

stationären Wert zunächst noch auf den doppelten Betrag erhöhte Atmung, der Abfall der Atmungsinduktion über 3 Phasen ist jedoch nicht mehr zu beobachten. Wird über das gleiche Algensediment nach dieser langen Verweilzeit unter anaeroben Bedingungen wieder normale atmosphärische Luft geleitet, so treten bereits nach 5 min die üblichen, unter aeroben Bedingungen zu beobachtenden Induktionsphänomene der Photosynthese und der Dunkelatmung wieder in Erscheinung.

Eine weit stärkere Wirkung des O_2 -Entzuges auf die Induktionsphase der Photosynthese kann nach einer Einwirkung der anaeroben Bedingungen von 14 Stdn. beobachtet werden (Abb. 2, Kurve 1). Mit Lichtbeginn zeigt sich eine erheblich verzögerte und nur allmählich

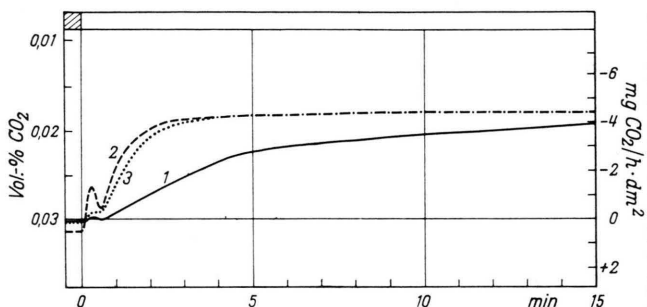


Abb. 2. Registrierkurven der photosynthetischen CO_2 -Aufnahme des gleichen Sedimentes von *Chlorella vulgaris* (Trockensubstanz 30,5 mg). Kurve 1: nach 14-stdg. Einwirkung anaerober Bedingungen; Kurve 2: im Anschluß daran 10 min unter aeroben Bedingungen (atm. Luft); Kurve 3: nach 5 min erneutem O_2 -Entzug. Weitere Angaben wie bei Abb. 1.

anlaufende photosynthetische CO_2 -Aufnahme, die eine kaum mehr ausgeprägte Induktionsphase aufweist. Die Photosynthese kommt erst mit Hilfe des bei Belichtung gebildeten Sauerstoffs stärker in Gang und erreicht nur allmählich einen etwas niedriger liegenden stationären Wert. Nach dem Umschalten auf aerobe Bedingungen (atmosphärische Luft) kann nach 10 min bereits wieder der normale Induktionseffekt der Photosynthese in vollem Umfang beobachtet werden (Kurve 2). Erneuter O_2 -Entzug setzt die primäre CO_2 -Aufnahme bei Lichtbeginn wiederum erheblich herab (Kurve 3). Damit ist erwiesen, daß die Auswirkung des O_2 -Entzuges auf die Induktionseffekte der Photosynthese vollständig reversibel ist.

Die an den Algensedimenten von *Chlorella vulgaris* erzielten Ergebnisse demonstrieren deutlich, daß der O_2 -Entzug praktisch nur die Induktionsperiode der photosynthetischen CO_2 -Aufnahme und weniger die Höhe des stationären Wertes beeinflusst. Nach den vorliegenden Beobachtungen kann man annehmen, daß der O_2 -Entzug ein an der primären CO_2 -Bindung beteiligtes System hemmt und daß durch das während der Belichtung gebildete O_2 diese Hemmung allmählich aufgehoben wird. Weitere Untersuchungen müßten zeigen, ob bei den beobachteten Wirkungen des O_2 -Entzuges auf die Induktionsphase der Photosynthese eine unmittelbare Beeinflussung des postulierten primären CO_2 -Acceptors vorliegt oder ob die hier beschriebenen Effekte nach den Vorstellungen von WARBURG⁶ durch die Hemmung oder fast vollständige Blockierung der Rückreaktion gedeutet werden können.

Wir danken unserer techn. Assistentin Frau H. MESCHKE für ihre fleißige und zuverlässige Mitarbeit.

Tubuläre Strukturen in Zellkernen toxischgeschädigter Leukozyten

Von H. RUSKA und C. RUSKA

Institut für Biophysik und Elektronenmikroskopie
der Medizinischen Akademie Düsseldorf

(Z. Naturforsch. 19 b, 774—775 [1964]; eingegangen am 27. Mai 1964)

Zahlreiche bakterielle Toxine verursachen Gewebenekrosen. Es hat sich gezeigt, daß sie z. T. sehr spezifische enzymatische Eigenschaften besitzen, die sie zum Abbau von Kollagen und anderen Proteinen, von Nucleinsäuren und von Lipoiden befähigen. Bei der Suche nach lytischen Wirkungen auf Komponenten der Kernstruktur fanden wir ein Staphylokokkenhämolyysin¹ zum partiellen Kernabbau geeignet. Seine Einwirkung auf Leukozyten im subkutanen Gewebe von Kaninchen hinterläßt in den oft stark veränderten Kernen und Kernfragmenten einheitliche tubuläre Strukturen von etwa 50 nm Durchmesser, 5 nm Wandstärke und vermutlich mehreren μm Länge (Abb. 1*). Wie weit das Toxin allein die Freilegung von Tubuli hervorbringt wie

weit der Toxinwirkung folgende, autolytische Vorgänge eine Rolle spielen, ist noch ungeklärt. Außer in den Leukozyten zeigten sich, wenn auch weniger deutlich, nach der Einwirkung von intracutan gespritztem Staphylokokkentoxin (10^3 hämolytische Einheiten, DMH₅₀) tubuläre Strukturen in den interphasischen Kernen der basalen Zellen des Stratum germinativum und nach Toxinresorption durch den Darm, in Arbeitskernen von Epithelzellen.

Beziehungen der Tubuli zu den in Prophasekernen beobachteten Axialstrukturen der Chromosomen^{2,3} sind sehr unwahrscheinlich. Ihr Durchmesser ist geringer als der Abstand der lateralen Elemente im axialen Komplex. Er ist andererseits wesentlich größer als der von Chromatinfäden. Die Verteilung tubulärer Strukturen über den ganzen Leukozytenkern ist gleichmäßiger als sie in Spermatozyten von *Drosophila* während der Gametogenese beschrieben wurde⁴. Der Tubulusdurchmesser in den Leukozytenkernen ist nur wenig größer als der von Kerntubuli in Spermatozyten, aber die Tubuli der Leukozyten erschienen in der Längsrichtung nicht in Kammern unterteilt, sondern durchgängig. Möglicherweise⁵ entsprechen die Tubuli den Kleinschrauben von kondensierten Chromosomen wie sie in *Amphidinium*

* Abb. 1 s. Tafel S. 678 d.

elegans und *Bac. megaterium* gefunden wurden⁶. Sie wären dann im wesentlichen eng spiralisierte DNS-Fäden. Stellenweise lassen sich tatsächlich Spiralstrukturen in der Tubuluswand vermuten.

Ferner haben wir gleich aussehende Tubuli unmittelbar unter der kutanen Toxinläsion in Muskelfasern der Maus gefunden. Ähnliche Beobachtungen liegen an

Muskelzellen des Regenwurms vor⁷. Die Beziehung dieser Tubuli zu Zellkernen war nicht immer evident. Ein Austreten tubulärer Strukturen aus der Kernoberfläche wurde an Vaccine-infizierten HeLa-Zellen gesehen⁸. Darstellung und Deutung der beschriebenen Struktur werden weiter verfolgt.

¹ Das verwendete Toxin wurde uns freundlicherweise von Prof. Dr. D. d'ANTONA, Siena, überlassen.

² M. J. MOSES, J. biophysic. biochem. Cytol., 2. Suppl., 397 [1956].

³ K. S. SCHIN u. F.-W. SCHLOTE, Verh. dtsch. Zool. Ges. Akad. Verl. Ges. Geest und Portig K-G, Leipzig 1962, S. 118.

⁴ G. F. MEYER, O. HESS u. W. BEERMANN, Chromosoma [Berlin] 12, 676 [1961].

⁵ Persönlicher Hinweis von Dr. P. GIESBRECHT.

⁶ P. GIESBRECHT, Zbl. Bakteriologie, Parasitenkunde Infektionskrankh., Abt. I, Orig. 187, 452 [1962].

⁷ J. STAUBESAND u. K.-H. KERSTING, Z. Zellforsch. 62, 416 [1964].

⁸ Persönliche Mitteilung von Dr. L. STERNBERGER, Army Chemical Center, Maryland, USA.

Regeneration und Verschmelzung nackter Laubmoosprotoplasten

VON H. BINDING

Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung
(Erwin-Baur-Institut) Köln-Vogelsang

(Z. Naturforsch. 19 b, 775 [1964]; eingegangen am 10. Juni 1964)

Gymnoplasten der Laubmoose *Funaria hygrometrica*, *Physcomitrium eurystomum* und *Bryum erythrocarpum* wurden mit Hilfe der Rasierklingenmethode nach KLERKER¹ aus jungen Stämmchenzellen gewonnen, wobei Helgoländer Seewasser (Sw) als Plasmolyticum diente. In den Stämmchen der verwendeten Arten tritt Grenzplasmolyse in 43–47-proz. Sw (entsprechend 0,30 bis 0,34-m. KCl) ein. Die Plasmolyse erfolgte in 80 bis 130-proz. Sw, die Präparation sowie die weitere Kultur auf Objektträgern in 70–75-proz. Sw. Die Protoplasten ertragen diese Konzentration mindestens 30 Tage hindurch ohne Schaden, während stärkere Plasmorrhhyse sie zum Absterben bringt.

Die Regeneration einer Wand, die dem Turgor unter normalen Kulturverhältnissen standhält, erfolgte unter den genannten Bedingungen bei Protoplasten von *Funaria* nach 15–20 Tagen, von *Physcomitrium* nach 20 bis 25 und von *Bryum* nach 30 Tagen. Die physiologische Reaktivierung und die Steigerung des Wanddruckes wird zunächst allein durch mindestens 2-tägige Belichtung mit 3000 L Mischlicht, erst danach auch durch Umsetzen auf 30-proz. Sw-Benecke-Agar und nach

weiteren 3 Tagen auf Benecke-Agar erreicht. Auf diesem, selten vorher, setzt z. T. polares Wachstum ein. Bei *Physcomitrium* (6-mal) und *Bryum* (1-mal) keimten alle Protoplasten, die eine Wand gebildet hatten, normal. Bei *Funaria* ist die Wandregeneration weitaus häufiger, jedoch keimte nur ein geringer Prozentsatz (10 von 140) zu Protonemen aus, die alle starke Wachstumsstörungen zeigten. Chromosomenzählungen bei 3 Regeneraten ergaben zweimal Tetra- und einmal Oktoploidie. Alle Gymnoplasten entstammten haploiden Stämmchen.

Die Fusionsversuche wurden z. T. in reinem Sw, z. T. in Sw mit Stärke-, Opekta- und, mit bestem Erfolg, mit Meypro-Guar²-Zusatz ausgeführt. Nach physiologischer Schädigung (starke Plasmolyse, $p_H < 4$, Elektrolyse) wurde bisher nur mehr oder weniger unvollständige Verschmelzung („Plasmosyndese“) erreicht, die im Sinne HOFMEISTERS³ jedoch schon als Fusion zu bezeichnen wäre. Die so vereinigten Protoplasten, zwischen denen eine scharfe Einschnürung erhalten bleibt, lösten sich nach einiger Zeit wieder voneinander und starben bald ab. Die „Plasmosymbolie“ führte zu einem beständigen „Symplasma“. Sie ist dadurch gekennzeichnet, daß die Form des Symplasmas durch die vereinte Oberflächenspannung beider Protoplasten bestimmt wird. Die Plasmosymbolie trat nur einmal spontan auf, kann aber durch feinste Glassplitter herbeigeführt werden, die, zwischen zwei Protoplasten liegend, diese an der gemeinsamen Berührungsfläche aufschneiden. Das so entstandene Symplasma vermag eine Zellwand zu regenerieren.

¹ I. A. KLERKER, Öfvers. Vet.-Akad. Förhdl. 9, 463 [1892].

² Ein Mannan, Produkt der Meyhall Chemical AG.

³ L. HOFMEISTER, Protoplasma 43, 278 [1954].