

The data presented in figure 1 show the effect of various concentrations of phalloidin on protein synthesis in isolated hepatocytes. The ^{14}C -amino acid incorporation was initiated 30 min after the addition of the toxin and was continued for 30 min. It is evident that the incorporation is inhibited by phalloidin concentrations lower than 6 $\mu\text{g/ml}$. The maximum point of inhibition takes place at phalloidin concentration of 20 $\mu\text{g/ml}$. In the experiments reported in figure 2, the labelled amino acids were added soon after phalloidin and the incorporation was studied as a function of incubation time. It is evident that under these conditions incorporation follows a parallel pattern in experimental and in control hepatocytes for about 30 min, and thereafter the inhibiting effect of phalloidin begins. The existence of this lag period is in accordance with the onset of the polysome dissociation observed after in vivo poisoning⁵. In our previous paper⁵, we have shown that phalloidin does not inhibit protein synthesis in a liver cell-free system. In the latter, there is a saturating level of amino acids and ATP, as well as an optimum concen-

tration of ions required for protein synthesis. It is therefore possible that phalloidin acts by decreasing some factor that is present in limiting amount within the intact cell. We observed in some experiments (the data are not included in this report) that the phalloidin-induced inhibition of amino acid incorporation into protein of isolated hepatocytes was not dependent on a decreased level of amino acid inside the cell. A decrease of ATP levels does not occur in the first hours after phalloidin poisoning¹⁰. It has been reported that hepatocytes exposed to phalloidin lose potassium ions^{11,12}. The possibility of a role of this alteration in the impairment of protein synthesis is obvious and requires further investigation.

- 10 M. Frimmer, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. 269, 152 (1971).
- 11 M. Frimmer, J. Gries, D. Hegher and B. Schnorr, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. 258, 197 (1967).
- 12 M. Frimmer and R. Kroker, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. 278, 285 (1973).

Die Rudimentation des Rumpfkanaals bei kavernikolen Populationen des *Astyanax* (Characidae, Pisces)

The rudimentation of the lateral canal of cavernicolous *Astyanax* populations (Characidae, Pisces)

H. Wilkens

Zoologisches Institut und Zoologisches Museum der Universität Hamburg, Martin-Luther-King-Platz 3, D-2000 Hamburg 13 (Bundesrepublik Deutschland), 15. Oktober 1976

Summary. The lateral canal of the eye- and pigment-reduced cave populations of *Astyanax mexicanus* shows fragmentations. This is in contrast with the epigeal ancestor and is attributed to the loss of its biological function.

Als einziger Characidae ist ein Vertreter der in Südamerika weitverbreiteten Gattung *Astyanax* nach dem Entstehen einer Landbrücke zwischen den beiden Amerikas weit nordwärts vorgedrungen¹. Die Form ist heute in den Flusssystemen der pazifischen und der atlantischen Seite Mexikos häufig zu finden und hat ihre Nordgrenze über den Rio Grande bis nach Texas vorgeschoben. Sie wurde in mehreren vom taxonomischen Standpunkte revisionsbedürftigen Arten und Unterarten beschrieben (*A. mexicanus* [Filippi 1853], *A. fasciatus fasciatus* [Cuvier 1819], *A. fasciatus macrophthalmus* Regan 1908 und andere mehr).

Als Lebensraum dieses Fisches können im typischen Falle rasch bis turbulent fließende, klare, sauerstoffreiche und häufig relativ flache Gewässer gelten. Auf Grund seiner euryöken Natur konnte er zudem – wenn auch seltener – stagnierende Gewässer besiedeln. So wurde die Form sowohl an der Nord- wie auch an der Ostküste Yucatáns in dolinenartigen Einbrüchen, Cenotes, die praktisch keine Strömung aufweisen, isoliert. Auch im Catemaco-See (Bundesstaat Veracruz) ist sie vertreten. In einem räumlich begrenzten Bereich Zentralmexikos (Bundesstaat San Luis Potosi) konnten darüber hinaus Stillgewässer besiedelt werden, die zudem noch als Höhlen durch Lichtlosigkeit charakterisiert sind^{2–4}.

Auf Grund des durch das Fehlen des Lichts bedingten Verlusts ihrer biologischen Funktion sind Augen und Melaninpigmente dieser Populationen reduziert^{5–9}. Die Folgen des weitgehenden Fortfalls eines weiteren für den ursprünglichen Biotop charakteristischen Umweltfaktors, starker Strömung, in den Höhlen fand dagegen bis-

lang in keinen Untersuchungen Berücksichtigung. Schemmel⁵ hob hervor, dass bereits der oberirdische Fisch über ein gut entwickeltes System der freien Neuronen und der Kopf- und Rumpfkanaäle verfüge und die räumliche Orientierung ihm daher auch bei Fehlen des Lichtes keine Schwierigkeiten bereite. Er wies allerdings auf das Auftreten von Fragmentationen des Rumpfkanaals bei Originaltieren der cavernicolen Sabinos-Population hin, die er bei Labornachzuchten der Höhlenform nicht feststellen konnte.

Die Untersuchung des Rumpfkanaals weiterer Originalfänge aus ober- und unterirdischen Biotopen konnte diese Beobachtungen bestätigen: Von insgesamt 30 aus drei kavernikolen Populationen stammenden Individuen wiesen ganz wenige einen vollständig ausgebildeten Rumpfkanaal auf. Bei der Mehrzahl der Tiere war dieses Organ partiell nicht mehr vorhanden. So zeigte sich, dass der Kanal geschlossen nur in der ersten Hälfte bzw. dem ersten Drittel des Körpers entwickelt war. In den anschließenden Regionen war die Ausbildung lückenhaft

- 1 G. S. Myers, Copeia 1966, 766.
- 2 C. L. Hubbs und W. T. Innes, Zool. Univ. Mich. 342, 1 (1936).
- 3 J. Alvarez, An. Esc. nac. Cienc. biol. 4, 263 (1946).
- 4 H. Wilkens und R. J. Burns, Ann. Spéleol. 27, 263 (1972).
- 5 C. Schemmel, Z. Morph. Tiere 67, 255 (1967).
- 6 H. Wilkens, Zool. Anz. 188, 1 (1971).
- 7 C. Kosswig, Z. zool. Syst. Evolutionsforsch. 1, 205 (1963).
- 8 N. Peters und G. Peters, Z. Morph. Tiere 62, 211 (1968).
- 9 H. Wilkens, Evolution 25, 530 (1971).

und er in einzelnen oder mehreren Schuppen nicht ausgebildet. Zur Untersuchung der oberirdischen Form wurden 155 Originaltiere aus 8 verschiedenen, über den gesamten atlantischen Einzugsbereich Mexikos verteilten Lokalitäten herangezogen. Keines dieser Individuen zeigte Fragmentationen des Rumpfkanaals, die denen der Höhlenform vergleichbar gewesen wären.

Der Rumpfkanaal ist vor allem bei Formen des freien, bewegten Wassers gut ausgebildet. Derartige Biotopbedingungen spielen aber in den unterirdischen Lebensräumen dieses Fisches im Gegensatz zu den Verhältnissen in seinem oberirdischen Lebensraum kaum eine Rolle. Es besteht daher die Vermutung, dass die Störung in der

Ausbildung des Rumpfkanaals bei den kavernikolen Populationen eine Folge der Tatsache ist, dass dieser seine biologische Funktion zumindest zu einem gewissen Grade verloren hat. In diesem Falle wäre diese Erscheinung als regressiver Prozess zu betrachten⁷⁻⁹.

Die Tatsache, dass der Rumpfkanaal der in stagnierenden Gewässern lebenden oberirdischen Populationen nicht von vergleichbaren Phänomenen betroffen ist, könnte darauf zurückgeführt werden, dass diese Lebensräume erst in einer geologisch rezenteren Zeit als die Höhlen besiedelt wurden. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob die beobachteten Fragmentationen lediglich umweltbedingt sind, oder ob sie eine genetische Basis haben.

Unusually high oxygen effect in cortisone resistant thymocytes

F. Ojeda¹, P. Peña and H. Folch

Radiation Laboratory, Universidad Austral de Chile, Valdivia (Chile) and Department of Experimental Medicine, Universidad Austral de Chile, Valdivia (Chile), 23 August 1976

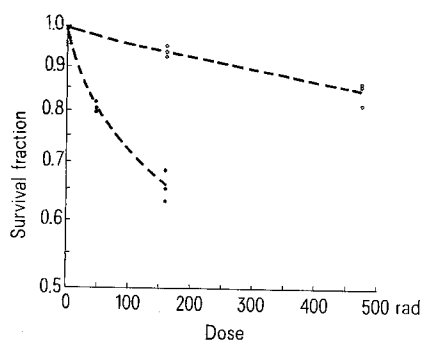
Summary. Thymic lymphocytes were assayed for their radiobiological oxygen effect. We found a large OER (12 ± 0.8) for the cortisone-resistant fraction in contrast to a normal OER (3.5 ± 0.8) for the cortisone-sensitive ones. Possible correlation of this difference with known characteristics in membrane related parameters are briefly discussed.

Radiobiological oxygen enhancement ratio (OER) with low LET radiation for the majority of cells studied is less than 3.5 and mostly between 2.5 and 3.5^{2,3}. One notable exception seems to be the OER for small lymphocytes of lymphnodes which show an OER of about 12⁴. For lymphocytes involved in 'Graft versus Host' reaction, an OER of 2.7 has been described⁵.

Due to the clinical and theoretical importance of this facts, we decided to study the OER in other lymphocyte populations in vitro. We selected the thymus lymphocyte population because, using cortisone, it is possible to obtain subpopulations with remarkable differences in their physiological and membrane structural properties⁶. As donors of normal thymocytes, 4-6 weeks old isogenic RK mice were used. The cortisone-resistant fractions were obtained by injecting i.p. 3 mg of hydrocortisone acetate (Nutritional Biochemical Corporation, Cleveland, Ohio, USA) per mouse 4 days before sacrifice. Lymphocytes were irradiated in vitro with X-rays (120 KV, 4 mA, total filtration 3.5 mm Al + 2 mm Pyrex Glass) at a dose rate of 79 rad/min as determined by ferrous sulfate dosimetry. Irradiations were carried out in closed Pyrex containers under continuous stirring and air or nitrogen

flow. Possible contamination of nitrogen was excluded by gasing through a washing bottle containing a saturated pirogallol (Merck, Darmstadt, Federal Republic of Germany) solution alkalized with sodium hydroxide (Merck, Darmstadt, Federal Republic of Germany). For oxygen free irradiations, the cell suspension was allowed to equilibrate with nitrogen for 15 min. The medium used throughout the experiment was Minimal Essential Medium (Eagle, Grand Island Biological Company, California, USA.) supplemented with 8% bovine serum, 0.023% Hepes buffer (SIGMA, Chemical Company, St. Louis, USA.) at pH 7.4 and antibiotics. Extraction and irradiation were carried out at room temperature. The whole procedure took 2-2.5 h from sacrifice until beginning of incubation of the lymphocytes for 6, 7, 8 and 9 h at 37°C. At the end of the given incubation times, lymphocytes were tested for viability with the Trypan blue exclusion test. For each time and experimental condition, a non-irradiated control was included in each experiment. The given survival fraction is referred to the corresponding internal control. Non-irradiated controls showed no significant difference between N₂ and O₂ treatment. Viability in cortisone-resistant thymocytes was 10-15% lower than normal cells. Total cell counts were constant at all times and under all experimental conditions.

The figure shows the results for the cortisone-resistant fraction (about 5% of the total population) of the thymic



Survival fraction as a function of dose in cortisone resistant thymocytes under hypoxic (o) and aerobic (.) conditions. The data of 3 independent experiments with 9 mice each are shown.

1. We are grateful to Prof. Dr J. Kiefer from Institut für Biophysik, J. Liebig Universität, Giessen, BRD, for his comments on the manuscript.
2. J. Kiefer, 4th Symp. Microdosimetry, Verbania Pallanza, Euratom EUR 5122 d-e-f, p. 441 (1974).
3. J. A. Belli and A. J. Piro, Conf. on Interaction of Radiation and Host Immune Defense Mechanism in Malignancy. Greehnbrier, Brookhaven National Laboratory, BNL 50418, p. 99 (1974).
4. O. A. Trowell, Br. J. Radiol. 26, 302 (1953).
5. O. Vos, Int. J. Radiat. Biol. 13, 317 (1967).
6. J. W. Dyminski, J. Forbes, B. Gebhardt, Y. Nakao, S. Konda and R. T. Smith, Progress in Immunology II, Vol. 3, p. 35. Ed. L. Brent and J. Holborow. North-Holland Publishing Company 1974.