

Fettsäuren hemmen die Vermehrung in unterschiedlichem Masse. Die geprüften Fettsäuren vermögen somit Cholesterin nicht voll zu ersetzen.

Es scheint deshalb notwendig zu untersuchen, ob sie in Gegenwart von Cholesterin ($10^{-8,9}$) eine andere Wirkung besitzen. Das Ergebnis dieser Versuche ist folgendes (Tabelle): Mit Ausnahme von Stearinsäure geben alle geprüften Fettsäuren in einem gewissen niedrigen Konzentrationsbereich (maximal bei $10^{-5,5}$) eine 1,7- bis 3,5mal höhere Zellzahl als Cholesterin allein. Hier haben also auch Linol- und Linolensäure, die ohne Cholesterin sonst nur hemmend wirken, einen die Vermehrung begünstigenden Effekt. Hohe Konzentrationen der Fettsäuren, Elaidin- und Stearinsäure ausgenommen, wirken auch in Gegenwart von Cholesterin im allgemeinen hemmend.

Die Wirkung von Fettsäuren auf die Vermehrung von *T. foetus*

Fettsäure	Wuchswirkung (Vielfaches der Zellzahl der Kultur ohne Fettsäure)			
	ohne Cholesterol		mit Cholesterol (10^{-6})	
	Max.	Min.	Max.	Min.
<i>n</i> -Octadecan-säure (Stearin-)	2 × (5,0)			
<i>trans-n</i> -Octadec-9-en-säure (Elaidin-)	3,2 × (6,5)		3,5 × (5,5)	
<i>cis-n</i> -Octadec-9-en-säure (Öl-)	3,9 × (5,0)		2,8 × (5,5)	0,6 (4,5)
<i>cis-cis-n</i> -Octadec-9,12-dien-säure (Linol-)		0,6 (4,5)	2,5 × (5,5)	0,1 (4,5)
<i>cis-cis-cis-n</i> -Octadec-9,12,15-dien-säure (Linolen-)		0,3 (4,5)	1,7 × (5,5)	0,3 (4,5)
In Klammern steht die Konzentration der Fettsäure als -log				

Die Frage nach den Komponenten, die in der ätherlöslichen Serumfraktion in Gegenwart von wasserlöslicher Fraktion die Vermehrung der Trichomonaden fördern, ist somit in folgender Weise zu beantworten: Cholesterin zeigt eine Wuchsstoffwirkung, gewisse Fettsäuren allein sind ebenfalls, aber viel weniger wirksam als Cholesterin. In Gegenwart von Cholesterin vermögen ungesättigte Fettsäuren, sogar höher ungesättigte wie Linol- und Linolensäure, die Vermehrung anzuregen. Mit Cholesterin plus einzelne Fettsäuren wird eine Wuchswirkung erzielt, die mindestens gleich gut ist wie die mit der ätherlöslichen Lipidfraktion.

Ohne dass auf Grund dieser Versuche entschieden werden kann, ob im Cholesterin und den Fettsäuren bereits sämtliche für die Wuchswirkung massgebenden Bestandteile der ätherlöslichen Fraktion erfasst sind, zeigen sie, dass wahrscheinlich mehrere im Serum normalerweise vorkommende lipide Stoffe für den Effekt dieser Fraktion verantwortlich sind und dass der Grad der Wuchswirkung in starkem Masse von den quantitativen Mischungsverhältnissen solcher Komponenten abhängig ist.

W. WYSS, F. KRADOLFER und R. MEIER

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Pharmazeutische Abteilung, Basel, 14. Januar 1960.

Summary

In the presence of a minimal amount of a water-soluble growth factor from bovine serum, cholesterol together with an unsaturated fatty acid may replace the ether-soluble lipid fraction of the same serum. The concentration of cholesterol and fatty acid, as well as the chemical structure of the latter, are relevant.

Elektronenoptische Untersuchungen über die Entstehung «stacheliger» Streptomyces-Sporen

Die unterschiedliche Sporenform verschiedener Streptomyces-Arten, die FLAIG *et al.*¹ elektronenoptisch erstmalig nachweisen konnten, ist mehrfach bestätigt worden. Auch über die Bildung typischer Streptomycetensporen, die sich innerhalb der Luftmycelmembran – also *endogen* – entwickeln, herrscht prinzipiell Übereinstimmung. Eine verschiedenartige Interpretation hingegen findet der Prozess der Freisetzung dieser Sporen. So neigt ENGHUSEN² zu der Meinung, dass «alle Streptomycetensporen nach genügender Reife eine Sporenhülle verlassen», ohne auch nur den grundlegenden Mechanismus anzudeuten. Vorstellungen von VERNON³ zufolge hat man sich die Sporenfreisetzung aus nicht zum Verfall neigenden Hüllen «by means of a longitudinal split» vorzustellen. Letzteres scheint jedoch nicht für alle Arten der Gattung Streptomyces zuzutreffen, vielmehr liegt häufig dem Entstehen von Einzelsporen ein einfacher Modus zugrunde, der im Zerfall der eingeschnürten Luftmycelhyphen beruht, so wie ihn schon LACHNER-SANDOVAL⁴ andeutete und wie er von FLAIG *et al.*⁵ bestätigt wurde.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an einem Streptomyces-Stamm der morphologischen Sektion «Spira»⁶ (PRIDHAM, HESSELTINE und BENEDICT⁷) ausgeführt, der charakteristisch stachelige Sporen besitzt und sollen einen Beitrag zur Entstehung und Natur dieser Sporenstacheln liefern. Schon nach 48stündiger Kultur des Stammes auf Stärkeagar bei 28°C liessen sich im Kontaktpreparat elektronenoptisch neben glatten, mässig bestachelte, sonst aber noch undifferenzierte Hyphen erkennen (Abb. 1a). Nach weiteren 24–48 h zeigten die Hyphen ausgeprägtere Stachelbildung, und gleichzeitig konnten solche mit beginnender Einschnürung beobachtet werden (Abb. 1b und c). Im Laufe des Wachstums kam es zum Zerfall dieser Hyphen und zur Bildung von Einzelsporen, die auch in unmittelbarer Nähe der ehemaligen Verbindungsstellen Stacheln trugen (Abb. 2a). Die Stacheln scheinen hierbei keine Auswüchse der Sporenmembran zu sein, sondern sind offenbar aus der Membran der Luftmycelhyphen hervorgegangen. Da die Zellwände junger Hyphen des Streptomycetensporens Lysozym-anfällig sind, lag es nahe, den Abbau der Stacheln zu versuchen. Behandelte man die Sporen mit Lysozym

¹ W. FLAIG, H. BEUTELSPACHER, E. KÜSTER und G. SEGGER-HOLZWEISSIG, *Plant and Soil* 4, 118 (1953).

² H. ENGHUSEN, *Arch. Mikrobiol.* 21, 329 (1955).

³ T. R. VERNON, *Nature* 176, 935 (1955).

⁴ V. LACHNER-SANDOVAL, *Diss. Strassburg*, 1898.

⁵ W. FLAIG, E. KÜSTER und H. BEUTELSPACHER unter Mitwirkung von I. SCHLICHTING-BAUER, W. POLITT-RUNGE und R. KURZ, *Zbl. Bakteriol.* II, 103, 376 (1954/55).

⁶ Diesen Stamm verdanke ich Herrn Prof. E. BALDACCI, Milano (Italien).

⁷ T. G. PRIDHAM, C. W. HESSELTINE und R. G. BENEDICT, *Appl. Microbiol.* 6, 52 (1958).

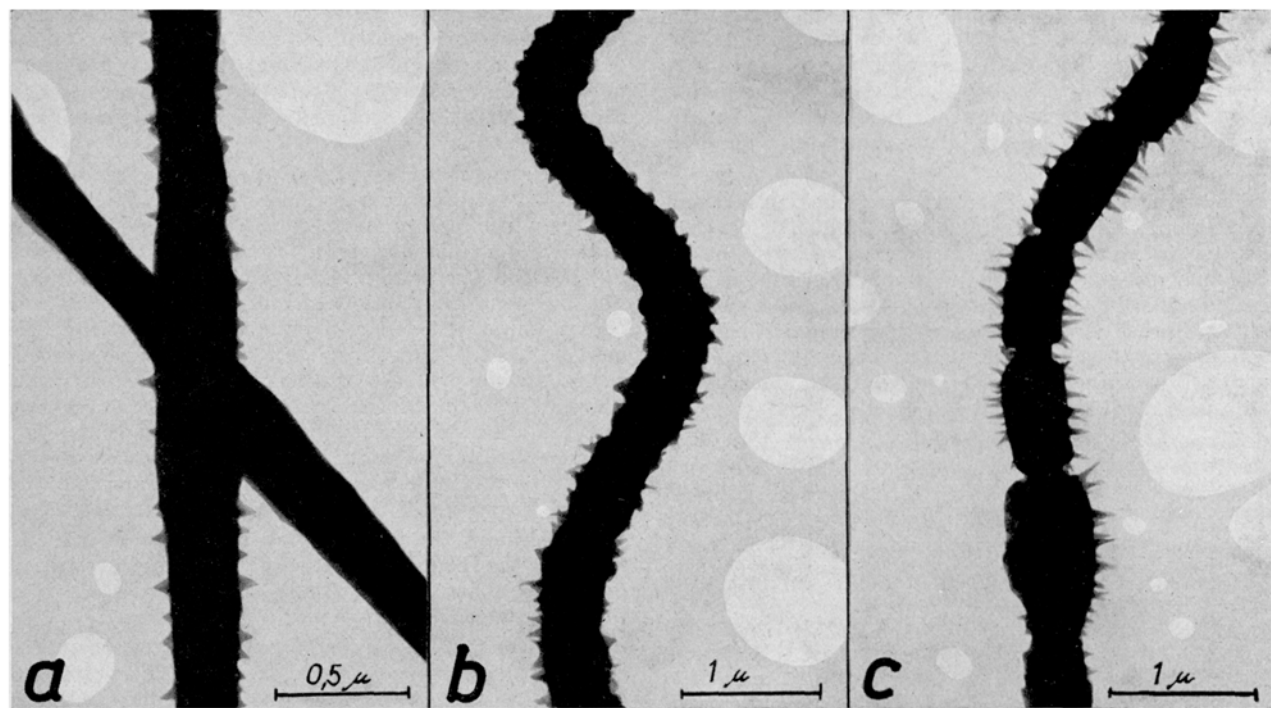


Abb. 1

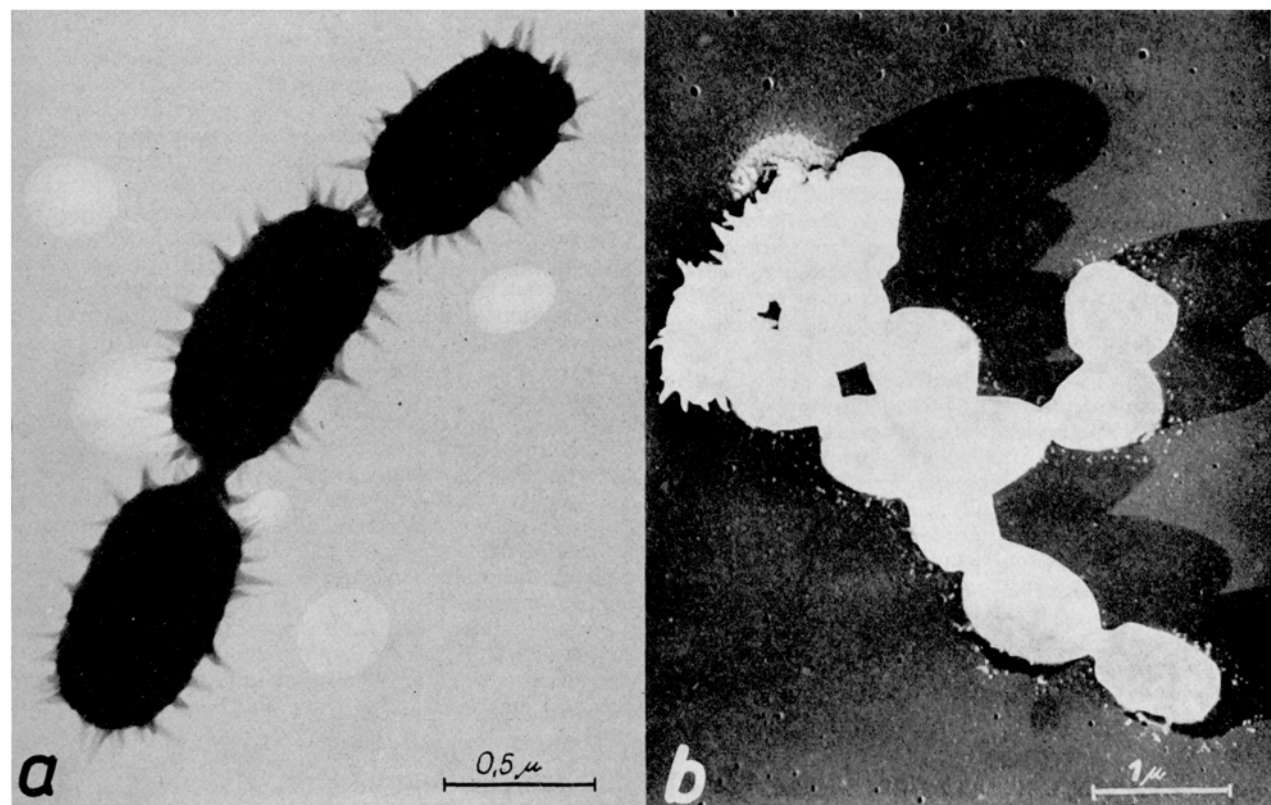


Abb. 2

(Armour & Co.) (100 γ /ml in 0,03 M Phosphatpuffer von pH 7,0), so gelang es, die Stacheln abzubauen, ohne dass die Lysozym-resistentere Sporenmembran angegriffen wurde; die Sporen erschienen nach der enzymatischen Behandlung unbestachelt, was als Beweis für die Entstehung der Stacheln aus der Hyphenmembran gewertet wurde (Abb. 2b).

Wie weitere, noch nicht abgeschlossene Untersuchungen zeigten, existiert neben diesem Modus der Stachelbildung ein zweiter, bei dem die Stacheln Auswüchse der Sporenmembran sind. Nach Freiwerden der Sporen bleiben leere, bestachelte Hüllen zurück. Hierbei könnte es sich um Sporen mit mehreren, mindestens aber mit *zwei* Membranschichten handeln. Eine sichere Entscheidung über die Membranverhältnisse werden Ultradünnschnitte durch verschiedene Sporentypen ergeben.

Dank gebührt meinem Institutsdirektor, Herrn Prof. Dr. BORRIS, für die anregenden Diskussionen, Herrn E. FISCHER für seine Unterstützung bei der Anfertigung der elektronenoptischen Aufnahmen, sowie Fräulein BOLDUAN für ihre gewissenhafte Mithilfe.

F. MACH

Botanisches Institut der Ernst-Moritz-Arndt-Universität zu Greifswald, 7. Mai 1959.

Summary

It is demonstrated, by electron-optical photography in a *Streptomyces* strain of the morphological section 'spira', that the spines of the spores arise from the membrane of the aerial mycelium hyphae and can be decomposed by lysozyme.

Localisation of Alkaline Phosphatase in the Development of the Vertebral Column in Chick

The association of the alkaline phosphatase in the mechanism of bone formation has been shown to be an important feature (MOOG¹ and LORCH²). A follow-up of the alkaline phosphatase reaction in the development of the vertebral column of chick embryos will be worthwhile because no detailed histochemical study of phosphatase in the chick vertebral column has so far been made, although MOOG¹ gives a general account of phosphatase in embryogenesis of the chick. It is important to bear in mind the changes of phosphatase reaction in the sclerotogenous tissues undergoing histogenesis and forming the elements of the vertebral column.

This study is based on White Leghorn eggs. A series of embryos ranging from 24 h to 17 days of incubation were collected. The total number of embryos studied was 32. They were fixed in chilled 80% alcohol. Serial sections were made of 10 μ thickness. For the alkaline phosphatase reaction of the cell, a modified technique of Gomori was followed, comparing each reaction with controlled slides.

Positive homogeneous reaction in the sclerotogenous cells. In the beginning of the development of the vertebral column, the sclerotogenous cells show a positive homogeneous reaction of phosphatase activity. In the embryos of 24 h and 48 h, the transverse sections show that the whole field is uniformly positive in phosphatase localisation. The cells concentrate round the notochord to form the perichordal tube which is positive in the enzyme reaction. Further development of the perichordal tube is possible by subsequent accumulation of the sclerotogenous cells round the notochord. At this stage, the cells

of the centrum are highly positive in reaction; they seem to be more reactive to this enzyme than those of the neural arches of the two sides. The cells of the basidorsal at the top may be slightly less in enzyme reaction than at its base. The area of the future supradorsal gives a feeble reaction.

Diminution of the phosphatase reaction. The changes of the alkaline phosphatase reaction in the cells of the developing centrum and arches become detectable next in the embryos of sixth and seventh day of incubation when the sclerotogenous cells are transformed into protochondrium. The development of the centrum and arches has now become more well defined by the cell aggregations. The most noticeable change in the conversion of the osteogenous cells is the evidence of a decrease of the phosphatase activity in them. At the periphery of the developing vertebra, the surrounding cells continue to show rich phosphatase accumulation. Decrease of phosphatase reaction in the future vertebral elements is well marked. The positive reactions of the peripheral cells are also clear.

Furthermore, the centrum proper, the fibrous arch elements of the neural arch, the fibrous crescent shaped intercentrum and the packing cells continue to be rich in the phosphatase activity.

Whenever there is a secondary plastering of cells, these cells are invariably positive in reaction. The notochord cells, at this stage, do not show any phosphatase activity. In an embryo of 10 days, sections demonstrate the weak nature of the phosphatase activity.

Revival of phosphatase activity during calcification.— In the general background of a reduced phosphatase reaction of the cellular matrix of the centrum and the arches, a number of reactive cells appear. The peripheral cells continue to be positive in the enzyme activity. This marks a transformation of the sclerotogenous cells and a revival of the phosphatase activity in the different elements of the vertebral column. The appearance of phosphatase reaction in the cells coincides with the process of calcification and marrow formation. The reappearance of phosphatase has been observed to be largely extracellular in nature. Gradually the number of reactive areas increases and at the 7th day of incubation large number of cells accumulate alkaline phosphatase round them. It shows that the phosphatase activity is noticed around the cells at a time when they are undergoing a process of calcification. Phosphatase-laden osteoid gradually achieves thickness. A number of reactive cells appear among the negative ones in the centre of the centrum and arches of the vertebral column.

Discussion.—The important feature of this study centres round the phase-variation of the alkaline phosphatase activity of the cells in the developmental process of the vertebral column. To start with, the sclerotogenous cells show positive alkaline phosphatase reaction. However, this positive reaction gradually fades away to an almost negative degree when the cells reach a stage of protochondrium. The process of losing phosphatase reaction of cells at the protochondrium condition has also been observed previously by MOOG¹ in chick embryos and by LORCH² in fish embryos. Reappearance of phosphatase in the cells at a later stage of calcification and marrow formation is a feature of utmost importance. DANIELLI³ has also emphasised this point and has recorded: 'This

¹ F. MOOG, Biol. Bull. 86, 51 (1944).

² I. J. LORCH, Quart. J. micr. Sci. 90, 381 (1949).

³ J. F. DANIELLI, Cytochemistry — A Critical Approach (1953), p. 65.