philippines and Thailand, and 37 sets of strains isolated from cholera patients and infections in their known contacts also showed uniformity of phage- and sero-types.

The chief utility of the phage-typing scheme for *V. eltor* is in tracing the spread of the epidemic from one place to

another, rather than in tracing chronic carriers and the spread of infection through individuals.

A detailed account of the work will be published elsewhere.

*Résumé.* On a développé un schéma de lysotypie de *Vibrio eltor*. A l'aide de 5 types de bactériophages on a classé 3464 souches en 6 lysotypes et trouvé un type de bactériophage qui est toujours lytique pour les souches de *V. eltor* isolées de malades cholériques El Tor.

S. BASU<sup>8</sup> and S. MUKERJEE

WHO International Reference Centre for Vibrio Phage-Typing, Indian Institute of Experimental Medicine, Calcutta-32 (India), 29 September 1967.

<sup>7</sup> P. H. TENG, Proc. Cholera Res. Symp., U.S. Pub. Hlth Serv., Publ. No. 1328, p. 328 (1965).

<sup>8</sup> Present address: Dr. S. BASU, University of California, Department of Bacteriology, Los Angeles, California 90024, USA.

## Bildung von Reaktionsholz durch Zentrifugalbeschleunigung

In krummwüchsigen Holz findet man häufig ein anormales Holzgewebe, Reaktionsholz genannt, dessen Bildung durch sehr verschiedene exogene und endogene Faktoren ausgelöst werden kann, wobei dem Schwerkraftreiz eine besondere Bedeutung zukommt<sup>1,2</sup>. Zur weiteren Aufklärung der Schwerkraftwirkung auf die Differenzierung der Kambiumzellen haben wir Versuche mit Zentrifugalbeschleunigungen durchgeführt. Im Gegensatz zu JACCARD<sup>3,4</sup> und SCOTT und PRESTON<sup>5</sup>, die ihre Untersuchungen über die ganze Vegetationsperiode ausdehnten, um die bei der Zentrifugation auftretenden Krümmungsbewegungen mit der Reaktionsholzbildung in Beziehung zu bringen, haben wir versucht, durch möglichst kurze Reizgaben die Reaktionsholzbildung ohne Krümmungsreaktion auszulösen. Darüber hinaus bemühten wir uns, den Einfluss der Zentrifugalbeschleunigung quantitativ zu erfassen, indem wir die Zahl der gebildeten Reaktionsholzzellen in Abhängigkeit von der Beschleunigung und der Versuchszeit ermittelten.

*Methode.* Als Versuchspflanzen verwendeten wir 10 Tage alte, gleichgestaltete Sämlinge der Rosskastanie (*Aesculus hippocastanum* L.). In den Zentrifugenteller wurden jeweils 4 Blumentöpfe für einen Versuch eingesetzt (Figur 1). Der Stamm der Pflanze war 21,5 cm vom Mittelpunkt des Tellers entfernt. Die Versuchsdaten sind aus der Tabelle ersichtlich.

Die Versuche liefen über 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96, 120 h. Die Auswertung erfolgte mikroskopisch an Querschnitten, die der Mitte des Stammes (10 cm über der Basis) entnommen wurden. Hierbei wurden Zellzählungen im Holzteil vorgenommen, und zwar auf jedem Querschnitt jeweils 6 radiale Zellreihen auf der zentrifugalen und 6 radiale Zellreihen auf der zentripetalen Seite. Jeder Versuch mit je 4 Einzelpflanzen wurde 4- bis 5mal wiederholt, so dass bei der Mittelwertbildung eine gute statistische Sicherung gegeben ist. In dieser Veröffentlichung

beziehen sich alle Angaben nur auf die Mittelwerte der in einer radialen Zellreihe gebildeten Reaktionsholzzellen (in den Figuren als Zellen bezeichnet).

*Ergebnisse.* Die Zentrifugalbeschleunigung verursacht in den Kastanien-Epikotylen eine Reaktionsholzbildung. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von JACCARD<sup>4</sup> wird das Reaktionsholz stets zentripetal angelegt, auf der zentrifugalen Seite sind keine Reaktionsholzzellen nachweisbar. Damit ist erwiesen, dass die Zentrifugalkraft gleichartig wie die Schwerkraft einwirkt und die Massenbeschleunigung als Ursache der Reaktionsholzbildung anzusehen ist.

Mit wachsender Versuchszeit nimmt die Zahl der Reaktionsholzzellen zu (Figur 2). Die Zunahme ist jedoch

<i>n</i>	$\omega$	<i>b</i>	<i>b/g</i>
0,25	1,571	52	0,05
0,5	3,142	212	0,2
1	6,283	850	0,9
2	12,566	3395	3,5

Drehzahl	$n = U \times \text{sec}^{-1}$
Winkelgeschwindigkeit	$\omega = 2 \pi n \times \text{sec}^{-1}$
Beschleunigung	$b = r \omega^2 \text{ cm} \times \text{sec}^{-2}$
Erdbeschleunigung	$g = 981 \text{ cm} \times \text{sec}^{-2}$

<sup>1</sup> G. CASPERSON, Flora 155, 515 (1965).

<sup>2</sup> G. CASPERSON, Planta 64, 225 (1965).

<sup>3</sup> P. JACCARD, Rev. gén. Bot. 32, 273 (1920).

<sup>4</sup> P. JACCARD, Ber. schweiz. Bot. Ges. 49, 135 (1939).

<sup>5</sup> D. R. M. SCOTT und S. B. PRESTON, Forest Sci. 1, 178 (1955).