

to a very low temperature. The dehydration after this step may not inhibit the mutational step in those cells which are viable¹.

To elucidate this possibility a few cultures of our two chromosome brewery yeast² at different physiological states were lyophilized at the Haffkine Institute, Bombay, in the second week of January, 1950. The giant colonies of the control grown at Bangalore at the time these experiments were carried out are illustrated in figures 1 and 2. The colonies are mixtures of mutants³.

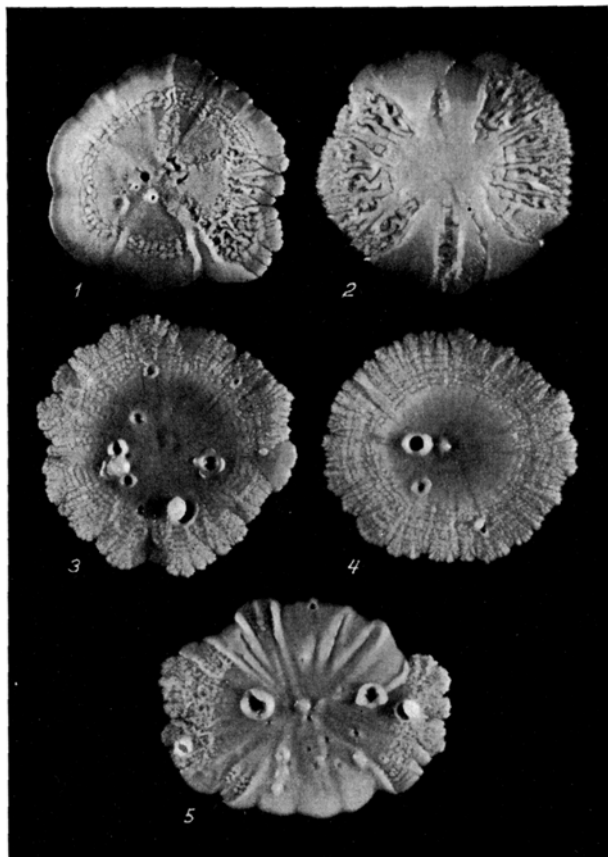


Fig. 1. – By 1 control (12. 10. 45) grown on barley malt agar. 2.9 cm*, 23-day growth, 30. 1. 50.

Fig. 2. – By 1 control (12. 10. 45). 2.1 cm, 16-day growth, 30. 1. 50.

Fig. 3. – By 1 96-hour old culture. Lyophilized on 13. 1. 50. Rejuvenated on 8. 3. 50. 2.8 cm, 11-day growth, 22. 3. 50.

Fig. 4. – By 1 96-hour old culture. Lyophilized on 13. 1. 50. Duplicate ampoule rejuvenated on 8. 3. 50. 2.7 cm, 9-day growth, 22. 3. 50.

Fig. 5. – By 1 control (12. 10. 45). 3.2 cm, 9-day growth, 22. 3. 50. * Longest Diameter.

A 96-hour old fermenting culture lyophilized and stored in two ampoules was rejuvenated in the first week of March, 1950. The colonies grown from the above are presented as figures 3 and 4. According to the classification given elsewhere⁴ the colony in figure 3 belongs to the *Smooth III* while that in fig. 4 is of the *Rough I* category. The resemblance of figures 3 and 4 to figures

14 and 3 respectively presented by SUBRAMANIAM *et al.*¹ is rather striking. These types have already been shown to occur spontaneously as a result of gene mutations¹. The control from a stock agar slant culture run simultaneously with the colonies of the rejuvenated cultures is illustrated in fig. 5. It is a mixture of *Smooth I*, *Smooth II*, *Smooth III*, and *Rough I* types. The lyophilized cultures show therefore no similarity to the control at the time of lyophilization or rejuvenation.

If preservation by freeze-drying produces no genetic changes², the rejuvenated cultures should be indistinguishable in their giant colony characteristics from those of the control strain at the commencement of the investigation. Because it is not so, we have to surmise that this method of preservation does produce genetic changes. This is nothing surprising, since it is well known that thermal shocks like an increase in temperature do accelerate the frequency of gene mutations.

M. K. SUBRAMANIAM and L. S. PRAHLADA RAO

Cytogenetics Laboratory, Indian Institute of Science, Bangalore-3, S. India, November 15, 1950.

Zusammenfassung

Eine aus einer Mischung von Mutanten bestehende Hefekultur wurde lyophilisiert. Nach Verjüngung hatte diese Kultur keine Ähnlichkeit mehr mit der Kontrollkultur im Zeitpunkt der Lyophilisierung bzw. der Verjüngung. Die genetischen Veränderungen nach Lyophilisierung können auf Genmutationen zurückgeführt werden.

¹ See Note 4, left column.

² L. J. WICKERHAM and A. A. ANDREASEN, Wallerstein Lab. Commun. 5, 165 (1942).

Über den Einfluß antibiotischer Stoffe auf das Wachstum von Grünalgen

Im Rahmen einer größeren Arbeit wurden Versuche über den Einfluß zweier Antibiotika und eines Antiseptikums auf drei Algenklone gemacht. Solche Untersuchungen wurden anscheinend bisher nicht publiziert. Unsere Ergebnisse seien daher hier mitgeteilt.

Wir stellten uns folgende Versuchsfrage: Wie verhalten sich Grünalgen in ihrer Entwicklung auf Agar-Agar-Nährböden gegenüber Streptomycin, Penicillin und Trypaflavin?

Als Versuchsmaterial dienten drei Grünalgenklone: 1. *Cystococcus Placodii saxicolae* Nr. 1400 (vorläufige Bezeichnung¹); 2. *Coccomyxa ellipsoidea* (*Solorinae saccatae*) Zehnder; 3. *Trentepohlia spec.*

Die Klone 1 und 2 sind Gonidien, die aus den Flechten *Placodium saxicola* bzw. *Solorina saccata* isoliert wurden¹. Der *Trentepohlia*-Klon wurde von Herrn Prof. Dr. OTTO JAAG während seines Aufenthaltes in Buitenzorg in Reinkultur genommen und für meine Untersuchungen freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Die Algen wurden in Erlenmeyer-Kolben auf Malzagarböden (2% Malzextrakt, 1,7% Agar-Agar) geimpft, die nach der Autoklavierung kurz vor dem Erstarren folgende Zusätze erhalten hatten:

- Kontrollkolben: Kein Zusatz.
- Streptomycin (Dihydro-Streptomycin Merck, als Sulfat): Je 1 γ , 10 γ , 25 γ pro Kubikzentimeter Substrat.
- Penicillin (kristallisiertes Kaliumsalz Penicillin G der Firma «Bristol», Syracus, N. Y.): Je 0,2 γ , 1 γ , 5 γ pro Kubikzentimeter Substrat.

¹ A. ZEHNDER, Ber. Schweiz. Bot. Ges. 59, 202 (1949).

¹ L. ATKINS, W. MOSES, and P. P. GRAY, Wallerstein Lab. Commun. 12, 365 (1949).

² M. K. SUBRAMANIAM, Proc. Nat. Inst. Sci. India 12, 143 (1946).

³ M. K. SUBRAMANIAM, B. RANGANATHAN, and S. N. KRISHNA MURTHY, Cellule 52, 39 (1948). – S. DURAISWAMI and M. K. SUBRAMANIAM, Cellule 53, 215 (1950).

⁴ M. K. SUBRAMANIAM, B. RANGANATHAN, and S. N. KRISHNA MURTHY, Cellule 52, 39 (1948).

d) Trypaflavin: Je 6 γ, 30 γ, 150 γ pro Kubikzentimeter Substrat.

Jeder Versuch wurde in 5 oder 10 parallel laufenden Wiederholungen durchgeführt. Nach 8 Wochen wurden die mittleren Durchmesser der Algenkulturen bestimmt und die Messungen statistisch bearbeitet. Die Resultate aus den Klonen 1 und 2 sind in der Tabelle dargestellt. Die Zahlen bedeuten den durchschnittlichen Koloniedurchmesser in Millimeter.

Zusatz zum Substrat	<i>Cystococcus</i>	<i>Coccomyxa</i>
Kontrolle	10,7 ± 0,64	4,9 ± 0,10
Streptomycin 1 γ pro cm ³	5,0 ± 0,42	4,1 ± 0,28
10 γ pro cm ³	0	2,6 ± 0,18
25 γ pro cm ³	0	0
Penicillin 0,2 γ pro cm ³	14,0 ± 0,57	5,0 ± 0,15
1 γ pro cm ³	13,4 ± 0,50	5,3 ± 0,33
5 γ pro cm ³	12,8 ± 0,66	6,0 ± 0,57
Trypaflavin 6 γ pro cm ³	10,5 ± 0,63	5,1 ± 0,28
30 γ pro cm ³	10,0 ± 0,77	4,9 ± 0,10
150 γ pro cm ³	0	4,9 ± 0,29

Cystococcus ist die empfindlichste Alge. 1 γ Streptomycin pro Kubikzentimeter Substrat hemmte das Wachstum eindeutig, ohne aber die Kolonien zum Absterben zu bringen. Mikroskopisch zeigten die Zellen keine Unterschiede gegenüber solchen aus den Kontrollkolben. Auch Zoosporen bildeten sich in unverminderter Zahl. Wurden Algen von diesem Substrat nach 8 Wochen auf Kontrollböden geimpft, so wuchsen sie normal weiter. Die höheren Streptomycindosen töteten die Alge ab: In keinem Fall waren Zellen, nach 8 Wochen aus diesen Kolben auf Kontrollböden geimpft, zum Wachstum zu bringen. Die größere Flächenentwicklung der Alge in den Penicillinkolben ist auf eine flachere Wachstumsform der Kolonien zurückzuführen, die durch eine geringere Festigkeit des Substrates verursacht wurde.

Coccomyxa wurde erst durch eine Dosis von 25 γ Streptomycin pro Kubikzentimeter Nährboden abgetötet. Auch gegenüber Trypaflavin ist der Klon widerstandsfähiger als *Cystococcus*.

Trentepohlia wächst bedeutend langsamer als die beiden anderen Stämme. Die Wuchsform der Kolonien ist halbkugelig oder noch mehr überhöht, so daß der Durchmesser der Kolonien kein zuverlässiges Maß für das Wachstum der Alge darstellt. Eindeutig ergab der Versuch eine Wachstumshemmung der Alge auf dem Substrat mit der höchsten Streptomycindosis. Penicillin und Trypaflavin beeinflussten die Entwicklung nicht.

Den Herren Prof. Dr. E. GÄUMANN und Prof. Dr. O. JAAG danke ich sehr für die Ermöglichung der vorliegenden Arbeit und das ihr entgegengebrachte Interesse.

ALFONS ZEHNDER

Institut für spezielle Botanik der ETH. Zürich, den 1. Mai 1950.

Résumé

On a étudié l'influence de la streptomycine, de la pénicilline et de la trypaflavine sur le développement de trois chlorophycées appartenant aux genres *Cystococcus*, *Coccomyxa* et *Trentepohlia*. La streptomycine ralentit ou supprime – selon sa concentration – le développement des algues, tandis que la pénicilline n'a aucune influence. La trypaflavine supprime, en concentration élevée, la croissance du *Cystococcus*, mais n'influence pas le développement des deux autres espèces.

Evolution des granules cytoplasmiques et conditions de synthèse des ribonucléoprotéines

Depuis les travaux de CASPERSSON¹, BRACHET², etc., la relation entre acide ribonucléique et synthèse de protéines a été maintes fois proposée; avec la découverte des «granules cytoplasmiques», isolables par centrifugation différentielle (CLAUDE³, BRACHET⁴, CHANTRENNE⁵, etc.), cette relation s'est sensiblement précisée et récemment JEENER⁶, utilisant des solutions salines concentrées, mettait en évidence des procès de dissociation des granules qui semblent confirmer que la synthèse des protéines cellulaires s'effectuerait au niveau des organites les plus lourds et les plus riches en équipements enzymatiques divers.

Il est cependant un autre aspect du problème de l'organisation cellulaire qui, jusqu'à présent, semble n'avoir suscité que peu de travaux: il s'agit des conditions de synthèse des nucléoprotéines elles-mêmes. Or, dans une série de recherches consacrées aux mécanismes de la fécondation chez *Ascaris megalocephala* (PANIJEL⁷), nous avons montré que l'apport d'une protéine spécifique par le spermatozoïde permettait une synthèse spectaculaire de granules ribonucléoprotéiques dans le cytoplasme ovulaire et que cette synthèse s'effectuait au niveau même de la protéine. Ultérieurement, nous avons indiqué (PANIJEL⁸, PANIJEL et PASTEELS⁹) qu'il s'agissait d'une véritable «recharge» en granules organisés et que cette recharge s'effectuait en deux étapes: l'une comportant la synthèse des ribonucléoprotéines à l'échelon moléculaire («le surnageant» des expériences de centrifugation), l'autre l'inclusion de ces ribonucléoprotéines dans les granules qui sont ensuite progressivement redistribués dans le cytoplasme. Nous voudrions apporter ici un nouvel exemple de procès biochimiques du même ordre qu'il nous a été donné d'étudier sur un matériel analogue.

Avant nous, PASTEELS¹⁰ (cf. PANIJEL¹¹) a, en effet, précisé que, lors de la spermatogénèse chez l'*Ascaris*, les granules cytoplasmiques étaient éliminés lors des divisions de maturation sous forme d'une hernie violemment basophile (le «cytophore» des auteurs). Nous avons montré (PANIJEL¹¹) que cette élimination était en relation étroite avec les procès de dissociation des petits granules qui accompagnent les synthèses de protéines deutoplasmiques et que, sous une autre forme, de tels procès se retrouvaient également lors des oogenèses lécitiques. – Mais, ici, le fait qui doit retenir notre attention, c'est que si le matériel basophile du «cytophore» (cf. fig. 1–4) résulte bien, en effet, de l'accumulation des granules cytoplasmiques, il présente cependant un aspect et une structure qui le particularisent singulièrement et le différencient nettement des matériels basophiles usuels. En premier lieu, il manifeste une forte métachromasie; en second lieu, il est possible de montrer par l'emploi des

¹ T. CASPERSSON, Naturwiss. 29, 33 (1941).
² J. BRACHET, Enzymologia 10, 1, 87 (1941).
³ A. CLAUDE, Cold Spring Harbor 9, 263 (1941).
⁴ J. BRACHET, Embryologie Chimique (Paris 1947); C. r. Soc. Biol. 142, 1241 (1948).
⁵ H. CHANTRENNE, Bioch. Biophys. Acta 1, 387 (1947).
⁶ R. JEENER, Bioch. Biophys. Acta 2, 633 (1948).
⁷ J. PANIJEL, Bull. Soc. Chim. Biol. 29, 1098 (1947); 30, 116 (1948); 31, 510 (1949).
⁸ J. PANIJEL, Bull. Soc. Chim. Biol. 31, 1, 387 (1949).
⁹ J. PANIJEL et J. PASTEELS, à paraître Arch. de Biol. 1951.
¹⁰ J. PASTEELS, Arch. Biol. 59, 4, 405 (1948).
¹¹ J. PANIJEL, Thèse principale (Paris 1950). «Le métabolisme des nucléoprotéines dans la gamétogénèse et la fécondation.» A paraître (Hermann ed., Paris 1951).