- 1709 C=O-Valenzschwingung der C 5-Oxogruppe (6-Ring-Keton),
 1230 C—O-Valenzschwingung der Acetoxygruppe,
 1195 | Bandendublett der C—O-Valenz- oder
 1170 | OH-Deformationsschwingung der Carbon-
 säure.

Das Vorliegen einer δ -Ketosäure konnte durch deren Überführung in das Enollacton (III) bewiesen werden. Das Lacton zeigte keine Kristallisationsneigung. Im System Bush I lag der R_f -Wert bei 0,65. Die Struktur von III ließ sich durch folgende Banden des IR-Spektrums stützen:

- [cm^{-1}]
 1753 C=O-Valenzschwingung des δ -Lactons und der acetylierten Glykoly-Seitenkette,
 1725 C=O-Valenzschwingung der acetylierten Glykoly-Seitenkette,
 1668 C=C-Valenzschwingung (Δ^5 -Enollacton),
 1230 C—O-Valenzschwingung der Acetoxygruppe,
 1150 C—O-Valenzschwingung der Lactongruppe.

Die OH-Valenzschwingung der Carbonsäure war nicht mehr vorhanden. Beim Enollacton der Abbausäure des Progesterons konnte gemeinsam mit E. CAPSI (Shrewsbury, Worcester Foundation) die Doppelbindung durch Messung der Kernresonanz ebenfalls in Δ^5 lokalisiert werden. In deuteriertem Chloroform lieferte die Substanz eine Bande bei τ 4,69, die auf das einzelne Proton der Doppelbindung zurückzuführen ist. Auch das Enollacton III zeigte die für eine Δ^5 -Doppelbindung charakteristische Linie bei τ 4,68.

Durch die mitgeteilten Ergebnisse ist das Spaltprodukt des Desoxycorticosterons als 7 α -Methyl-1-glykolyperhydroindanon-(5)-[β -propionsäure-(4)] aufgeklärt. Der mikrobielle Abbau des Desoxycorticosterons entspricht somit dem des Progesterons. Es liegen Hinweise dafür vor, daß auch andere Corticosteroide in prinzipiell gleichartiger Weise abgebaut werden können.

Wir sind Herrn Dr. TUMMLER für die Ausführung des Molekül-Massenspektrums, den Herren Dr. CASPI und Dr. PETTIG für die Kernresonanzspektren und Herrn WEHRBERGER für die IR-Spektren zu Dank verpflichtet.

Über die Produktion biologisch aktiver Phagen-Schwänze durch einen defekt lysogenen *Proteus mirabilis*-Stamm

Von UDO TAUBENECK

Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie Jena
 der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin
 (Z. Naturforsch. **18 b**, 989—990 [1963]; eingegangen am 13. Mai 1963)

Bei der Prüfung einer größeren Zahl von *Proteus*-Stämmen und deren stabilen L-Formen auf Lyso-genie^{1, 2} fiel ein *Proteus mirabilis*-Stamm durch ungewöhnliches Verhalten auf. Während die Sterilfiltrate der Kulturen phagenproduzierender Stämme auf Gußschichten mit den Indikatorbakterien die übliche fortzüchtbare Lysis hervorriefen, erzeugten Filtrate des Stammes *P. mirabilis* 52 bzw. seiner stabilen L-Form eine nicht fortzüchtbare Hemmung. Wurden die Filtrate verdünnt aufgetragen, erfolgte keine Auflösung des Hemmflecks in einzelne Plaques, sondern die Hemmung wurde lediglich schwächer und verschwand bei einer Verdünnung von etwa 10^{-4} vollständig. Eine Anreicherung des Hemmfaktors in Kulturen der Indikatorstämme war dementsprechend ebenfalls nicht möglich. Die Hemmung erwies sich als streng stammspezifisch. Unter 137 *P. mirabilis*-Stämmen und 40 *P. vulgaris*-Stämmen, die inzwischen geprüft wurden, fanden sich insgesamt 8 Indikatorstämme (6 *P. mirabilis* und 2 *P. vulgaris*) für den Hemmfaktor. Subkulturen von etwa 200 isolierten Einzelkolonien des *P. mirabilis* 52 waren zur Bildung des Hemmfaktors in gleicher Weise befähigt. Wurden die Sterilfiltrate 10 Min. auf 60 °C erhitzt, ließ sich keine Hemmwirkung mehr nachweisen. Dagegen erwies sich der Hemmfaktor als extrem uv-resistent.

Aus diesen Ergebnissen hätte zunächst auf die Gegenwart eines Bacteriocins geschlossen werden können.

Aus weiteren Versuchen ging jedoch hervor, daß der Hemmfaktor im Agar nicht diffundiert und sich durch Zentrifugation ab ca. 30 000 g sedimentieren läßt. Nachdem diese letzteren Daten das Vorhandensein eines echten Bacteriocins unwahrscheinlich machten, zeigten elektronenoptische Untersuchungen, daß die Hemmwirkung offensichtlich durch charakteristische Partikel hervorgerufen wird.

Die Präparation für die Elektronenmikroskopie erfolgte mit der Agarfiltrationsmethode³. Zellfreie Filtrate (Jenaer Ganzglas-Bakterienfilter G 5) des *P. mirabilis* 52 wurden zu gleichen Teilen mit 4–5-stdg. Kulturen der Indikatorstämme *P. vulgaris* SG 659 bzw. *P. mirabilis* PLI gemischt und präpariert. Sollten Sterilfiltrate allein untersucht werden, erfolgte vorher eine Anreicherung der Partikel durch Zentrifugation. Alle Aufnahmen wurden mit dem elektrostatischen Elektronenmikroskop Typ C des VEB Carl Zeiss, Jena, gemacht. Die Bedampfung erfolgte mit Platin.

In den Abb. 1* und 2 sind die an Indikatorzellen adsorbierten Partikel dargestellt. Es handelt sich dabei einmal um stäbchenförmige Gebilde von etwa 150 m μ Länge und 25 m μ Dicke, zum anderen um gestielte Formen, die aus einem zylinderförmigen Teil von 60 bis 80 m μ Länge und 30 m μ Dicke bestehen und meistens einen etwa 10 m μ dicken Fortsatz erkennen lassen. Da sich in den Filtraten des *P. mirabilis* 52 ausschließlich die langen Partikel finden lassen (Abb. 3), werden sie offensichtlich in dieser Form von den Bakterien produziert.

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung zahlreicher lysogener *Proteus*-Stämme ließen sich meh-

¹ U. TAUBENECK, Zbl. Bakteriol. I Orig. **185**, 416 [1962].

² U. TAUBENECK, J. Bacteriol. **86**, H. 6 [1963], im Druck.

* Abb. 1–4 s. Tafel S. 988 a.

rere, morphologisch unterschiedliche Phagentypen finden. Dabei zeigte sich, daß die von *P. mirabilis* 52 gebildeten Partikel exakt den Schwanzteilen eines Phagentyps entsprechen, der von den lysogenen *P. mirabilis*-Stämmen SG 656 und PCl regelmäßig produziert wird (Abb. 4). Der Schwanzteil dieser Phagen ist ebenfalls etwa 150 μ lang und 25 μ dick. Nach Adsorption an Bakterien kontrahiert er sich auf etwa die Hälfte der Länge. Das gleiche ist bei gelegentlich auftretenden „ghosts“ zu beobachten; in diesem Falle wird auch der Schwanzstift (core) sichtbar. Die „stäbchenförmigen“ Gebilde aus *P. mirabilis* 52 entsprechen also den normalen Schwanzteilen, die „gestielten“ Formen dem kontrahierten Zustand der Schwanzteile mit sichtbarem core.

Obwohl noch keine detaillierten elektronenoptischen Untersuchungen durchgeführt wurden, läßt sich doch eine gewisse Ähnlichkeit dieser kompletten *Proteus*-Phagen mit den Vertretern der T-even-Serien erkennen. Ein entscheidender Unterschied besteht jedoch darin, daß sich der den freien Phagenschwänzen entsprechende komplette *Proteus*-Phagentyp temperiert verhält.

Das Wirtsspektrum der freien Phagenschwänze aus *P. mirabilis* 52 und der kompletten Phagen aus SG 656 und PCl ist sehr ähnlich. Der exakte Vergleich konnte noch nicht abgeschlossen werden, da die Stämme SG 656 und PCl polylysogen sind. Inzwischen ließ sich aber zeigen, daß solche Indikatorstämme, die sowohl die kompletten Phagen aus SG 656 und PCl als auch die freien Phagenschwänze anzeigen, nach Resistenzzüchtung auf Phagenschwänze gleichzeitig auch gegen die beiden kompletten Phagen resistent geworden sind. Die resistenten Mutanten der Indikatorstämme verhalten sich übrigens wie natürlich resistente *Proteus*-Stämme. In beiden Fällen erfolgt keine Adsorption der Phagenschwänze bzw. der kompletten Phagen.

Formelemente, die Phagenköpfen entsprechen könnten, wurden in den Filtraten des *P. mirabilis* 52 bisher nicht gefunden.

Diese Befunde deuten darauf hin, daß in *P. mirabilis* 52 erstmalig ein defekt lysogener Bakterienstamm gefunden wurde, der ohne künstliche Induktion ständig freie Schwanzteile eines Phagen produziert, die von den Zellen spezifischer Indikatorstämme adsorbiert werden. Nach der Adsorption kontrahieren sich die Schwanzmäntel, wobei die Schwanzstifte (cores) jedoch meistens nicht in die Zelle eingestochen werden, sondern nach außen durchstoßen. Die Adsorption der Partikel führt zum Absterben der adsorbierenden Zellen. Darin gleichen sie in ihrer Wirkung den „ghosts“ der T-even-Phagen⁴, obwohl die korrespondierenden kompletten *Proteus*-Phagen im Gegensatz zur T-even-Serie temperiert sind. Das Auftreten von Sphäroplasten, wie sie sich mit „ghosts“ induzieren lassen⁵, ist dagegen nicht zu beobachten. Im Phasenkontrast-Mikroskop beobachtet man,

daß nach Zusatz des Kulturfiltrates von *P. mirabilis* 52 zu den Indikatorbakterien die Zellen bereits nach wenigen Min. plötzlich verblässen, ohne daß eine Veränderung der Kontur der Zellen bemerkbar wäre. Auch im elektronenmikroskopischen Bild zeigt sich, daß die Gestalt der abgetöteten Zellen völlig der normalen Zellform gleicht.

Der defekt lysogene *P. mirabilis* 52 besitzt nach Lysogenisierung die Fähigkeit zur Synthese kompletter Phagen eines anderen morphologischen Typs. Der Stamm wurde bisher mit drei unterschiedlichen, temperierten Phagen (die in ihrer Gestalt etwa dem *E. coli*-Phagen T 5 entsprechen) lysogenisiert. In allen Fällen bildeten die lysogenisierten Stämme neben den kompletten Phagen, die zur Lysogenisierung verwendet wurden, gleichzeitig eine unverminderte Menge der beschriebenen freien Phagenschwänze.

Ähnliche Formelemente wie die hier beschriebenen Phagenschwänze wurden neben anderen Partikeln in Phagenlysaten von *Erwinia carotovora* beobachtet⁶. Allerdings liefern diese Untersuchungen keinerlei Anhaltspunkte für eine eventuell mögliche Adsorption derartiger Gebilde an Zellen und ihre biologische Wirkung.

Die Adsorption von Schwanzstiften des Phagen T 2 an Zellen von *E. coli* wurde von KELLENBERGER und SECHAUD⁷ beschrieben. Es ließ sich zeigen, daß die Adsorption dieser cores keinen Abtötungseffekt besitzt. Auch die nach UV-Induktion zu beobachtenden Phagenschwänze einiger defekt lysogener *E. coli* K 12(λ)-Stämme werden zwar an Bakterien adsorbiert, töten aber offenbar nicht ab⁸.

Die regelmäßige Bildung freier, biologisch aktiver Phagenschwänze könnte vielleicht einen ersten „Reduktionsschritt“ auf einem Wege darstellen, der schließlich zur Bildung bestimmter Bacteriocine führt. In diesem Zusammenhang ist es von Interesse, daß die defekte Lysogenie des *P. mirabilis* 52 nicht durch künstlich induzierte Mutation entstanden ist, sondern daß dieser Stamm offenbar schon bei seiner Isolation den mutierten Prophagen trug. Es läßt sich also denken, daß lysogene Bakterienstämme unter natürlichen Bedingungen Veränderungen in ihren Prophagen erleiden, die zur unkompletten Phagenproduktion führen. Wenn das Ergebnis, wie im vorliegenden Falle, die Produktion von Partikeln ist, die die volle biologische Wirkung des Schwanzteiles von Phagen besitzen, aber nicht mehr mit DNS ausgestattet sind, also über keinen Träger genetischer Information verfügen, der ihre identische Reproduktion in den angegriffenen Zellen ermöglichen könnte, so gibt es bezüglich der biologischen Wirkung dieser Phagenteilstücke und der Bacteriocine keine Unterschiede mehr.

Unterschiede bestehen dann lediglich in den Abmessungen. Die Phagenschwänze sind gut zu sehen, während Bacteriocine bisher nicht eindeutig dargestellt

³ E. KELLENBERGER u. W. ARBER, *Virology* **3**, 245 [1957].

⁴ R. M. HERRIOT u. J. L. BARLOW, *J. gen. Physiol.* **41**, 307 [1957].

⁵ D. M. GOLDFARB, A. V. AYDEVA u. N. B. BORISOVA, *Nature* [London] **196**, 1203 [1962].

⁶ G. CHAPMAN, J. HILLIER u. F. H. JOHNSON, *J. Bacteriol.* **61**, 261 [1951].

⁷ E. KELLENBERGER u. J. SECHAUD, *Virology* **3**, 256 [1957].

⁸ W. ARBER u. G. KELLENBERGER, *Virology* **5**, 458 [1958].

werden konnten⁹. Zukünftige Untersuchungen müssen zeigen, ob es möglich ist, in unserem defekt lysogenen *Proteus*-System den Prophagen weiter zu verändern, so daß auch die Fähigkeit zum Aufbau der vollständigen Schwanzteile verlorengelassen und nur noch die für die Adsorption und die enzymatische Öffnung der Zellwand verantwortlichen Proteine gebildet und strukturell or-

ganisiert werden. Derartige Experimente könnten zur weiteren Klärung der Frage beitragen, ob zwischen bestimmten Bakteriophagen und bestimmten Bacteriocinen tatsächlich genetische Zusammenhänge bestehen^{10, 11}.

Für kritische Hinweise nach der Durchsicht eines Manuskriptentwurfes bin ich Herrn Prof. Dr. E. KELLENBERGER zu großem Dank verpflichtet. Frl. I. ZIMMERMANN und Frau G. ELSER leisteten wertvolle technische Assistenz.

⁹ E. KELLENBERGER u. G. KELLENBERGER, Schweiz. Z. allg. Pathol. Bakteriologie, 19, 582 [1956].

¹⁰ F. JACOB, L. SIMONOVITCH u. E. L. WOLLMAN, Ann. Inst. Pasteur 83, 295 [1952].

¹¹ R. LATARJET u. P. FREDERICQ, Virology 1, 100 [1955].

Zur Chemie chilenischer Flechten I Das Vorkommen von Psoromsäure in *Ingaderia pulcherrima* Darbishire

VIII. Mitteilung über Flechteninhaltsstoffe¹

Von SIEGFRIED HUNECK

Institut für Pflanzenchemie der Technischen Universität
Dresden in Tharandt und

GERHARD FOLLMANN

Abteilung für Cytologie und Virologie der
Landwirtschaftlichen Fakultät der Universität von Chile,
Santiago²

(Z. Naturforsch. 18 b, 991—992 [1963]; eingeg. am 4. September 1963)

Die der relativ umfangreichen, phylogenetisch inhomogenen Gruppe endemischer Flechtenarten des mittleren Südsektors des westlichen Andenabfalls angehörige bartförmige Roccellacee *Ingaderia pulcherrima* Darb. lebt nicht nur epiphyllodisch³, was nach DARBISHIRES⁴ Vorgang in mehrere Florenwerke und Zusammenfassungen übernommen wurde, sondern — ähnlich anderen Vertretern der Familie — auch epipetrisch (Nordsüdausdehnung des streng auf die Pazifikküste beschränkten Areals: 17—32° SB). Von starker Halophilie sowie leichter Nitrophilie abgesehen, stellt die zerstreut, dann aber gesellig auftretende Färbeflechte eine weitgehend substratvage Differentialart der Subassoziations *pacificum* Follm. des *Chrysotrichetum noli-tangere* Follm. dar, eines charakteristischen, häufigen Nebelinzug anzeigenden Flechtenvereins der zentralchilenischen Dornstrauch- und Sukkulanten-Formationen⁵.

Der hellgraue, bisweilen ins Gelbliche hinüberspielende, weiche Thallus schmeckt zuerst stark salzig, dann

sehr bitter. Der salzige Geschmack rührt von Meeressalzen her, da das für die vorliegende Analyse benutzte Material von Küstenfelsen (Granodiorit) bei Santa Barbara (Provinz Atacama) stammt. Derartige hygroskopische Salzkrusten finden sich bei mehreren Strauchflechten der erwähnten Assoziation und des zum gleichen Gesellschaftsverband (*Teloschistidium chrysophthalami* Follm.) gestellten *Anaptychietum intricatae* Follm.⁶ Sie sind möglicherweise für die Wasserdampfadsorption dieser Nebelflechten von Bedeutung. Die Flechte gibt mit *p*-Phenylendiamin eine intensiv gelbe Farbe und reagiert mit Kalilauge schwach gelb.

24 g bei 110° getrocknetes und pulverisiertes Material werden 4 Stdn. mit 200 ml absolutem Äther extrahiert, wobei sich nach einiger Zeit im Extrakt Kristalle ausscheiden. Diese werden nach Aufbewahren über Nacht abgesaugt, mit Äther gewaschen und getrocknet: 3,1 g (entsprechend 12,7%) Rohprodukt. Die reine Verbindung resultiert nach einmaliger Kristallisation aus 300 ml Aceton in langen farblosen Nadeln vom Schmelzpunkt 268—269° unter Zersetzung. Die Kristalle schmecken bitter, sind in wäßriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung leicht löslich, enthalten kein Chlor und geben folgende Farbreaktionen: *p*-Phenylendiamin: gelb; Kalilauge: schwach gelb, nach Zugabe von Natriumhypochlorit keine Farbveränderung; Eisenchlorid: rotbraun; konzentrierte Schwefelsäure: gelb, beim Erwärmen rot. Natriumhypochlorit gibt keine Farbe. Die Substanz hat die Summenformel C₁₈H₁₄O₈ (ber. C 60,34 H 3,94; gef. C 60,51 H 4,37); eine Methoxylgruppen-Bestimmung zeigt das Vorliegen einer OCH₃-Gruppe (ber. OCH₃ 7,95; gef. 7,46).

Aus dem Schmelzpunkt, der Elementaranalyse und den Reaktionen folgt das Vorliegen von Psoromsäure (I).

¹ VII. Mitteilung, S. HUNECK, Naturwissenschaften 50, 646 [1963].

² Anschrift: Universidad de Chile, Facultad de Agronomía, Laboratorios de Citología y Virología, Casilla 1004, Santiago de Chile (A.S.).

³ G. FOLLMANN, An. Acad. chil. Ci. nat. 25, 63 [1962].

⁴ O. V. DARBISHIRE, Bibl. bot. 9, 1 [1898].

⁵ G. FOLLMANN, Ber. dtsch. bot. Ges. 73, 449 [1960].

⁶ G. FOLLMANN, Ber. dtsch. bot. Ges. 74, 495 [1961].