

Nachweis von Kernäquivalenten in Zyanophyzeen

Im Anschluss an den kürzlich mitgeteilten fluoreszenzmikroskopischen Nachweis spiralförmiger Kernäquivalente bei Bakterien *in vivo*¹ wurden nun Zyanophyzeen untersucht, die bekanntlich wie die Bakterien nach klassischer Auffassung als «kernlose» Organismen gelten. Zu den Versuchen wurden Hormogonales vom Typus Oscillatoria und Nostoc herangezogen. Das Material wurde nach Fluorochromierung mit Akridinorange (1:5000) *in vivo* fluoreszenzmikroskopisch untersucht. Als Fluoreszenzmikroskop diente die grosse Einrichtung von ZEISS-WINKEL, die es gestattet, in einem besonderen Filter-Zwischenentubus verschiedene Lichtfilter in den Strahlengang zu bringen und zu Sperrfiltern von erforderlicher Durchlässigkeit wahlweise zu kombinieren. Die Anregung der Fluoreszenz erfolgte mit den Linien $\lambda = 3600, 4050$ und 4350 Å des Quecksilber-Höchstdruckbrenners HBO 200 von OSRAM, bei Verwendung des BG-12-Glases von SCHOTT als Erregerfilter. Als Sperrfilter wurden je nachdem folgende Schott-Gläser benutzt: Das OG 4 + BG 23 als Grünfilter, das (GG 4 +) OG 5 als Orangefilter und das RG 1 als Rotfilter zur selektiven Beobachtung der in verschiedenen Fluoreszenzfarben leuchtenden Zellanteile.



Strahler: HBO 200; Lichtfilter: BG 12-OG 5; Färbung: Akridinorange 1:3000.

Abb. 1. Zyanophyze, Typ Oscillatoria 1600:1. Haploide Kernäquivalente – Typ A.

Bei Verwendung des RG-1-Glases als Sperrfilter bemerkt man sowohl in unbehandelten als auch in fluorochromierten Zyanophyzeen eine starke feuerrote Fluoreszenz. Diese Primär-Fluoreszenz kommt dem blau-grünen Assimilationspigment, dem Zyanophyll (Chlorophyll a + Phykozyanobilin) zu, welches sich im sogenannten Periplasma der Zellen befindet. Dieses photosynthetische Prinzip weist im Gegensatz zu allen höheren grünen Pflanzenzellen weder Grana- noch Plastidenstruktur auf und scheint auch der Fluoreszenzerscheinung nach zu urteilen ziemlich diffus verteilt zu sein. Bei Verwendung des OG-5-Glases als Sperrfilter erkennt man in dem Periplasma akridinorange tingierter Fäden basophile Grana, sogenannte metachromatische Körpchen (syn. Volutingranula), die in gelblichrotem Farbton leuchten. In den gleichen Zellen ist dann im Zentroplasma hellgrünlich leuchtend das Kernäquivalent dargestellt, welches meist von polymorpher retikulärer

Gestalt ist. Bei Verwendung des Kombinationsgrünfilters OG 4 + BG 23 lassen sich diese Kernäquivalente leuchtendgrün isoliert von den übrigen fluoreszierenden Strukturen betrachten. Bei Oscillatoria speziell konnte dabei je nach der Zellgrösse (als Funktion ihres Faden-durchmessers betrachtet) eine verschieden starke Be-stückung mit Kernäquivalenten festgestellt werden (Kernplasmarelation): Dünne Fäden wiesen nur 1 bis 2 stäbchenförmige (spirale) Äquivalente auf (Abb. 1), dickere dagegen 3 bis 5. Diese sind jedoch nur in wenigen Zellen einzeln auszumachen. Meist bilden sie ein Knäuel (Abb. 3), insbesondere bei zunehmender Anzahl Stäbchen je Zelle, und verquellen auch leicht (Interphasenkern?). Auf diese Weise entsteht oft der Eindruck eines Chromatinretikulums, wie es insbesondere von POLJANSKY und PETRUSCHEWSKY¹ beschrieben wurde und welches in der Literatur oft als «Chromidial-Apparat» bezeichnet wird. Für diesen mit basischen Farbstoffen tingierbaren Anteil des Zentroplasmas sind abwechslungsreiche Figuren charakteristisch. Nach eigenen Untersuchungen hat eine Reihe von Formen Kernäquivalente, die vornehmlich zur Längsrichtung des Fadens orientiert sind (Abb. 1). Bei ihnen – Typ A – scheint vor allem die Querteilung der Kernäquivalente durch Fragmentation (wie bei den Bakterien) an der Ausbildung der beschrie-

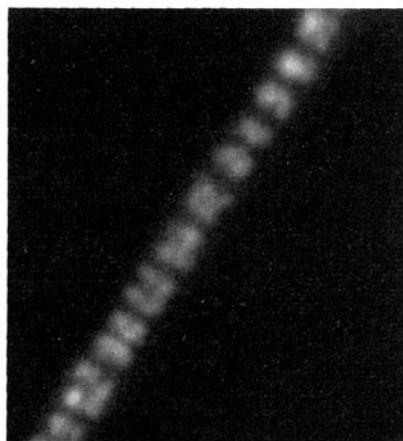


Abb. 2. Zyanophyze, Typ Oscillatoria 1600:1. Haplo- und diploide Kernäquivalente – Typ B.

benen Kernformen beteiligt zu sein, da die Äquivalente passiv bei der Ausbildung der trennenden Zellwände durchschnitten werden (vgl. DRAWERT²). Eine Längsteilung ist bei ihnen als Ausnahme zum Erzielen der «Polyploidie» denkbar. Bei anderen Formen (Abb. 2) – Typ B –, die senkrecht zur Fadenachse orientierte Kernäquivalente aufweisen, scheint hingegen lediglich eine Längsteilung vorzukommen, und zwar sowohl zur Vorbereitung auf die Zellteilung als auch zum Erzielen der hier oft verbreiteten «Diploidie». Bei den Nostocaceen schliesslich (Abb. 3) – Typ C – scheint keine bevorzugte Richtung der Äquivalente zur Fadenachse zu bestehen. In ihnen beobachtet man daher bei der Teilung der Äquivalente, die wahrscheinlich als Längsteilung erfolgt, Diastergebilde, die lebhaft an Mitosen höherer Zellen erinnern (Abb. 3, links unten), wenn man in der polyploiden Anordnung der Kernäquivalente eine Garnitur von Chromosomen erblicken will.

¹ A. KRIEG, Naturwissenschaften 40, 414 (1953); Z. Hyg. 138, 357 (1954).

² H. DRAWERT, Ber. dtsch. bot. Ges. 63, 117 (1950).

Bei Anwendung eines andern Fluorochroms, des Berberins bzw. seines Sulfates, lassen sich *in vivo* die metachromatischen Körperchen selektiv darstellen. Bei Benutzung des OG-5-Glases als Sperrfilter sind sie in leuchtendem Gelb neben der roten Fluoreszenz des Assimilationsapparates zu beobachten; bei Verwendung des Kombinations-Grünfilters (OG 4 + BG 23) erscheinen sie isoliert in grüner Fluoreszenzfarbe. Wenn man von geschädigten oder abgestorbenen Zellen absieht, färbt das Berberin das Kernäquivalent nicht an. Die selektive Speicherung dieses Atmungsgiftes spricht für Chondriosomenäquivalenz dieser Grana. Ähnliche Verhältnisse scheinen bei Bakterien zu herrschen (KRIEG¹).

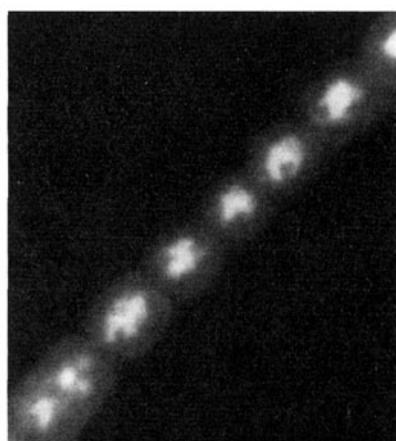


Abb. 3. Zyanophyze, Typ Nostoc. 1600:1. Polyphloide Kernäquivalente - Typ C.

Die von BRINGMANN² beschriebenen basophilen Grana, in denen der Autor besondere Kernäquivalente erblickt, sind wohl mit den fluoreszenz- wie auch phasenmikroskopisch darstellbaren Granula identisch, nicht aber mit den hier beschriebenen Kernäquivalenten. Für eine isotopic Lokalisation von Voltingranula und Kernäquivalent in sogenannten Karyoiden (BRINGMANN) bei Zyanophyzen spricht keine meiner Erhebungen.

Phasenoptisch sind den Kernäquivalenten zuzuordnende zentrale Aufhellungszonen in Analogie zu den Verhältnissen bei Bakterien zu erkennen. Im Periplasma sind die metachromatischen Granula als dunkle Körnchen zu erkennen.

A. KRIEG

Mikrolaboratorium Zeiss-Winkel, Göttingen, den 16. November 1953.

Summary

In Cyanophyceae (Oscillatoria, Nostoc), it is possible to show a nuclear equivalent system with the use of acridin orange as fluorochrome. The equivalents are rod-shaped and spiral structures respectively, showing a certain arrangement to each other and to the thread-axis (Oscillatoria), or not (Nostoc). Independently of this, equivalents of chondriosomes may be ascertained in the metachromatic granula on using "berberin" as fluorochrome. The granula contrast with the nuclear equivalent in periplasma. In contradiction to BRINGMANN, an isotopic localisation of nuclear equivalents and metachromatic granula could not be confirmed.

¹ A. KRIEG, Naturwissenschaften 41, 19 (1954).

² G. BRINGMANN, Flora 40, 398 (1952).

Observation by Means of Electron Microscope on the Blood of Subjects Affected with Scarlet Fever

A notable contribution on the problem always open concerning the etiology of scarlet fever has been brought to mind by observations by means of electron microscope.

Recent observations executed by means of electron microscope have put in evidence formations similar to elementary corpuscles on erythrocytes of circulating blood in subjects affected with scarlet fever in the acute stage of the malady (MULÈ¹).

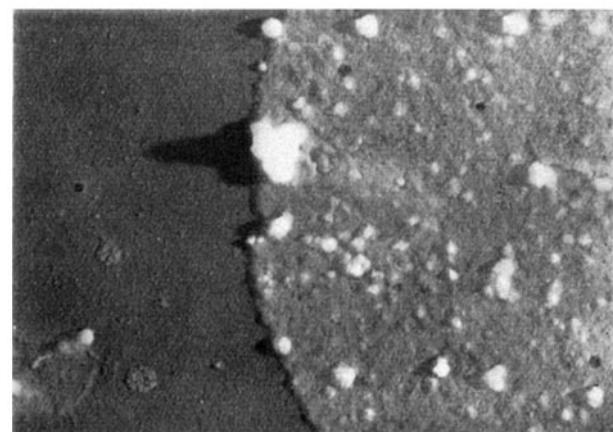


Fig. 1.—Surface of a red blood-corpusele of a scarlet fever subject withdrawn on the second day of the malady; observation performed after 72 h of incubation. The surface of the red blood-corpusele appears spread with numerous elementary corpuscles, single and massed (shadows with chromium vapours 18,000 \times 1).

In this work it has been proposed to us to extend the previous researches.

The observation was performed directly on the surface of red cells, in cultivation of the blood in nutrient fluids (meat broth containing 10% of follicular fluid, and relative anaerobiosis with superposition of olive oil).

The experiments were completed by observing the eventual changes visible in the capillaries of the corion-allantoic membrane of embryonated eggs inoculated with the blood culture.

Results. Microphotograph No. 1 represents the surface of a red cell of a subject affected with scarlet fever whose blood was withdrawn the 2nd day of the malady. The observations were performed after 72 h of incubation of the blood in the thermostat. The surface of red cells appears covered with numerous elementary corpuscles isolated and grouped together.

Elementary free corpuscles isolated or grouped, overhanging fluid in the sediment is noted. Such a finding is clearer in the observations on withdrawals performed after 30 days of incubation of blood in thermostat (Fig. 2 and 3).

These corpuscles that we find inside and outside the red cells of blood of scarlet fever patients, are not found in the culture of blood of normal subjects.

With the withdrawals from cultures of thirty days, some chick embryos were inoculated at the 9th day of incubation.

¹ F. MULÈ, La Pediatria 61, 1 (1953).