

particles were seen as dense bodies surrounded by clear haloes in the nuclei of all specimens examined. The morphology of these virus-like particles is similar to that reported by WILLIAMS et al.⁹. However, HOLINGER et al.¹² failed to demonstrate the presence of viral particles in their studies on human papillomas. This could be due to the loss of the inherent properties of the virus necessary for its identification. The agreement between the present findings and the one reported earlier^{9,11} provide strong evidence of virus being the causative factor for the papilloma of larynx.

Zusammenfassung. In Papillomen, welche von nigerianischen Kindern stammten, wurden elektronenmikroskopisch Bildungen, welche als Viruspartikel anzusprechen waren; gefunden. Diese sind denjenigen Virusein-

lagerungen vergleichbar, die man im Papillom des Larynx nachweisen kann.

M. M. AHMED and D. K. MUKHERJEE

Department of Anatomy, University of Singapore, Sepody Lines, Singapore 3, and Department of Otolaryngology, Lagos University Teaching Hospital, Lagos (Nigeria), 20 September 1973.

- ¹⁰ E. V. ULMAN, *Acta Oto-laryng.* 5, 317 (1923).
¹¹ L. DMOCHOWSKI, C. E. GREY and J. A. SYKES, *Tex Rep. Biol. Med.* 22, 454 (1964).
¹² P. H. HOLINGER, N. L. SHIPKOWITZ, J. C. HOLPER and M. C. WORLAND; *Acta Oto-laryng.* 65, 63 (1968).

Einfluss der Gibberellinsäure auf die Sporulation von *Saccharomyces cerevisiae*

Diploide Hefezellen können in bestimmten Nährmedien, die so zusammengesetzt sind, dass sie einen intensiven Atmungsstoffwechsel der Zellen gewährleisten, sich zu Asci differenzieren (Sporulation). Bei der Ausbildung des Ascus findet gleichzeitig die Meiose statt. Für diese Differenzierung ist eine spezifische RNS- und Proteinsynthese notwendig¹. Nach KAMISAKA et al.² erhöht ein Zusatz von Gibberellinsäure (GS) zum Sporulationsmedium die Sporulationsfähigkeit. Im Gegensatz hierzu steht die Angabe von FOWELL³, dass unter seinen Versuchsbedingungen GS, selbst in sehr niedrigen Konzentrationen, die Sporulationsfähigkeit vermindert.

Um diesen Widerspruch zu klären, wurde die Wirkung der GS unter verschiedenen Sporulationsbedingungen geprüft. Zellen eines diploiden, aus Bäckerhefe isolierten Stammes W wurden in Vollmedium bis zur frühen stationären Phase vorkultiviert und dann a) 18 h in Praesporulationsmedium nach PONTEFRAC⁴ und MILLER⁴, abgeändert nach CROES⁵ bei 33°C im Schüttelbad inkubiert, gewaschen und in dem Sporulationsmedium nach McCCLARY et al.⁶ weitergeschüttelt (= Standardbedingungen), oder b) 24 h in YHG-Praesporulationsmedium nach KAMISAKA et al.² ungeschüttelt bei 30°C inkubiert, gewaschen und in SG-Sporulationsmedium nach KAMISAKA et al.² bei 28°C geschüttelt. Den Sporulationsmedien wurde GS in verschiedenen Konzentrationen von 0–400 mg/l zugesetzt. Bei beiden Methoden erfolgte die Auszählung der Asci nach 48 h. Die in der Tabelle angegebenen Ascushäufigkeiten sind Mittelwerte aus 3 Versuchen mit jeweils 2 Wiederholungen.

Die Sporulationshäufigkeit liegt bei Standardbedingungen in allen Proben mit GS-Zusatz unter dem Kontrollwert. In der Probe mit 1 mg/l GS ist der Unterschied signifikant auf dem 5%-Niveau. Diese Ergebnisse entsprechen somit der Beobachtung von FOWELL. Unter KAMISAKA-Bedingungen ist eine Zunahme der Sporulationshäufigkeit mit steigender Gibberellinkonzentration offensichtlich. (Signifikanz ab 200 mg/l GS). Nach

KAMISAKA et al.² ist allerdings die optimale Konzentration schon bei 100 mg/l GS erreicht, nach unseren Versuchen erst bei 800 mg/l mit 46,65% Asci. Weitere Versuche ergaben, dass sich dieser ausgeprägte GS-Effekt völlig aufheben lässt, wenn das KAMISAKA-Sporulationsmedium mit dem Praesporulationsmedium der Standardbedingungen kombiniert wird.

Figur 1 zeigt, dass die GS nicht nur die Endhäufigkeit der Asci steigert, sondern auch die Ascusbildung beschleunigt.

Die fördernde Wirkung der GS scheint mit der Synthese der die Sporulation regulierenden RNS assoziiert zu sein⁷. Nach ZIEMONS⁸ ist unter Standardbedingungen die für die Sporulation notwendige RNS-Synthese 7 h vor der sichtbaren Differenzierung zum Ascus abgeschlossen. Um zu prüfen, zu welcher Zeit die GS ihre Wirkung in der Sporulations-Kultur entfaltet, wurden folgende Versuche durchgeführt: a) Die GS (800 mg/l) wurde zu verschiedenen Zeiten nach Ansetzen der Kultur dem SG-Sporulationsmedium zugegeben (Figur 2).

Je später die GS-Zugabe erfolgte, desto geringer war die Ascushäufigkeit. Bei Zugabe in der 15. Stunde wurde annähernd der Wert erreicht, den man auch ohne GS im SG-Sporulationsmedium erhält. b) GS wurde gleich zu

- ¹ K. KADOWAKI und H. O. HALVORSON, *J. Bact.* 105, 826 (1971).
² S. KAMISAKA, Y. MASUDA und N. YANAGASHIMA, *Physiologia plant.* 20, 90 (1967).
³ R. R. FOWELL, *The Yeasts* (Academic Press, London 1969), vol. 1, chapt. 7.
⁴ R. D. PONTEFRAC⁴ und J. J. MILLER, *Can. J. Microbiol.* 8, 573 (1962).
⁵ A. F. CROES, *Planta* 76, 209 (1967).
⁶ D. O. McCCLARY, W. L. NULTY und U. R. MILLER, *J. Bact.* 78, 362 (1959).
⁷ S. KAMISAKA, Y. MASUDA und N. YANAGASHIMA, *Physiologia plant.* 20, 98 (1967).
⁸ E. ZIEMONS, *Diss. Köln* (1972).

Ascushäufigkeiten (%) bei 2 verschiedenen Kulturbedingungen und unterschiedlichen Konzentrationen von GS im Sporulationsmedium

Bedingungen / (GS mg/l)	0	1	5	10	50	100	200	400
a)	49,30	34,60	40,20	43,30	42,16	37,50	35,90	43,80
b)	14,20	18,30	17,73	15,40	21,00	22,70	28,20	34,10

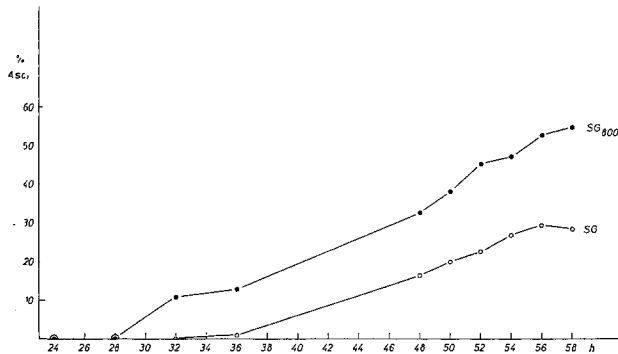


Fig. 1. Ascushäufigkeit (%) nach verschiedenen Zeiten im Sporulationsmedium. Mittelwerte aus jeweils 2 Versuchsreihen. SG, Sporulationsmedium nach KAMISAKA; SG₈₀₀, SG + 800 mg/l GS.

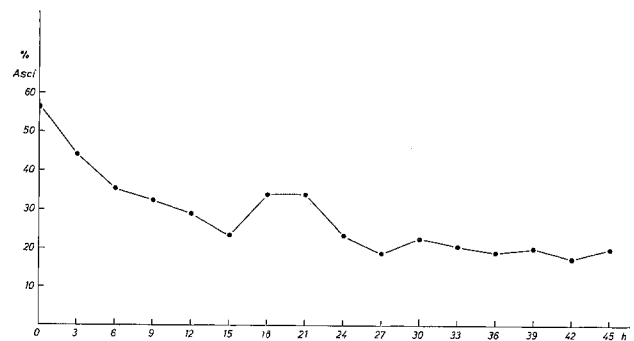


Fig. 2. Ascushäufigkeit (%) nach Zugabe von GS (800 mg/l) zu verschiedenen Kulturzeiten. Mittelwerte aus 2 Versuchsreihen. Auszählung der Asci nach 58 h.

Kulturbeginn dem Sporulationsmedium zugesetzt und nach verschiedenen Zeiten durch Abzentrifugieren, Waschen und Resuspendieren der Zellen in frischem SG-Medium wieder entfernt. Figur 3 zeigt, dass die höchsten Sporulationshäufigkeiten dann gefunden wurden, wenn die GS 8 bzw. 12 h lang im Kulturmedium enthalten war. Ein längerer Aufenthalt der sporulierenden Zellen in GS-haltigem Medium erhöht die Sporulationshäufigkeit nicht mehr.

Leider lässt sich die oben erwähnte Zeitangabe von ZIEMONS nicht direkt auf die von uns gefundenen Daten

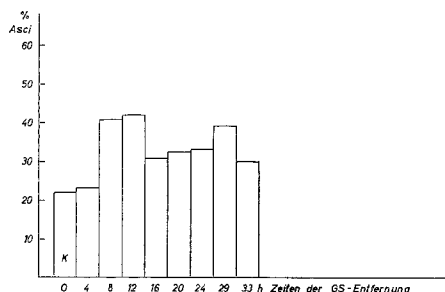


Fig. 3. Ascushäufigkeit (%) nach Entfernung der GS (800 mg/l) zu verschiedenen Zeiten aus dem Kulturmedium. Mittelwerte aus 2 Versuchsreihen. Auszählung der Asci nach 58 h.

übertragend, a unter Standardbedingungen die ersten Asci schon sehr viel früher (nach 17 h) erschienen als unter den von uns angewandten KAMISAKA-Bedingungen (s. Figur 1). Es lässt sich aber doch mit einiger Vorsicht sagen, dass die wirksame Periode der GS in die Zeit der RNS-Synthese fällt (die ersten 8–12 h) und dass nach Abschluss der ascusspezifischen RNS-Synthese eine Gibberellinzugabe wirkungslos bleibt.

Summary. Under certain conditions the addition of gibberellic acid (GA) in concentrations from 200 to 900 mg/l to a sporulating culture of *Saccharomyces cerevisiae* can raise the sporulation frequency considerably. The efficacy of GA depends mainly on the composition of the presporulation medium. This fact may explain the conflicting results reported in the literature. The optimal concentration of GA was 800 mg/l. In sporulation-cultures with GA, the first asci appear about 6 h prior to those in the control. In order to exert its optimal effect, GA has to be added to the sporulating culture during the first 3 h and it has to be present for at least 8 h.

JUDITH VITÁNYI-VON BÉKÁSSY

Institut für Entwicklungsphysiologie der Universität, Gyrfhofstrasse 17, D-5 Köln-Lindenthal (Deutschland), 7. August 1973.

Zur Ultrastruktur der Kristalloide in den Spermatogonien und Sertolizellen normaler Kinderhoden

1896 stellte LUBARSCH^{1,2} in seinen lichtmikroskopischen Untersuchungen Kristalloide in den Spermatogonien (sog. LUBARSCH'sche Kristalloide) und in den Sertolizellen (sog. Charcot-Böttcher'sche Kristalloide) fest. Die Ultrastrukturuntersuchungen bei normalen Erwachsenen wurden von BAWA³, NAGANO^{4,5} und SOHVAL et al.⁶ beim Hypogonadismus von DE KRETZER⁷ durchgeführt. Da bis jetzt normale kindliche Hoden noch nicht elektronenmikroskopisch untersucht wurden, schien es uns von Interesse, die Entstehung und die Struktur ihrer Kristalloide aufzuzeigen.

Untersucht wurden 18 Biopsien aus normalen Hoden von Kindern im Alter von 3½ Monaten bis 13 Jahren. Fixierung in 3%igem Glutaraldehyd, entweder mit 0.05 M Phosphat-Puffer oder mit 0.05 M Cacodylat-Puffer. Nachfixierung in 1%igem OsO₄ und Einbettung in Epon. Schnittkontrastierung mit Uranylacetat und

Bleizitrat. Beobachtung und Aufnahme auf Siemens Elmiskop I.

Befunde. Bei Kindern haben wir fetale, Übergangs-, AP-, AD- und B-Spermatogonien beobachten können, wobei wir die Einteilung von CLERMONT⁸ übernommen haben. Die fetalen Spermatogonien und die Übergangsformen zwischen den fetalen und den Spermatogonien

¹ O. LUBARSCH, Virchows Arch. 145, 316 (1896).

² O. LUBARSCH, Dt. med. Wschr. 47, 755 (1896).

³ S. R. BAWA, J. Ultrastruct. Res. 9, 459 (1963).

⁴ T. NAGANO, Z. Zellforsch. 73, 89 (1966).

⁵ T. NAGANO, Z. Zellforsch. 97, 491 (1969).

⁶ A. R. SOHVAL, Y. SUZUKI, J. L. GABRILOVE and J. CHURG, J. Ultrastruct. Res. 34, 83 (1971).

⁷ D. M. DE KRETZER, Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 1, 283 (1968).

⁸ Y. CLERMONT, Am. J. Anat. 112, 35 (1963).