

Bei einer im Jahre 1956 in den Aquarien des hiesigen Zoologischen Institutes aufgetretenen bösartigen Tumorkrankheit bei Guppys (*Lebistes reticulatus*) und Sternflecksalmern (*Pristella riddlei*) glückte nun auch die zellfreie Übertragung (Ultracella-Filter, Membranfilter-Ges., Göttingen) des infektiösen Agens. Die aus kranken Fischen gewonnenen Extrakte wurden mit der Ultrazentrifuge in einzelne Fraktionen zerlegt (10000, 20000, 30000, 40000, 50000 Umdr./min) und die gewaschenen Zentrifugate einer größeren Anzahl gesunder Guppys in die Rückenmuskulatur injiziert oder verfüttert. Die größte Infektiosität zeigten dabei die zuletzt abgeschleuderten Fraktionen (über 30000 Touren); es muß sich hier also um ein relativ kleines Virus handeln. Kontrolltiere, denen gleich behandelte Extrakte aus gesunden Fischen injiziert worden waren, blieben gesund.

Die meisten infizierten Fische starben innerhalb von 23 bis 111 Tagen, doch waren die Jungtiere von *Lebistes* in den ersten 4 Lebenswochen völlig resistent, ebenso wurden auch die Embryonen nie befallen. Bei älteren Tieren führte die Infektion in jedem Fall zum Tod; die Resistenz der Embryonen und Jungtiere geht also nachträglich verloren.

Die kranken Tiere bekamen in fast allen Fällen Nierentumoren, die von hier aus infiltrierend in die umliegenden Organe einwuchsen und diese zerstörten (Fig. 1a, b) oder sich im freien Raum der Leibeshöhle ausbreiteten. Dabei konnten folgende Organe und Gewebe befallen werden: die Nieren, die Muskulatur, das Herz, der Darmkanal und der Hoden. Tumoresistent waren die Leber, die Milz, das gesamte Nervensystem, das Knochen- und Knorpelgewebe und die Ovarien. Allem Anschein nach kann sich der Tumor auch durch Metastasen ausbreiten, da sich häufig Tumorzellen im Herzen und in manchen Blutgefäßen fanden. Gelegentlich traten dann auch in den angrenzenden Kapillargebieten Geschwülste auf.

Die runden oder spindelförmigen Zellen dieses bösartigen mesenchymalen Tumors sind völlig undifferenziert (Fig. 1c) und lassen vorläufig keine Rückschlüsse auf ihre Herkunft zu. Ein ausführlicher Bericht über diese Untersuchungen, die mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt wurden, erscheint an anderer Stelle⁵⁾.

Zoologisches Institut der Universität, Bonn (Direktor: Prof. Dr. R. DANNEEL)

A. WESSING

Eingegangen am 15. Juni 1959

¹⁾ KEYSSELITZ, G.: Arch. Protistenkunde 11, 326 (1908). — ²⁾ LUCKÉ, B., u. H. G. SCHLUMBERGER: Physiologic. Rev. 29, 91 (1949). — ³⁾ NIGRELLI, R. F.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 54, 1076 (1952). — ⁴⁾ SCHUBERT, G., u. G. MEYER: Verh. Dtsch. Zool. Ges., Münster, 1959. — ⁵⁾ WESSING, A., u. G. v. BARGEN: Arch. Virusforsch. (im Druck).

Über eine biologische Wirkung der Desoxyribonuclease I auf die Entwicklung befruchteter Eier von *Sphaerechinus granularis*

Der Abbau der DNS und des Transforming Principles und die Wachstumshemmung von Zellkulturen¹⁾ durch DNase lassen sich nur schwer vereinbaren mit der Tatsache, daß in regenerierendem und stark wachsendem Gewebe die DNase-Aktivität erhöht ist²⁾. Deshalb wurden von uns Versuche unternommen, die der Klärung der Frage dienen: wie wirken DNasen in niedrigen, zellähnlichen Konzentrationen auf die sich entwickelnde Zelle?

In Petri-Schalen wurden je etwa 30000 Eier des Seeigels *Sphaerechinus granularis* besamt und in bestimmten zeitlichen Abständen an 100 zufällig ausgewählten Kopulae die erreichte Zellzahl festgestellt. Innerhalb einer Serie enthielten die Schalen 0 bis $10 \cdot 10^{-6}$ g DNase I (Worthington, krist.) pro ml Meerwasser (im Mittel $3 \cdot 10^{-6}$ g/ml). Das schwach alkalische, Mg⁺⁺- und Ca⁺⁺-reiche Seewasser stellte dabei ein fast optimales Aktivierungsmilieu für DNase I dar³⁾. Die Tabelle gibt die Antwort auf die experimentelle Frage.

A. Sind die Abweichungen der Versuchswerte von den Kontrollen zufällig?

Prüfung nach der χ^2 -Verteilung für $P = 0,001$ bei 7 Freiheitsgraden ergibt:

$$\chi^2 \text{ berechnet} = 24,3; \quad \chi^2 \text{ gefunden} = 54,9.$$

DNase-Zusatz verursacht bei befruchteten Seeigeleiern überzufällige Abweichungen der Entwicklungsgeschwindigkeit von den Kontrollen ($P < 0,001$).

Wir erachten diesen Test als nicht sehr günstig für unsere Fragen. Einmal werden dabei die Vorzeichen nicht bewertet, zum andern werden bestimmte Voraussetzungen über den

Verteilungstyp des Grundkollektivs gemacht, deren Erfüllung für unser Objekt nicht nachweisbar ist. Aus diesem Grunde wurde der parameterfreie X-Test von VAN DER WAERDEN und NIEVERGELT angewendet⁴⁾.

B. Ist die Steigerung der Entwicklungsgeschwindigkeit befruchteter Seeigeleier nach DNase-Zusatz zufällig?

Mittlere Zellzahl der Kopulae in den Kontrollen	Kontrollwerte auf 100 % normiert		Versuchswerte in % der Kontrollen		Schranken für Ablehnung der zufälligen Steigerung mit $P = 0,005$	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	berechnet	gefunden
1—2	100 ± 2,8		111,4 ± 13,8		4,26	2,57
2—3	100 ± 2,7		119,9 ± 13,7		4,94	5,45
3—4	100 ± 12,8		119,8 ± 6,6		4,94	5,51

Bis die Kopulae sich über das Zweizellenstadium hinaus entwickelt haben, hat sich in den mit DNase versetzten Eiern also ein signifikanter Vorsprung eingestellt ($P < 0,005$).

Dieser Befund ist für uns eine Bestätigung der Annahme, daß die DNase in Konzentrationen von etwa $1:10^6$ entwicklungsfördernd wirkt. Dieser Effekt ist bisher auch für die befruchteten Eier des Seeigels *Arbacia pustulosa*, für den teilautotrophen Organismus *Euglena gracilis*, für die Kopulae des Grasfrosches, für die Hefe *Saccharomyces cerevisiae* und für *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* (Catlin) nachgewiesen*).

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für großzügige apparative und finanzielle Unterstützung; der Gruppe vom Meeresbiologischen Institut Rovinj (Jugoslawien), insbesondere Herrn Direktor Professor Dr. ZEJ und Herrn Dr. NICOLIC, haben wir für viele freundlich gewährte Hilfen zu danken.

Institut für vegetative Physiologie der Universität, Frankfurt a.M.

R. K. ZAHN, K. RAJEWSKY, R. und G. G. KIEFER, L. EITEL und G. ZAHN

Eingegangen am 13. Juli 1959

* Ausführliche Darstellung der Ergebnisse in Vorbereitung.

¹⁾ BAEKELAND, E., S. CHÈVREMENT-COMHAIRE u. N. CHÈVREMENT: C. R. Acad. Sci. [Paris] 245, 2390 (1957). — ²⁾ BRODY, S.: Nature [London] 182, 1386 (1958). — ³⁾ WIBERG, J. S.: Arch. Biochem. Biophys. 73, 337 (1958). — ⁴⁾ VAN DER WAERDEN, B. L., u. E. NIEVERGELT: Tafeln zum Vergleich zweier Stichproben. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.

Versuche zur photoperiodischen Diapause-Induktion bei *Pieris brassicae* L.

Der Kohlweißling, *Pieris brassicae* L., kann unter Laborbedingungen gezogen werden¹⁾. Die Aufzucht der Raupen erwies sich sogar in ausschließlich künstlichem Licht (meist unter 500 Lux, auch bei den photoperiodischen Versuchen) als möglich. Bei 21° dauert die Entwicklung vom Schlüpfen aus den Eiern bis zur Verpuppung 15 bis 20 Tage, und unter Langtagbedingungen erfordert eine Generation insgesamt nur 5 Wochen. Kurztagbehandlung der Raupen jedoch bedingt, wie von *Pieris*^{1), 2)} und vielen anderen Schmetterlingen¹⁾ bekannt ist, die Entstehung von Diapause-Puppen. Wir fanden, daß hierbei die Lichtbedingungen während der letzten Woche des Larvenstadiums entscheiden. Quantitative Beziehungen zeigt Fig. 1.

Die Diapause läßt sich, wie nach dem Verhalten anderer Arten und nach anderen photoperiodischen Reaktionen zu erwarten war, auch unter Kurztagbedingungen verhindern, wenn Störlicht die Dunkelperiode unterbricht. Wir haben bei sechsständiger (Fig. 2) oder zwölfständiger (Fig. 3) Hauptlichtperiode die Dunkelzeit durch 2 Std Licht unterbrochen, und zwar bei den einzelnen Serien zu unterschiedlichen Zeiten. Einerlei, ob die Hauptlichtperiode 6 oder 12 Std beträgt, wird 15 Std nach ihrem Beginn ein Stadium besonders hoher

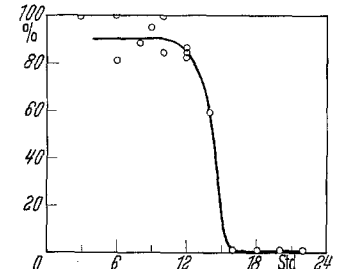


Fig. 1. Beziehung zwischen der Länge der Lichtperiode (Abszisse) und dem prozentualen Auftreten von Diapause-Puppen (Ordinate)

spezifischer Empfindlichkeit erreicht (Fig. 2 und 3). Nehmen wir die Prozentsätze der Diapause-Verhinderung als Maß für diese Empfindlichkeit, so ergibt sich die Kurve der Fig. 4. Diese Kurve erklärt nicht nur die Störlichtergebnisse, sondern auch die quantitativen Beziehungen der Fig. 1: 15 Std nach Beginn der Hauptlichtperiode haben die Raupen eine maximale spezifische Lichtempfindlichkeit (in bezug auf Diapause-Verhinderung). Die Diapause unterbleibt, wenn entweder die Hauptlichtperiode als Langtag bis in diese hohe

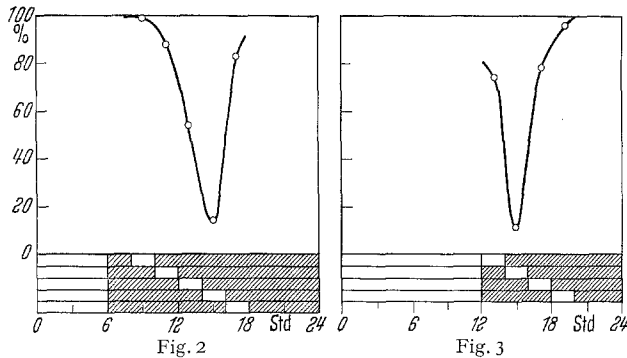


Fig. 2. Herabdrückung des Anteils von Diapausen (Ordinate) im Kurztag (6stündig) bei Unterbrechung der Dunkelperiode durch zweistündige Lichtperioden, entsprechend dem an der Basis angegebenen Programm. Dunkelzeiten schraffiert

Fig. 3. Wie Fig. 2, jedoch bei 12 Std langer Hauptlichtperiode

Empfindlichkeitsphase ausgedehnt wird oder wenn, bei Kurztagbedingungen, in dieser Phase nochmals etwas Licht geboten wird. Damit ist deutlicher, als es bei anderen Objekten möglich war⁴⁾, gezeigt worden, daß es falsch ist, aus dem Ablauf photoperiodisch gesteuerter Vorgänge bei unterbrochener Dunkelperiode den Schluß zu ziehen, es sei eben nicht die Länge der Lichtperiode, sondern die der Dunkelperiode entscheidend. Vielmehr ist ein Zeitmeßvorgang entscheidend, der hier, wie auch sonst meist, vom Beginn der Lichtperiode gesteuert wird und die Organismen nach etwa $\frac{1}{2}$ Tag in einen Zustand spezifischer, für bestimmte Reaktionen (hier Diapause-Verhinderung) notwendiger Empfindlichkeit eintreten läßt, wobei dieser Zustand dann einige Stunden später einen Extremwert erreicht und wieder abklingt⁴⁾.

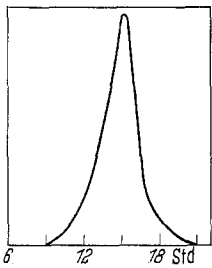


Fig. 4. Verlauf der Kurve spezifischer Empfindlichkeit. Abszisse: Stunden nach Beginn einer Lichtperiode beliebiger Dauer. Ordinate: Relative Empfindlichkeit für Licht (in bezug auf Diapause-Verhinderung)

Wurde 12 Std langes Weißlicht durch 4 Std Farblicht, welches dann also in jene Phase hoher Sensibilität fiel, ergänzt, so verhinderten dabei nur Strahlen unter $550 \mu\mu$ (bis ins UV hinein) die Diapause. Das entspricht mehr qualitativen Angaben von GEISPITS²⁾ für *Pieris* und von LEES^{3b)} für die Milbe *Metatetranychus ulmi*. Ebenso wie GEISPITS fanden wir, daß

auch phototaktische Reaktionen der Raupen in dem photoperiodisch unwirksamen Licht fehlen. Versuche zur genaueren Ermittlung des Aktionsspektrums laufen.

Botanisches Institut der Universität, Tübingen

ERWIN BÜNNING und GABRIELE JOERRENS

Eingegangen am 16. Juni 1959

¹⁾ DAVIS, W.A.L.: Z. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz 64, 572 (1957). — ²⁾ GEISPITS, K.F.: Zoll. Z. 36, 548 (1957). — ³⁾ LEES, A.D.: a) The Physiology of Diapause in Arthropods. Cambridge: Cambridge University Press 1955; b) Ann. Appl. Biol. 40, 449 (1953). ⁴⁾ BÜNNING, E.: Die physiologische Uhr. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.

Die Hautpigmentierung wildfarbiger Mäuse

Die Pigmentzellen, die die Färbung der Haare wildfarbiger Tiere verursachen, indem sie in der Haarwurzel an das wachsende Haar Melanine abgeben, sind in der Lage, zwei Sorten von Pigment zu produzieren^{1), 2), 3)}. Die verschiedenen Pigmente (normalerweise schwarzes und gelbes) werden in einem bestimmten Rhythmus gebildet, der mit der Geschwindig-

keit des Haarwachstums zusammenhängt. Überschreitet die Wachstumsgeschwindigkeit des Haares einen bestimmten Wert, so bilden die Haarmelanocyten an Stelle von schwarzem gelbes Pigment. Diese beiden Pigmentsorten sind unter anderem durch die Silberreaktion nach FONTANA in der Modifikation nach MASSON unterscheidbar. Schwarzes Pigment ergibt mit Silbernitratlösung einen tiefschwarzen Niederschlag,

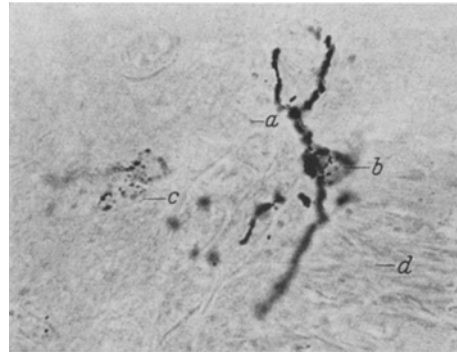


Fig. 1. Gelber und schwarzer Melanocyt in der Haarwurzelscheide. Wildfarbige Maus. 12mal mit Methylcholanthren gepinselt. Versilbert a Haarwurzelscheide; b schwarzer Melanocyt; c gelber Melanocyt; d Cutisbindegewebe

gelbes nicht. Als Beitrag zur Klärung der Frage, wie weit das umgebende Haargewebe an der Abwandlung der Melanogenese beteiligt ist, wurden Pigmentzellen bestimmter genetischer Konstitution in unterschiedlicher histologischer Umgebung untersucht, d.h., es wurde geprüft, welcher Art das Pigment in den Pigmentzellen der Epidermis, der Epidermisderivate und der Cutis ist.

Die Haut erwachsener Mäuse ist normalerweise unpigmentiert⁴⁾. Sie enthält jedoch inaktive Melanoblasten, die durch bestimmte Substanzen zur Pigmentbildung angeregt werden können^{5), 6)}. Dabei werden sowohl in der Epidermis und der Cutis als auch in der Haarwurzelscheide tätige Pigmentzellen sichtbar. Die Technik entspricht der schon früher mitgeteilten Methode⁵⁾: Wildfarbigen und schwarzen Mäusen wird auf einer kahlgerupften Hautfläche durch Pinselung täglich eine gesättigte Lösung von Methylcholanthren in Alkohol (0,03%) appliziert. Nach 10–12 Pinselungen wird ein Stück Haut in Bouinscher Flüssigkeit fixiert, geschnitten und versilbert.

Abgesehen vom Haarbulbus, der seinen normalen Rhythmus von schwarz zu gelb beibehält, ist in der Epidermis ein dichtes Netz von verzweigten Pigmentzellen sichtbar. Diese Zellen enthalten ausschließlich schwarzes, grobkörniges Pigment. Sie entsprechen der in Fig. 1 rechts abgebildeten Zelle. Auch die Pigmentierung der Cutis ist durchweg tiefschwarz. Hier erscheinen nach Methylcholanthrenbehandlung zahlreiche Histiocyten⁵⁾. Sie enthalten phagozytisiertes, im Abbau befindliches Melanin, das im versilberten Präparat eine gelbe Farbe aufweist. Mit dem gelben Pigment der Haarwurzelscheide und des Haarbulbus kann man es jedoch nicht verwechseln, da die Histiocyten keine Ausläufer besitzen und das Pigment verklumpt und dicht gepackt ist. Lediglich in der Haarwurzelscheide, die sehr viel Melanocyten enthält, kommen neben schwarzen Pigmentzellen auch solche vor, die Pigment enthalten, das nach Versilberung eindeutig gelb erscheint (Fig. 2). Diese Pigmentzellen sind sehr viel lockerer pigmentiert als die schwarzen und enthalten wesentlich feinkörnigeres Pigment. Sie treten bei wildfarbigen und schwarzen Tieren in gleicher Weise auf. Das bedeutet, daß die Bildung von gelbem

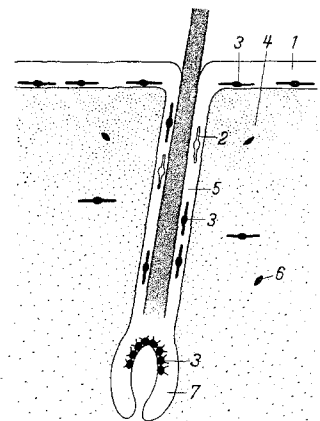


Fig. 2. Schema der Anordnung der Haut- und Haarpigmentzellen. 1 Epidermis. 2 Gelber Melanocyt. 3 Schwarze Melanocyten. 4 Cutis. 5 Haarwurzelscheide. 6 Histiocyt. 7 Haarbulbus

schwarzes, grobkörniges Pigment. Sie entsprechen der in Fig. 1 rechts abgebildeten Zelle. Auch die Pigmentierung der Cutis ist durchweg tiefschwarz. Hier erscheinen nach Methylcholanthrenbehandlung zahlreiche Histiocyten⁵⁾. Sie enthalten phagozytisiertes, im Abbau befindliches Melanin, das im versilberten Präparat eine gelbe Farbe aufweist. Mit dem gelben Pigment der Haarwurzelscheide und des Haarbulbus kann man es jedoch nicht verwechseln, da die Histiocyten keine Ausläufer besitzen und das Pigment verklumpt und dicht gepackt ist. Lediglich in der Haarwurzelscheide, die sehr viel Melanocyten enthält, kommen neben schwarzen Pigmentzellen auch solche vor, die Pigment enthalten, das nach Versilberung eindeutig gelb erscheint (Fig. 2). Diese Pigmentzellen sind sehr viel lockerer pigmentiert als die schwarzen und enthalten wesentlich feinkörnigeres Pigment. Sie treten bei wildfarbigen und schwarzen Tieren in gleicher Weise auf. Das bedeutet, daß die Bildung von gelbem