

Ergebnis: Die Plasmaströmung hört auf nach:

Wasser:	8-10 Stdn.
Patulin 0,1 molar:	1 Min., 50 Sek.
„ 0,01 „:	3 Min., 40 Sek.
„ 0,001 „:	5 Min., 20 Sek.

Patulin permeiert somit in kürzester Zeit durch die Plasmahaut (die Grenzschicht des Zytoplasmas nach außen, gegen die Zellwand hin) in das Zellinnere und bringt die Plasmaströmung nahezu schockartig zum Stehen (*Vergiftung des Plasmas*).

Bei Lykomarasmin konnte dagegen keine Wirkung auf die Plasmaströmung von *Elodea* festgestellt werden.

C) Wirkung von Patulin und Lykomarasmin auf die Plasmahaut und die Vakuolenwand (Randentest)

Werden Stücke von ausgewaschenem Randengewebe (rote Rüben, *Beta vulgaris rubra*) in Patulinlösungen während 24 Stunden im Kühlschrank aufbewahrt, so färbt sich die Flüssigkeit rot; die Patulinlösung bewirkt somit einen Austritt von Anthozyan aus der Vakuole durch das Plasma und die Plasmahaut hindurch ins Freie. Die Vakuolenwand und die Plasmahaut müssen also derart geschädigt worden sein, daß sie für hochmolekulare Vakuoleninhaltsstoffe durchlässig werden (*Zerstörung der Semipermeabilität der Plasmagrenzschichten*).

Werden bei Serienversuchen die Randenstücke mit Patulinlösungen in steigender Konzentration versetzt, so erhält man eine abgestufte Skala von der nahezu farblosen Flüssigkeit (niedriger Patulingehalt) über rosa bis zu tieferer Färbung (hoher Patulingehalt). Dadurch ist es möglich, die Menge des aus dem Randengewebe herausgelösten Anthozyans kolorimetrisch zu bestimmen. Die Vergleichslösung wurde in der Weise bereitet, daß wir aus 6,25 cm³ mit Quarzsand zerriebenen und 4 Stdn. mit Wasser ausgeschütteltem Randengewebe sämtliches Anthozyan herauslösten und mit Wasser auf 200 cm³ verdünnten; dieser Farbton wurde zu 100% gesetzt.

Ergebnis: Innerhalb 24 Stdn. werden aus 6,25 cm³ Randen, in Scheiben von 7 mm Durchmesser und 3 mm Dicke, im Kühlschrank an Anthozyan herausgelöst:

Wasser	farblos
Patulin 0,1 molar	0,45%
„ 0,01 „	0,2%
„ 0,001 „	0,15%
„ 0,0001 „	nicht mehr meßbar

Die 0,45prozentige Anthozyanlösung war bereits kräftig rot, die 0,15prozentige Lösung schwach rosa. Aus technischen Gründen, die in der ausführlichen Arbeit zu besprechen sind, mußten die Versuche mit Scheiben statt mit zerriebenen Geweben, die ein vollständiges Herauslösen des Anthozyans ermöglicht hätten, durchgeführt werden.

Lykomarasmin übt auf rote Rüben, soweit bis jetzt festgestellt, keine Wirkung aus.

Anhang: Versuche mit tierischen Objekten (Infusorien)

Zu Vergleichszwecken wurden einige Versuche mit einer *Colpidium*art und mit *Paramecium caudatum* durchgeführt.

Patulin wirkt auf die *Colpidien* nur in einer Konzentration von 0,1 molar, und zwar auch dann nur sehr schwach. Lykomarasmin übt dagegen eine deutlich

sichtbare Wirkung aus, indem die *Colpidien* nach Zugabe einer 0,08molaren Lösung in einen krampfartigen, mit torkelnden Drehbewegungen verbundenen Zustand verfallen, dem nach 7 Minuten der Tod folgt. Wir haben hier den bis heute einzigen Fall, wo Lykomarasmin stärker wirkt als Patulin.

Umgekehrt verhalten sich die um ein Vielfaches größeren *Paramecien*. Hier wirkt Patulin stärker als Lykomarasmin. Besonders deutlich kommt dies zum Ausdruck, wenn man *Paramecien* und *Colpidien* vermischt mit Patulin bzw. Lykomarasmin versetzt: die *Paramecien* gehen in 0,05molarem Patulin augenblicklich zugrunde, die *Colpidien* nicht. Mit Lykomarasmin sterben die kleinen *Colpidien* nach kurzer Zeit, während die *Paramecien* keine oder nur schwache Schädigung zeigen.

*

Wir möchten aus diesen und ähnlichen Versuchen schließen, daß sowohl das Antibiotikum Patulin als der Welkestoff Lykomarasmin für pflanzliche und z. T. auch für tierische Zellen ausgesprochene Plasmagifte sind, die u. a. die Semipermeabilität der Plasmahaut und der Vakuolenwand zerstören. Während jedoch das Patulin verhältnismäßig wenig spezifisch ist und ein breites Wirkungsspektrum besitzt, zeigt das Lykomarasmin eine ausgeprägtere Spezifität.

ERNST GÄUMANN, OTTO JAAG und RUDOLF BRAUN

Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich, den 20. November 1946.

Summary

The toxic action of *lycomarasmine* (a wilting agent produced by *Fusarium lycopersici* Sacc., the causal organism of tomato-wilting) and of *patulin* (clavacin, an antibiotic produced by *Penicillium patulum* and by some other fungi) on some test-objects is studied (anthocyanin-test with red turnips, plasma-streaming test with *Spirogyra* etc.). Both substances are able to destroy for instance the semipermeability of the plasma boundary layer; but *patulin* proves to be more toxic for these objects than *lycomarasmine*, the specific poison of the tomato wilting disease.

Explantations in vitro de blastoderms de Poissons (*Salmo*, *Esox*)

But: Tandis que chez les Batraciens l'autodifférenciation *in vitro* des territoires du germe est déjà très bien étudiée surtout par HOLTFRETER¹ (1931) elle est loin de l'être aussi bien chez les Poissons. Les seules études de détermination sur fragments isolés sont celles de LUTHER² (1935-1937) effectuées sur l'œuf de Truite suivant la méthode préconisée par MANGOLD³ (1931) de la greffe dans le sac vitellin d'un alevin. Ce procédé qui donne d'excellents résultats, introduit toutefois un facteur inconnu car le milieu intérieur de l'hôte agit sur l'explantat et modifie son degré de différenciation. Il n'est pour s'en convaincre que de comparer les résultats obtenus par HOLTFRETER en cultivant la même ébauche soit dans la cavité péritonéale d'un

¹ J. HOLTFRETER, Arch. Entw. Mech. 124 (1931).

² W. LUTHER, Verh. dtsch. zool. Ges., 1935; Arch. Entw. Mech. 135 (1937).

³ O. MANGOLD, Naturwiss. 19 (1931).

tétard (1929), soit dans un milieu purement minéral (1931); dans le deuxième cas, la différenciation généralement moins poussée, traduit réellement les possibilités intrinsèques du transplant.

J. OPPENHEIMER¹ (1935), par contre, a cultivé en milieu minéral (liquide de Holtfreter) des blastodermes de *Fundulus* à différentes étapes de l'ontogénèse et privés de leur vitellus. Enfin TI-CHOW TUNG et YU-FUNG-YEH-TUNG² ont réalisé des expériences de fragmentation d'œufs et d'isolement de blastomères chez *Carassius*.

J'ai consigné dans cette note les premiers résultats de la mise au point d'une technique de culture appropriée à l'étude des potentialités de fragments du germe de Poisson. Sur ce problème est venu se greffer celui des rapports blastoderme-vitellus au cours des premiers stades du développement.

Technique: La blastula, prélevée aseptiquement, est cultivée dans du Holtfreter triple, stérilisé, qui constitue un milieu nettement hypertonique, puisque son $\Delta = 0^{\circ}68^{\circ}\text{C}$ alors que celui de l'œuf de Truite est de $0^{\circ}50^{\circ}\text{C}$ (SVETLOV)³. L'explantat s'enroule rapidement, soude ses bords libres et prend ainsi l'aspect d'une sphère. Ce phénomène doit être dû à la rétraction d'une pellicule superficielle analogue à celle étudiée par HOLTFRETER⁴ chez les Amphibiens (1943).

Résultats: *Salmo*: les explantats survivent une douzaine de jours mais demeurent à l'état d'hyperblastule indifférenciée dont les cellules superficielles se groupent, probablement sous des influences purement mécaniques, en une couche de revêtement. Les mitoses se poursuivent une dizaine de jours environ, puis apparaissent des figures pycnotiques marquant le début de la dégénérescence.

Esox, au contraire, fournit des différenciations très poussées. Dans l'explantat, étiré, les structures anatomiques et histologiques ne s'ordonnent pas harmonieusement comme dans un embryon normal mais révèlent toutefois, de par leur degré d'achèvement, un développement polarisé selon un axe (rostro-caudal?). La chorde et les structures induites par elle le montrent nettement.

La chorde, de forme capricieuse et souvent ramifiée, a déclenché dans le neur ectoblaste qui l'enveloppe, la formation de plusieurs axes médullaires (on peut en compter jusqu'à 7 sur une même coupe) (fig. 1). A l'extrémité « antérieure » de la chorde et même en avant d'elle les différenciations sont de type cérébral, mieux développées que chez un embryon normal de même âge et l'une d'entre elles présente des indications de ventricules. A mesure que nous nous déplaçons vers l'autre extrémité de la chorde ces structures deviennent progressivement moins parfaites et se réduisent finalement à des groupements cellulaires neuroïdes ordonnées autour d'un point ou d'un axe. Ce fait traduit une décroissance progressive du pouvoir inducteur. Il convient aussi de signaler l'existence de moelles induites par le mésenchyme seul, reconnaissables à leur lumière centrale et arrondie (HOLTFRETER⁵, 1934).

Le mésoblaste se concentre en certaines zones, autour de lumières réelles ou virtuelles et donne des ébauches somitiques à structure concentrique.

Je n'ai pu reconnaître avec certitude la présence d'entoblaste.

Enfin, à côté de cellules épiblastiques organisées en épithélium typique recouvrant « l'embryon » d'autres cellules restées indifférenciées s'aggrègent en masses bourgeonnantes, lâchement reliées aux autres tissus.

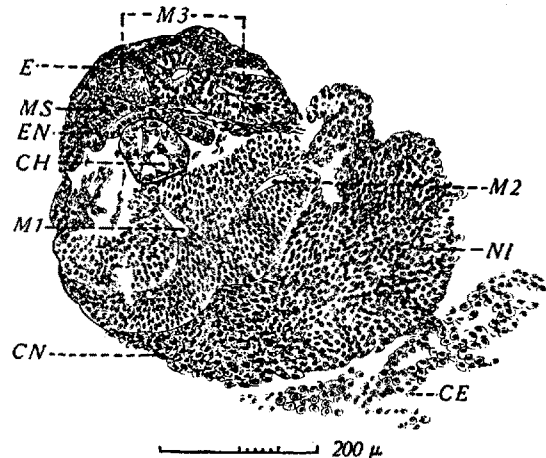


Fig. 1. Coupe dans l'explantat 1072 (*Esox lucius*).

- CE cellules épithéliales
- CH chorde (d'aspect plus embryonnaire que dans les coupes postérieures)
- CN cellules nécrosées
- E épithélium
- EN entoblaste (?)
- M axes médullaires et cerveaux - M 3 représente 3 digitations terminales d'une moelle unique
- MS mésenchyme
- NI neur ectoblaste indifférencié

Conclusion: Séparés de leur vitellus à des stades correspondants, les blastodermes de *Salmo* et d'*Esox* ne se comportent pas de la même façon. *Esox*, comme *Fundulus* (OPPENHEIMER), poursuit sa différenciation et seuls, semble-t-il, les troubles mécaniques dus à l'absence de support vitellin, empêchent les structures de se grouper en un embryon normalement constitué. L'activité du germe de *Salmo*, par contre, est brusquement interrompue et s'éteint lentement comme s'il y avait épuisement progressif d'une ou de plusieurs substances dont la fourniture était assurée par le vitellus. On peut supposer qu'il s'agit des matériaux nécessaires à la synthèse des acides nucléiques, matériaux qui diffuseraient plus ou moins rapidement suivant la vitesse de développement de l'œuf; la concentration (?) atteinte au stade blastula chez *Salmo* (œuf à développement lent) ne serait pas alors suffisante pour lui permettre de franchir le cap de la différenciation¹.

Une telle hypothèse est actuellement en cours de vérification.

CH. DEVILLERS

Laboratoire d'hydrobiologie appliquée du Paraclet (Somme), le 3 décembre 1946.

Summary

Blastula of trout (*Salmo irideus*) and pike (*Esox lucius*), deprived of their yolk, are cultivated in the Holtfreter solution. The differentiation of the germ of the trout stops; that of the pike germ is carried on almost normally. That difference might be due to the influence of nucleic acids contained in it.

¹ J. BRACHET, Embryologie chimique, 1 vol., Masson, Paris 1944.

¹ J. OPPENHEIMER, J. exper. Zool. 71 (1935).

² TI-CHOW TUNG and YU-FUNG-YEH TUNG, Proc. zool. Soc. London 114 (1944).

³ P. SVETLOV, Arch. Entw. Mech. 114 (1920).

⁴ J. HOLTFRETER, J. exper. Zool. 93 (1943).

⁵ J. HOLTFRETER, Arch. exper. Zellf. 15 (1934).