

die caudalen Anteile eines oder beider Thymuslappen entfernt worden waren, fanden sich kleine PLK sowohl an der operierten als auch an der nicht operierten Seite. Grosse PLK wurden nur bei einem von 21 nicht thymektomierten Kontrolltieren gefunden. Dagegen besaßen 18 der 31 neonatal teilthymektomierten Tiere unabhängig von dem ektomierten Thymusanteil mindestens einen grossen PLK an der operierten Seite. In keinem Fall wurden bei teilthymektomierten Tieren grosse PLK an einer nicht operierten Seite gefunden.

In den grossen PLK fallen besonders postkapilläre venulae mit hohem Endothel auf. In grösserer Zahl sind diese venulae an der Mark-Rindengrenze gelegen. Bei einigen Tieren enthalten die grossen PLK Follikel im Mark, welches aus nur schmalen Verbänden von Reticulumzellen und weiten Sinus besteht. In einigen grossen PLK fand sich eine beträchtliche Anzahl von Mastzellen in Kapsel und Mark (Figur 2).

Diskussion. Parathymische Lymphknoten (PLK) sind bei neonatal komplett thymektomierten NMRI-Mäusen in grösserer Anzahl vorhanden als bei Tieren mit inkompletter Thymektomie. Dies lässt sich ebensowenig wie das Auftreten grosser PLK auf der operierten Seite nach partieller Thymektomie durch ein grösseres lokales Operationstrauma erklären. Die grossen PLK lassen nämlich reaktive Strukturen wie Keimzentren, Blasten oder Plasmazellen vermissen. Da ausserdem die kleinen unreifen PLK sowohl an der operierten als auch an der nicht operierten Seite angetroffen werden, scheint es eher möglich, dass die Zunahme der Anzahl der PLK und die Entstehung grosser PLK Folgen der Wegnahme von Thymusgewebe sind. In Analogie hierzu wurde eine Zunahme grosser Lymphknoten in der Thymusregion auch nach induzierter Thymusatrophie beobachtet⁸.

Die kleinen PLK dürften neu entstehenden Lymphknoten entsprechen. Ähnlich ist im Peritoneum beim

Hund eine Neubildung lymphoider Follikel und kleiner Lymphknoten durch Exstirpation mesenterialer Lymphknoten und Ligatur der Milzvene induziert worden⁹. Die grosse Anzahl von Mastzellen in Kapsel und Mark der grossen PLK ähnelt den regenerativen Vorgängen in der Milz nach Bestrahlung¹⁰.

Summary. The effect of complete and partial, neonatal thymectomy on parathymic lymphnodes was investigated in NMRI-mice. The results indicate that neonatal extirpation of thymic tissue causes an increase in size and number of parathymic lymphnodes.

M. HOLUB, W. F. KRÜSMANN¹¹, H. D. KASEMIR¹¹ und L. KERP¹²

Institut Klinické a Experimentální Medicíny, Praha (CSSR), und Medizinische Universitätsklinik, Hugstetter Strasse 55, D-7800 Freiburg (Deutschland), 3. November 1972.

⁷ H. J. JESDINSKY, *Meth. Inform. Med.* 7, 187 (1968).

⁸ B. H. WAKSMAN, *Atlas of Experimental Immunobiology and Immunopathology* (Yale University Press, New Haven and London 1970), fig. 3 und 5.

⁹ V. PAPILIAN und J. G. RUSSU, *Virchows Arch. path. Anat. Physiol.* 297, 441 (1936).

¹⁰ V. VIKLICKY und I. TREBICHAUSKY, *Folia biol., Praha* 16, 347 (1970).

¹¹ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

¹² Herrn Doz. Dr. H.-J. JESDINSKY, Institut für medizinische Statistik und Dokumentation der Universität Freiburg i. Br. danken wir für die statistischen Berechnungen.

Beeinflussung der DNS-Synthese durch Sulfite im Wurzelmeristem der Puffbohne (*Vicia faba*)

Die Befunde über Stoffwechselbeeinflussungen durch SO_2 , resp. HSO_3^- in höheren Pflanzen haben im Zusammenhang mit Arbeiten über die Luftverschmutzung in letzter Zeit erheblich zugenommen¹⁻³. Eine Ausnahme macht der Nukleinsäurestoffwechsel. Die bislang vorliegenden Angaben beschränken sich auf Mikroorganismen,

wo bereits eindrücklich auf die mutagene Wirkung von Na-bisulfite hingewiesen wurde⁴. Zur Erhellung der Gegebenheiten in einer höheren Pflanze werden cytologische Verfahren herangezogen, die insbesondere eine Analyse der DNS-Synthesephase im Zellzyklus beinhalten⁵.

Keimlinge der Puffbohne (*Vicia faba* L., var. Witkiem) wuchsen während 5 Tagen auf gepuffertem Wasser von pH 7,5 bei 22°C in schwarzen Petrischalen. Für die Fütterungen wurden die Kulturlösungen sorgfältig abgehebert und durch Na_2SO_3 -Lösungen ersetzt, welche gegebenenfalls mit tritiiertem Thymidin versehen waren. Aufnahme und Einbau des Thymidins wurden an 1 cm langen Wurzelspitzen kontrolliert. Der lösliche Anteil konnte nach mehrfacher Auswaschung des freien Raums, durch Extraktion mit Methanol erfasst und im Flüssigkeitsszintillationszähler ausgemessen werden. Die extrahierten Wurzeln wurden sodann zur approximativen Bestimmung des fixierten Anteils homogenisiert, im

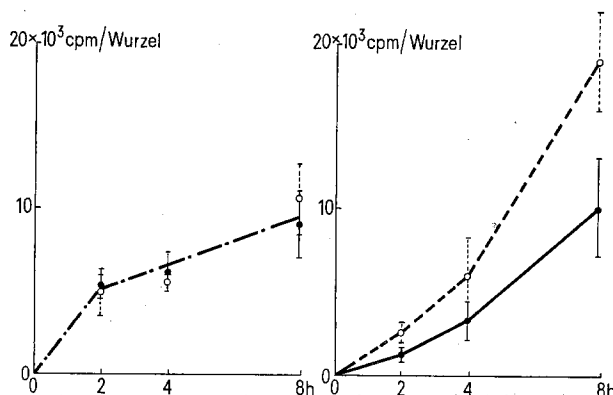


Fig. 1. Links lösliche, rechts fixierte Aktivität in 1 cm langen Wurzelspitzen nach Applikation von $1 \mu\text{C}/\text{ml}$ ^3H -Thymidin. \circ , Kontrolle; \bullet , 100 ppm Na_2SO_3 .

¹ K. GARBER, *Luftverunreinigungen und ihre Wirkungen* (Gebr. Bornträger, Berlin 1967).

² K. FISCHER, *Mitt. forstl. Bundesversuchsanstalt Wien* 92, 209 (1971).

W. LIBERA, H. ZIEGLER und I. ZIEGLER, *Planta* 109, 269 (1973).

⁴ H. HAYATSU und A. MIURA, *Biochem. biophys. Res. Commun.* 39, 156 (1970).

⁵ J. M. MITCHISON, *The Biology of the Cell Cycle* (Cambridge University Press, London 1971).

Scintillationsmedium aufgeschlämmt und ausgemessen. Die Bestimmung der Mitoseindices erfolgte an feulgefärbten Quetschpräparaten, desgleichen die mikroautoradiographische Analyse der DNS-Synthesephase, wozu die Strippingfilm-Methode verwendet wurde⁶.

Anzahl der Mitosekerne nach 24stündiger Na_2SO_3 -Behandlung

Na_2SO_3 (ppm)	Mitosekerne (%/100)
0	107 \pm 4 ^a
10	103 \pm 7 ^a
100	64 \pm 13
1000	45 \pm 5

^a Differenz nicht signifikant.

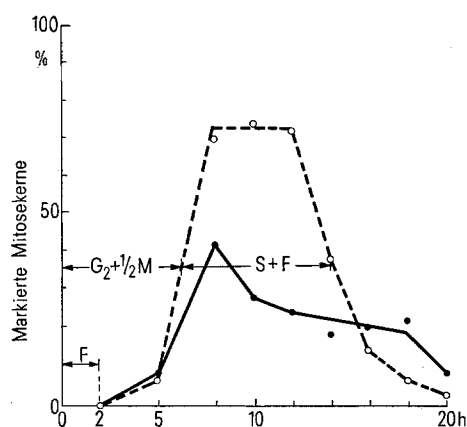


Fig. 2. Mikroautoradiographische Analyse der DNA-Synthesephase im Wurzelmeristem nach 2stündiger Na_2SO_3 - und ^3H -Thymidin-fütterung (1 $\mu\text{C}/\text{ml}$). \circ , Kontrolle; \bullet , 100 ppm Na_2SO_3 .

Unter dem Einfluss von 100 ppm Na_2SO_3 in der Lösung sinkt die Thymidinfixierungsrate auf etwa die Hälfte (Figur 1). Ebenso lässt sich unter der Einwirkung verschiedener Na_2SO_3 -Konzentrationen eine Abnahme der Mitosekerne feststellen (Tabelle), wobei die relativen Längen der einzelnen Mitosephasen unverändert bleiben. Die mikroautoradiographische Analyse ergab einerseits eine vergleichbare Länge der DNS-Synthesephase in der Kontrolle mit den Literaturangaben⁷, andererseits eine geringfügige Verlängerung unter dem Einfluss von 100 ppm Na_2SO_3 (Figur 2). Zusätzlich deutet der Kurvenverlauf der sulfithandelten Wurzeln auf eine Limitierung der DNS-Synthese.

Zur Erklärung dieser Befunde können die an Mikroorganismen und an in-vitro Versuchen gewonnenen Angaben herangezogen werden^{4,8,9}. Sie haben ergeben, dass Sulfid unter «physiologischen» Bedingungen mit Cytosin zu einem unverwertbaren Derivat reagiert. Eine Elimination des endogenen Cytosinpools durch Sulfid in den Wurzelzellen wäre denkbar und müsste zur dargestellten Hemmung der DNS-Synthese führen.

Summary. Sulfite inhibits the DNA-synthesis in the root meristem from *Vicia faba* L.

R. BRÄNDLE und K. H. ERISMANN

Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Bern,
Altenbergrain 21, CH-3013 Bern (Schweiz),
27. Februar 1973.

⁶ C. D. DARLINTON und L. F. LA COUR, *Methoden der Chromosomenuntersuchung* (Franck'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart 1962).

⁷ H. J. EVANS und D. SCOTT, *Genetics* 49, 17 (1964).

⁸ H. HAYATSU, Y. WATAYA, K. KAI und S. IIDA, *Biochemistry* 9, 2858 (1970).

⁹ R. SHAPIRO und I. M. WEISGRAS, *Biochem. biophys. Res. Commun.* 40, 839 (1970).

Nucleolar Behaviour in Lemon Fruit Explants (*Citrus Limon* L.) Incubated in Stabilized and Unstabilized Liquid Paraffin

Medicinal grade liquid paraffin may but need not necessarily contain added stabilizing agents such as tocopherol (vitamin E) or butylated hydroxytoluene (BHT)¹⁻³. Although medicinal grade liquid paraffin is easily obtained from a pharmacy, it was not employed in previous investigations concerning endogenous nucleolar behaviour^{4,5} or endogenous starch production⁶ because no specific information was given regarding the presence or absence of added stabilizing agents. Since BHT is frequently used as a stabilizing agent in edible fats and oils⁷⁻¹⁰ including medicinal grade liquid paraffin^{1,3}, it was considered to be of interest to examine nucleolar behaviour in lemon fruit explants incubated in stabilized and unstabilized liquid paraffin.

Materials and methods. Entire juice vesicles (sac plus stalk) were excised from surface-sterilized mature lemon fruits (*Citrus limon* L.) as described previously⁵ and completely submerged in liquid paraffin with and without 10 ppm of BHT¹¹ in 'Pyrex' Petri dishes¹² immediately upon removal from the fruit. The stalks were severed from the sacs while beneath the liquid paraffin and then completely immersed in stabilized and

unstabilized liquid paraffin in a different set of 'Pyrex' Petri dishes. The Petri dishes in all treatments were sealed with 'Parafilm' and placed in the dark for 48 h at 25–27°C. All Petri dishes and unstabilized liquid paraffin were sterilized by autoclaving whereas stabilized liquid paraffin was used in an unsterilized condition in order to avoid any possible loss of reduced BHT as a result of oxydation during autoclaving. Unsterilized unstabilized liquid paraffin was also employed for comparison with the unsterilized BHT-containing incubation media.

After 48 h, the stalks were removed from all treatments and blotted well with filter paper to remove the excess liquid paraffin clinging to the tissue surface and then placed in Lillie's AAF solution¹³ or in a solution of 10% neutral formalin in absolute ethanol (v/v) for 18–24 h in the cold. The fixed explants were dehydrated in absolute isopropanol and unstained paraffin sections were prepared as described previously⁵. Unstained paraffin sections of freshly excised stalks with and without briefly dipping them in unstabilized liquid paraffin before placing them in the fixing solutions served as physiological and