

Tableau II. Dosage microphotométrique du DNA
Matériel: noyaux d'érythrocytes (étalements) Coloration: Feulgen λ = 550 mμ

Espèces	Nombre de mesures	Axes, moyennes (μ)	Quantité DNA _m	σ	S. e.
Truite (<i>Salmo irideus</i>)	40	7,48/3,78	5,68	0,44	0,07
Palée (<i>Coregonus fera</i>)	62	7,72/4,17	6,66	0,54	0,07
Bondelle (<i>Coregonus macrophthalmus</i>)	31	7,86/4,78	7,04	0,49	0,09

noyaux dans les zones utilisées pour les mesures photométriques. Ces indications concordent avec celles du microscope interférentiel pour assigner aux noyaux une épaisseur de 0,7 μ, et des variations négligeables, au regard de l'erreur faite sur le relevé des autres dimensions (erreur < 0,2 μ).

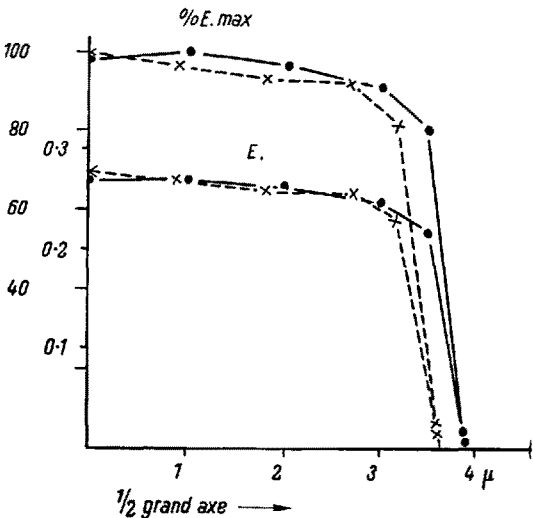


Fig. 2. Variations d'extinction de noyaux d'érythrocytes de palée, suivant le demi-grand axe. (Étalements secs fixés, coloration Feulgen.)
«plug»: 0,6 μ λ = 550 mμ

La conversion en valeurs absolues des unités arbitraires du Tableau II, sur la base de 4,95 pour la truite, indique pour la palée 5,80 et pour la bondelle 6,13 ($\times 10^{-9}$ mg DNA par noyau). Nous avons procédé à une analyse mathématique portant sur toutes les valeurs individuelles et les moyennes émanant des dosages microphotométriques. Un calcul des constantes γ_1 et γ_2 vérifie que, dans les trois cas, la distribution ne s'écarte pas de la forme normale, puis un «test de t», appliqué aux différences de moyennes, démontre qu'elles sont toutes, et sans ambiguïté, statistiquement significatives, y compris celle qui caractérise le système palée-bondelle ($P < 0,1\%$). Les rapports de variance attestent que ces conclusions ne peuvent pas procéder d'une disparité significative des variances. L'erreur systématique, que le calcul statistique n'enregistre pas, se trouve à peu près compensée dans l'estimation des différences de moyennes, toutes les opérations ayant lieu dans les mêmes conditions techniques. Ces mesures s'appuyent sur trois individus seulement par espèce. Néanmoins, aucun écart notable n'a pu être décelé. Considérant que la constante de DNA des érythrocytes de poissons est une notion reconnue, et que nos résultats photométriques coïncident avec ceux des dosages chimiques, nous pouvons admettre que les différences enregistrées sont aussi démonstratives à l'échelle des popula-

tions. De la confrontation des deux techniques émanent les valeurs suivantes: palée = $5,8 \times 10^{-9}$ mg DNA par noyau; bondelle = $6,1 \times 10^{-9}$ mg DNA par noyau. Le présent travail était achevé lorsque nous avons eu connaissance de l'article de LIEDER⁹ qui attribue 60 chromosomes à *Salmo irideus* – à égalité avec le saumon –, valeur qui les isole du groupe des 9 autres espèces de «truites» et de corégones décrits comme possédant 80 chromosomes environ. Un tel écart est parfaitement compatible avec les teneurs mesurées en DNA, pour le rapport *Salmo irideus*/corégones. Pour ces derniers, par contre, le désaccord entre constantes de DNA devrait se traduire, vraisemblablement, par une disproportion des régions hétérochromatiques, ou par une hétéromorphie des caryotypes. L'hybridation interspécifique expérimentale, relativement aisée chez les Salmonidés, suppose une certaine aptitude à la conjugaison des génomes, et un degré assez élevé d'homologie. Cette constatation, jointe aux principes que postule l'hypothèse robertsonienne, rendrait alors assez probable une différence polyténique.

Ce travail est au bénéfice d'un subside du Fonds national suisse de la recherche scientifique.
J.-P. BARGETZI

Institut de Zoologie, Université de Neuchâtel, le 30 septembre 1958.

Summary

Two closely related forms of *Coregonus* from Lake Neuchâtel were examined cytologically and biochemically, in order to ascertain the chromosome number and the DNA content of haploid and diploid nuclei. *Coregonus fera* has $2N = 78 \pm 2$ chromosomes, and a DNA content (diploid) of 5.8×10^{-9} mg; *Coregonus macrophthalmus*, $2N = 78 \pm 3$, DNA content of 6.1×10^{-9} mg. The difference between the two DNA constants is statistically significant. These results do not support the hypothesis which postulates that polyploidy may be a determining factor in the speciation of these fishes.

⁹ U. LIEDER, Z. Fischerei [N. F.] 4, 589 (1955).

Experimentelle Untersuchungen
über die hormonalen Grundlagen
der Implantation des Säugerkeimes

Die hormonalen Grundlagen der Implantation des Säugerkeimes in die Uteruswand (Nidation) sind noch nicht restlos abgeklärt. Die Tatsache, dass es Tierarten gibt, bei denen die Nidation physiologischerweise während längerer Zeit unterbleibt, in der die Blastocyste im Uteruslumen suspendiert bleibt, ohne sich einzunisten, bietet eine günstige Gelegenheit zur experimentellen Untersuchung der Frage. Es sind dies neben den Tieren mit

verlängerter Tragzeit (Gürteltier, Reh, Dachs, Marder, Nerz u. a.) die Muriden (Ratte, Maus und ihre Verwandten), bei denen das Weibchen im Anschluss an den Wurf sogleich wieder gedeckt werden kann. In diesem Falle wird, wenn das jungträchtige Weibchen den vorhergehenden Wurf säugt, die Nidation um einige Tage bis zu zwei Wochen verzögert (die Tragzeit beträgt drei Wochen), wobei das Gewicht des gesäugten Wurfes, also die Intensität der Milchsekretion für den Eintritt der Verzögerung massgebend ist¹.

Bei der Beurteilung der hormonal bedingten Ursachen der Nidationsverzögerung während der Laktation stehen sich zwei Ansichten gegenüber. Ein Teil der Autoren macht einen Progesteronmangel für das Ausbleiben der Nidation verantwortlich, während die andern im Gegenteil einen Oestrogenmangel als Ursache ihres Nichteintretens ansehen.

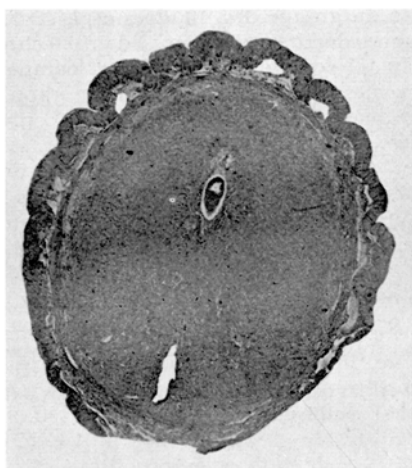


Abb. 1. Frisch implantierter Keim am 13. Tage, 3 Tage nach der Ovocyclusinjektion.

Nachdem meine früheren Versuchsergebnisse alle darauf hinwiesen, dass eine, wenn auch sehr geringe Oestrogenmenge notwendig ist, um die Keimimplantation herbeizuführen, habe ich die durch das Säugen bedingte Nidationsverzögerung auf das Fehlen von Oestrogenen zurückgeführt und in den hier vorliegenden Versuchen diese Annahme zu bestätigen versucht.

Frisch begattete, säugende Mäuseweibchen wurden am 6. Tage (dem Nidationstermin beim nicht säugenden Tiere) kastriert und erhielten dann täglich eine Progesteroninjektion (0,1–10 mg Lutocyclin Ciba), um das Weiterleben der Keime zu gewährleisten, da die Ovariectomie bei der Maus die Gravidität unterbricht. Am 7., 10. oder 15. Tage erhielten die Tiere eine zusätzliche Injektion von 0,5 γ Ovocyclusin, um die Nidation herbeizuführen. Es ergab sich, dass die Progesteronzufuhr, auch bei genügender und sogar hoher Dosierung, in keinem Falle die Nidation bewirkte, dass aber die Oestrogeninjektion die Implantation herbeiführte. 29 von 43 so behandelten Weibchen hatten am 3. Tage nach der Ovocyclusinjektion, also jeweils am 10., 13. oder 18. Tage der Gravidität, frisch implantierte Keime im Uterus (Abb. 1), die übrigen erwiesen sich als nicht befruchtet. Diese Resultate liessen sich auch an der Ratte bestätigen.

Hieraus wurde geschlossen, dass für das Zustandekommen der Nidation eine Oestrogenausschüttung erforderlich ist und dass eine solche beim nicht säugenden Tier

am Termin der Nidation und beim säugenden Weibchen nach Abklingen der Laktation erfolgt. Es liess sich dies auf folgende Weise bestätigen. Weibchen, die bei der post-partum-Ovulation gedeckt worden waren, wurden am 7. Tage einseitig kastriert und das exstirpierte Ovar fixiert (Abb. 2). Gleichzeitig wurden ihnen die Jungen

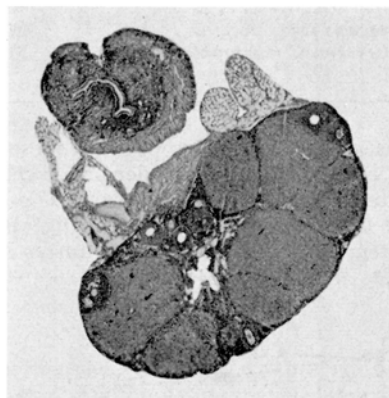


Abb. 2. Rechtes Ovar eines jungträchtigen, säugenden Weibchens am 8. Tage.

weggenommen und dadurch die Nidation herbeigeführt. Nach erfolgter Implantation wurde am 11. Tage das andere Ovar fixiert (Abb. 3). Das histologische Bild der beiden Ovarien zeigt, dass nach Wegnahme der Jungen die Follikelhormon-Sekretion viel intensiver ist als während des Säugens. Weil das Ovar also auch während der Trächtigkeit kleine Oestrogenmengen sezerniert, kann das Progesteron beim nicht säugenden Tier die Nidation nicht verzögern, wie auch gezeigt werden konnte.

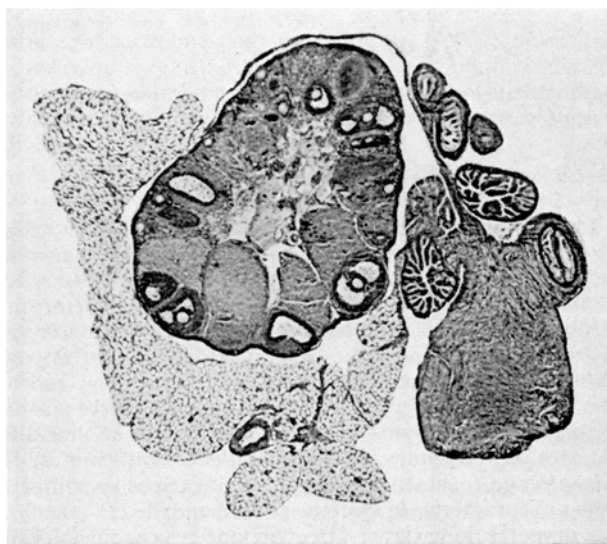


Abb. 3. Linkes Ovar desselben Weibchens nach Wegnahme der Jungen am 11. Tage.

Die bei den Muriden während der Laktation eintretende Nidationsverzögerung wird darauf zurückgeführt, dass während des Säugens keine Oestrogene sezerniert werden.

Die ausführliche Arbeit erscheint in «Gynaecologia».

SUZANNE BLOCH

Zoologische Anstalt der Universität und Universitäts-frauenklinik, Basel, 8. Juli 1958.

¹ S. BLOCH, Bull. Schweiz. Akad. med. Wiss. 4, 309 (1948).

Résumé

Des souris et des rats femelles ayant mis bas en présence d'un mâle et allaitant 6 petits sont castrées le 6^e jour de la nouvelle gravidité. On leur donne une injection journalière de progestérone (0,1 à 10 mg) pour maintenir les blastocystes en survie et le 7^e, 10^e ou 15^e jour, une injection de 0,5 γ de folliculine pour provoquer l'ovulation. La progestérone, même en hautes doses, ne permet jamais la réalisation de l'implantation, tandis que la folliculine la provoque, de fait que les femelles gravides ont des germes récemment implantés trois jours après l'injection d'ovocycline, c'est-à-dire le 10^e, 13^e ou 18^e jour de la gravidité (Fig. 1).

Nous concluons de ces expériences que le retard de la nidation pendant la lactation est dû au manque d'hormone folliculaire, ce qui est démontré aussi par l'histologie des ovaires avant et après la nidation (Fig. 2 et 3).

Bestimmung von Glykolyse-Metaboliten in isolierten Zellkernen*

Die Aufteilung bestimmter Stoffwechselprozesse auf die einzelnen Strukturelemente der Zelle ist in den letzten Jahren vielfach bearbeitet worden (Übersichten bei ¹). Fast stets hat man sich aber mit der Aktivitätsbestimmung der in Frage stehenden Enzyme begnügt und stillschweigend angenommen, dass der Nachweis einer Enzymaktivität als solcher bereits etwas über das tatsächliche Vorkommen der von diesen Enzymen katalysierten Stoffwechselprozesse in den betreffenden Zellpartikeln aussage. Schon verschiedentlich, und zum Teil vor längerer Zeit ², ist hingegen diskutiert worden, ob im Zellkern vorhandene Enzyme dort auch die entsprechenden Substrate vorfinden oder ob man nach anderen Deutungsmöglichkeiten für das Vorkommen von Enzymen im Zellkern suchen muss.

Zur Klärung dieser Frage wurden Bestimmungen von Zwischensubstraten der Glykolyse mittels enzymatischer Methoden vorgenommen.

Methodik. Ausgewachsenen Ratten wurde in Äthernarkose die Bauchhöhle eröffnet und durch Aufpressen von in flüssiger Luft gekühlten Metallgeräten die Leber *in situ* eingefroren. Durch dieses Vorgehen ³ werden alle Stoffwechselprozesse momentan sistiert. Nach Gefrier-trocknung wurden aus dem Leberpulver nach dem Behrenschen Prinzip ⁴ Zellkerne isoliert. Die Zellfraktionen wurden in der Kälte mit HClO₄ enteiwesst, HClO₄ als KClO₄ entfernt und die klaren Extrakte zu den enzymatischen Analysen ^{3,5} eingesetzt. Folgende Zellfraktionen wurden verglichen: A Rattenleber-Gefriertrockenpulver, nach Zerreiben vom Bindegewebe abgesiebt; B wie A, aber mit den zur Zellkernisolierung benutzten Lösungsmitteln (Petroläther, Zyklohexan, Tetrachlorkohlen-

stoff) erschöpfend extrahiert; C aus A nach ⁴ dargestellte Zellkerne.

Substratkonzentration in isolierten Rattenleber-Zellkernen
[Werte als μM ($10^{-6} \mu M$)/g Trockenpulver]

	Zellfraktion (siehe Text)		
	A	B	C
Dihydroxyacetonphosphat	(9)	(10)	(6)
Fructose-1,6-diphosphat	265	330	320
Pyruvat	83	91	145
Phosphoenolpyruvat	121	174	114
Malat	1090	1040	770
α -Glycerophosphat	2090	2140	2710
Lactat	7340	8940	13200
3-Phosphoglycerat	610	520	440
Adenosintriphosphat	2160	2240	2460
Adenosindiphosphat	6400	6150	4050
Adenosinmonophosphat	5090	5610	4850
Σ der 3 Adennukleotide	13650	14000	11350
Glucose-6-phosphat			3930

Die Ergebnisse der enzymatisch-analytischen Tests sind in der Tabelle wiedergegeben. Man ersieht aus diesen Daten, dass alle untersuchten Substrate auch in Zellkernen in einer dem Gesamtgewebe vergleichbaren, wenn auch gelegentlich etwas abweichenden Konzentration vorhanden sind. Anders als bei den normalerweise gefundenen Werten für Rattenleber ³ sind die Quotienten Lactat: Pyruvat und auch diejenigen der 3 Adennukleotide in Richtung auf anaerobe Verhältnisse verschoben, so dass die Werte der Tabelle nicht als Absolutwerte für Rattenleber gewertet werden können; untereinander sind die Werte für die einzelnen Zellfraktionen aber voll vergleichbar, und daher ist der Schluss gerechtfertigt, dass in Zellkernen nicht nur alle glykolytischen Enzyme ⁶, sondern auch deren Substrate in einer Konzentration vorhanden sind, die ein tatsächliches Ablaufen der glykolytischen Prozesse in Zellkernen gestattet. Nach Meinung des Verfassers dürften jetzt praktisch keine Zweifel mehr bestehen, dass auch der isolierte Zellkern zur Glykolyse befähigt ist und dass zumindest auf diesem Wege eine intranukleäre ATP-Bildung erfolgen kann.

Der Verfasser dankt Herrn Prof. Dr. Th. BÜCHER, Physiologisch-chemisches Institut der Universität Marburg, für die ausgezeichnete Gastfreundschaft und Arbeitsmöglichkeit in seinem Institut. Die Untersuchungen wurden durch Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

G. SIEBERT

Physiologisch-chemisches Institut der Johannes-Gutenberg-Universität, Mainz, den 3. August 1958.

Summary

Isolated rat liver nuclei have been analyzed for the intranuclear concentration of 8 glycolytic metabolites, and in addition for the 3 adenine nucleotides, and for malate. All these substrates are to be found in nuclei in a range of concentration comparable to that in the whole tissue. The consequences of these findings with respect to the definite establishment of glycolysis in isolated nuclei, as well as for the intranuclear formation of energy-rich phosphate bonds, are discussed.

* G. SIEBERT, Vortrag 9. Mosbacher Symposion 1958 (im Druck).

* Meinem Lehrer, Prof. Dr. Dr. K. LANG, in aller Verehrung und Dankbarkeit zum 60. Geburtstag gewidmet.

¹ G. SIEBERT und R. M. S. SMELLIE, *Int. Rev. Cytol.* 6, 383 (1957). – G. H. HOGEBOOM, E. L. KUFF und W. C. SCHNEIDER, *Int. Rev. Cytol.* 6, 425 (1957).

² K. LANG und G. SIEBERT, *Biochem. Z.* 322, 196 (1951/52).

³ Th. BÜCHER, Persönliche Mitteilung.

⁴ K. LANG und G. SIEBERT, in HOPPE-SEYLER/THIERFELDERS Handbuch, 10. Aufl., Bd. 2 (Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955), S. 537.

⁵ H. J. HOHORST, *Biochem. Z.* 328, 509 (1957).