

croisements effectués à l'intérieur de chacune des populations de 1955. Dans chaque population les plantes peuvent être classées en 2 ou 4 groupes interfertiles, chacun des groupes étant constitué d'individus interstériles. Pour 10 populations, les résultats sont les suivants:

Population I,	23 plantes	- 4 groupes:	10, 6, 4, 3 plantes
Population II,	12 plantes	- 4 groupes:	5, 3, 2, 2 plantes
Population III,	11 plantes	- 4 groupes:	6, 3, 1, 1 plantes
Population IV,	9 plantes	- 4 groupes:	4, 3, 1, 1 plantes
Population V,	7 plantes	- 4 groupes:	2, 2, 2, 1 plantes
Population VI,	16 plantes	- 2 groupes:	9, 7 plantes
Population VII,	10 plantes	- 2 groupes:	6, 4 plantes
Population VIII,	9 plantes	- 2 groupes:	5, 4 plantes
Population IX,	7 plantes	- 2 groupes:	4, 3 plantes
Population X,	5 plantes	- 2 groupes:	4, 1 plantes

Ces premiers résultats montrent que le déterminisme génétique du phénomène d'Incompatibilité est du type *Nicotiana-Veronica*: allèle multiple au locus *S*, incapacité pour un pollen de traverser un style qui porte un allèle *S* identique au sien. De ce fait, chaque plante est hétérozygote pour les allèles *S*, et par le jeu de ces allèles d'opposition, une population à 4 groupes d'Incompatibilité est issue d'un croisement totalement compatible (ex.:  $S_1 S_2 \times S_3 S_4$ ); une population à 2 groupes est issue d'un croisement demi-compatible, les parents ayant 1 allèle commun (ex.:  $S_1 S_2 \times S_2 S_3$ ). Dans ce dernier cas l'un des groupes-fils a un génotype identique à celui du père, ce qui ne peut être vérifié pour *Oe. serrulata*, puisque c'est une espèce annuelle.

Les relations de compatibilité entre plantes appartenant aux différents groupes des 10 populations ont été établies dans une série spéciale d'opérations. Les résultats de ces opérations, superposés à ceux qui ont été obtenus entre les 12 plantes de la population de 1954, montrent que cette population initiale comportait 5 allèles différents,  $S_1$  à  $S_5$ .

En conclusion, l'Incompatibilité se présente dans *Oenothera serrulata* Nutt., elle s'y manifeste avec les mêmes caractéristiques que chez *Oenothera organensis*, *Oe. missouriensis* et *Oe. fruticosa*<sup>4</sup>, en remarquant que chez cette dernière espèce la polyploidie rend le mécanisme factoriel plus compliqué.

R. LINDER et J. BRUN

Institut de Botanique de Strasbourg, France, le 17 septembre 1956.

#### Zusammenfassung

Bei *Oenothera serrulata* Nutt., einer diploiden Art ohne Katenation, wird Inkompabilität (Selbststerilität) festgestellt. Aufgeklärt wird der Vererbungsmechanismus – eine Serie von Oppositionsalleen in einem Locus *S* –, welcher mit dem in der Gattung *Oenothera* schon bekannten identisch ist.

<sup>4</sup> R. LINDER, Année biolog. 30, 12, Bibliographie (1954).

#### Die Bedeutung der Mitochondrienstruktur für die Zitronensäuresynthese

Bekanntlich besteht ein Zusammenhang zwischen Struktur und Stoffwechsel der Mitochondrien. Unter den enzymatischen Prozessen sind es vor allem oxyda-

tive Reaktionen von meist komplexer Natur, die eine strukturelle Integrität voraussetzen. In der vorliegenden Arbeit wird gezeigt, dass eine strenge Strukturabhängigkeit auch bei einer einstufigen Reaktion bestehen kann, welche von einem in kristallisierter Form erhältlichen und in löslichen Systemen aktiven Enzym katalysiert wird.

Die Synthese der Zitronensäure aus Azetyl-CoA mittels kondensierendem Enzym ist nach den Untersuchungen von OCHOA<sup>1</sup> ein Vorgang, der an und für sich keine höhere strukturelle Organisation beansprucht. Wurde diese Synthese dagegen an Mitochondrien untersucht, so erwies sie sich als strukturabhängig. Schädigung der Mitochondrienstruktur durch hypotonische oder isotonische Inkubationslösung führte zu einer Verminderung der synthetischen Aktivität (Tabelle I).

Tabelle I

Reaktionsgemisch: 50  $\mu\text{M}$  Phosphatpuffer, pH 7,4; 5  $\mu\text{M}$   $\text{MgSO}_4$ ; 3  $\mu\text{M}$  KCN; 60  $\mu\text{M}$  Oxalazetat; Azetyl-CoA, wie angegeben. Mitochondrienmenge: 2,4 mg Eiweiß. Gesamtvolume 2,0 m. Reaktionsdauer 10 min. Temperatur 37°C. Bestimmung der Zitronensäure nach NATELSON, PINCUS und LUGOVY<sup>2</sup>.

Vorbehandlung des Mitochondrien-präparates	$\mu\text{M}$ Synthetisierte Zitronensäure mit 0,5 $\mu\text{M}$ Azetyl-CoA	$\mu\text{M}$ Synthetisierte Zitronensäure mit 5,2 $\mu\text{M}$ Azetyl-CoA
Nativ . . . . .	0,55	1,43
Isotonisch inkubiert (23 min, 37°C) .	0,35	1,71
Hypotonisch inkubiert (23 min, 37°C)	0,33	1,76

Die Hemmwirkung konnte nur nachgewiesen werden, wenn das Substrat, Azetyl-CoA, in suboptimaler Menge vorhanden war. Der Grad der Hemmung nahm mit steigender Substratkonzentration ab (Tabelle II) und wurde in Gegenwart eines grossen Azetyl-CoA-Überschusses völlig aufgehoben (Tabelle I). (In manchen Fällen konnte sogar eine Steigerung der Synthese beobachtet werden, wahrscheinlich als Folge der verbesserten Permeabilitätsverhältnisse.)

Tabelle II

Reaktionsgemisch: 120  $\mu\text{M}$  Phosphatpuffer, pH 7,4; 30  $\mu\text{M}$  Fluorazetat; 5  $\mu\text{M}$   $\text{MgSO}_4$ ; 60  $\mu\text{M}$  Oxalazetat; Azetyl-CoA, wie angegeben. Mitochondrienmenge: 3,3 mg Eiweiß. Volumen 2,05 ml. Reaktionsdauer 10 min. Temperatur 37°C. Die Schädigung der Struktur erfolgte durch hypotonische Inkubationslösung.

Substratkonzentration $\mu\text{M}/\text{Reaktionsgemisch}$	Hemmung der Zitrat synthese %
0,88	54,2
1,76	48,2
3,52	20,8
5,28	0

Dies beweist, dass trotz der Schädigung der Mitochondrienstruktur das kondensierende Ferment nicht inaktiviert wird, der Eingriff also nicht direkt am En-

<sup>1</sup> J. R. STERN und S. OCHOA, J. biol. Chem. 191, 161 (1951). – S. OCHOA, J. R. STERN und M. C. SCHNEIDER, J. biol. Chem. 193, 691 (1951).

<sup>2</sup> S. NATELSON, J. B. PINCUS und J. K. LUGOVY, J. biol. Chem. 175, 745 (1948).

zym erfolgt. Zur Sättigung ist aber bei zerstörten Mitochondrien eine viel höhere Azetyl-CoA-Konzentration notwendig als bei nativen. Unter Berücksichtigung unserer früheren Untersuchungen, die zeigten, dass die Azetyl-CoA-Deazylase der Mitochondrien bei Strukturschädigung aktiviert wird<sup>3</sup>, können die besprochenen Resultate als Folge einer Wechselwirkung beider Enzyme gedeutet werden. Die vermehrte Hydrolyse von Azetyl-CoA ergibt indirekt eine Verminderung der Zitrat-Synthese.

Bei normalem Ablauf der Stoffwechselprozesse wird das entstehende Azetyl-CoA ständig verbraucht, so dass seine aktuelle Konzentration stets niedrig bleibt. Deshalb wurde die Zitrat-Synthese auch von Azetat ausgehend untersucht, wobei dem kondensierenden Enzym nur das durch Azetataktivierung laufend produzierte Azetyl-CoA zur Verfügung steht. In diesen Versuchen konnte eine noch ausgeprägtere Strukturempfindlichkeit beobachtet werden.

Tabelle III

Reaktionsgemisch: 50  $\mu\text{M}$  Phosphatpuffer, pH 7,4; 30  $\mu\text{M}$  Fluorazetat; 5  $\mu\text{M}$   $\text{MgSO}_4$ ; 20  $\mu\text{M}$  Natriumazetat; 30  $\mu\text{M}$  Oxalazetat; 7  $\mu\text{M}$  ATP. Menge der Mitochondrien in den einzelnen Versuchen von 3,8 bis 6 mg Eiweiß. Reaktionsdauer 10 min, Temperatur 37°C. Gesamtvolumen 2,1 ml.

Vorbehandlung des Mitochondrien-präparates	Synthetisierte Zitronensäure $\mu\text{M}$
1. Nativ . . . . .	1,60
Isotonisch inkubiert (20 min, 37°C) . . . . .	0,49
2. Nativ . . . . .	1,27
Hypotonisch inkubiert (20 min, 37°C) . . . . .	0,19
3. Nativ . . . . .	0,87
Aus hypotonischem Homogenat präpariert . . . . .	0,28

Dabei konnte die Hemmung durch höhere Konzentrationen der an der Reaktion beteiligten Substrate und Coenzyme aufgehoben werden. Bekanntlich ist die Azetataktivierung ein Prozess, der auch in löslichen Systemen vor sich gehen kann<sup>4</sup>; somit ist diese grosse Strukturempfindlichkeit eher der stets sehr kleinen Substratkonzentration als einer direkten, spezifischen Hemmung der Aktivierung zuzuschreiben.

Daraus geht hervor, dass in der Zelle, wo diese Reaktionen an den Mitochondrien ablaufen<sup>5</sup>, infolge einer enzymatischen Wechselwirkung auch scheinbar strukturunabhängige Prozesse auf strukturelle Veränderungen reagieren können.

MARIA SZÉKELY

Biochemisches Institut der Medizinischen Universität, Budapest, den 3. August 1956.

### Summary

Rat liver mitochondria proved to need a structural integrity for optimal citric acid synthesis. Structural impairment leads to an inhibition of the synthetic activity of the mitochondria, the degree of inhibition being

inversely related to substrate concentration; it causes, however, no inactivation of the condensing enzyme. The dependence of this reaction upon the structural conditions is the consequence of an interaction between the two mitochondrial enzymes acetyl-CoA deacylase and condensing enzyme.

### Mitosenverteilung in der larvalen Rumpfepidermis von *Salamandra maculosa* Laur.

Ein sicheres Mass für die zeitliche Abgrenzung eines Regenerationsvorganges bietet unter anderem die Erhöhung der mitotischen Aktivität in dem von der Regeneration betroffenen Bereich gegenüber einem normalen, das heisst unverletzten Bezugssystem. Dabei geht man von der als selbstverständlich geltenden Grundbedingung aus, dass sich die beiden zu vergleichenden Systeme der Kontrolle und des Versuchs im Verlauf einer ungestörten Entwicklung bezüglich ihrer Zellzahl und Teilungsrate gleichartig verhalten. So setzen zum Beispiel auch HADORN und CHEN<sup>1</sup> in ihren Untersuchungen an *Triton-alpestris*-Larven über die Wanderung und die Frage einer erhöhten Teilungsrate der Leydigischen Zellen voraus, dass beim unverletzten Kontrolltier in der Rumpfregion die Anzahl der Epidermiszellen beider Körperhälften annähernd gleich ist.

Eigene Untersuchungen, die sich unter anderem auch mit der erhöhten mitotischen Aktivität nach Wundsetzung befassten, gaben Veranlassung, die Mitosenverteilung in der Rumpfepidermis unverletzter Salamanderlarven im Hinblick auf folgende Fragen zu prüfen:

Wie verteilen sich die Mitosen der Rumpfepidermis  
a) in cranio-caudaler,  
b) in dorso-ventraler Richtung?

Für die Versuche wurden Salamanderlarven im Alter von 14 bis 21 Tagen verwandt, die bis zur Fixierung unter konstanten Bedingungen (Wassertemperatur 17°C, tägliche Fütterung) gehalten wurden.

In einer ersten Serie wurden an 6 Tieren die Mitosen der Rumpfepidermis jeweils an einer Schnittfolge von 450 bis 600 Querschnitten an jedem 6. Schnitt ausgezählt. Das entspricht bei einer Schnittdicke von 10  $\mu$  einem ausgewerteten Rumpfbereich von 4,5 bis 6,0 mm. Dabei wurden alle Mitosestadien von der völligen Auflösung der Kernmembran bis zur späten Telophase in die Zählung einbezogen.

Wie die in Tabelle I zusammengefassten Resultate zeigen, ist auf einem Rumpfbereich von 4,5 bis 6,0 mm die Anzahl der beiderseits in Teilung befindlichen Leydigischen- und Epithelzellen annähernd gleich. Daselbe gilt auch für die Ruhekerne beider Körperhälften.

In einer abgeänderten Versuchsanordnung wurde an einer zweiten Serie von 5 Tieren der Rumpfbereich in 10  $\mu$  dicke Frontalschnitte zerlegt und an diesen die Mitosen in der die Muskelsegmente bedeckenden Epidermis getrennt nach Seite und Segment ausgezählt. Im mikroskopischen Bild lassen sich die einzelnen Segmente durch den Verlauf der Septen sowie durch eine leichte Wölbung ihrer Oberfläche deutlich voneinander unterscheiden.

Das Ergebnis der Auszählung ist aus Tabelle II zu ersehen: Die senkrecht untereinander stehenden Zahlen

<sup>3</sup> M. SZÉKELY, Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 8, 291 (1955).

<sup>4</sup> T. C. CHOU und F. LIPPMAN, J. biol. Chem. 196, 89 (1952).

<sup>5</sup> G. KALNITSKY, J. biol. Chem. 179, 1015 (1949).

<sup>1</sup> E. HADORN and P. S. CHEN, Roux' Arch. Entw.-Mech. 146, 515 (1953).