

S-chromosomes continues to grow, which indicates that some of the S-deficiencies are more viable than the M-deficiencies.

Qualitatively, we observed all the predicted types of deficiencies on the basis of the localisation of breaks.

As a concluding remark, we may point out that if the genome shortening can be referred to the presence of deficient chromosomes, it still remains to be known exactly which deficiencies are more and which are less viable and whether they survive for more than one mitotic cycle.

The authors are indebted to Professor Å. GUSTAFSSON, Department of Genetics, The Forest Research Institute Stockholm, for his enthusiastic interest, helpful suggestions, and critical reading of the manuscript. Acknowledgments are made to Professor A. HADDOW, The Chester Beatty Research Institute, London, who furnished the compound necessary for this research.

J. \* and M. \*\* MOUTSCHEN-DAHMEN

*Institute of Plant Morphology, Cytogenetics Department, University of Liege (Belgium), April 13, 1959.*

### Résumé

Au cours d'un précédent travail concernant l'action du Myleran chez *Vicia faba*, nous avons mesuré un écourtement général des caryotypes pendant le développement radulaire. Les expériences actuellement en cours démontrent que cet écourtement est bien dû à l'apparition de chromosomes déficients résultant de carence de ré- unions chromosomiques consécutives aux cassures. Quelques conclusions sur la viabilité de carotypes déficients ont pu être tirées.

\* Chargé de Recherches au Fonds National belge de la Recherche Scientifique.

\*\* Chargée de Recherches à l'Institut pour l'encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture.

### Étude quantitative de la régénération caudale, avec ou sans moelle épinière, chez la larve de Salamandre <sup>1</sup>

Le rôle inducteur joué par la moelle épinière au cours de la régénération caudale des Batraciens Urodèles a été souvent mis en évidence<sup>2</sup>. Nous avons examiné ce problème dans le cadre d'une étude d'ensemble qui paraîtra *in extenso* ailleurs. Confirmant les observations antérieures, nous avons constaté qu'en l'absence de moelle épinière, la morphogenèse de la queue est incomplète: allongement minimum du régénérat, aucune différenciation d'éléments squelettiques et musculaires à son intérieur<sup>3</sup>. Néanmoins, les régénérats ont extérieurement l'aspect d'une queue. Ces formations, injustement négligées jusqu'alors et désignées comme des proliférations banales du tissu des nageoires, ont fait l'objet d'une étude quantitative dont nous rapportons ici les résultats.

**Matériel-méthode.** Des larves de *Salamandra salamandra* Laur. nées et élevées au laboratoire, âgées, au moment de

l'opération, de 20 à 25 jours et de taille approximativement identique, sont utilisées pour cette recherche.

Il y a deux groupes d'animaux: les témoins à régénération normale (9 cas) et les despinalisés (40 cas).

La queue des témoins est simplement amputée à une distance de 10 mm de sa base.

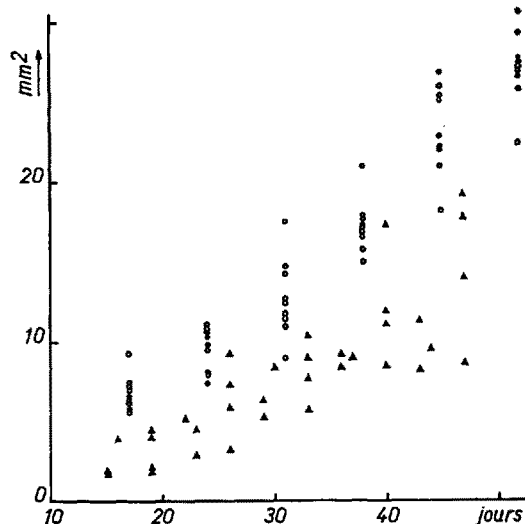


Fig. 1. Croissance des régénérats de queues normales et despinalisées. Mesures individuelles de la surface de projection latérale des régénérats en fonction du temps.

ordonnées = surface en mm<sup>2</sup>  
abscisses = jours après l'amputation  
○ = normaux  
▲ = despinalisés

La suppression de la moelle chez les despinalisés se fait en la sectionnant à une distance de 3 mm de la surface d'amputation, à travers une fente pratiquée au flanc de la queue. Une aiguille de verre, introduite dans le canal rachidien par cet orifice, permet de pousser vers l'arrière le segment de moelle isolé, qui sort ainsi entier. En obstruant le canal rachidien évidé avec de l'épiderme, au niveau de la fente, on empêche la régénération de la moelle. On obtient ainsi un moignon de queue, dépourvu de moelle épinière sur une longueur de 3 mm, mais avec les autres tissus intacts.

Les régénérats des témoins et des animaux despinalisés sont dessinés à des intervalles réguliers, de profil, à la chambre claire (gross. lin.  $\times 12$ ). A la fin de l'expérience, on s'assure de l'absence de la moelle en faisant la vérification histologique sur des coupes sériées. Les larves sont maintenues dans des cristallisoirs individuels et à des conditions de température, de lumière, de volume d'eau, d'aération et de nutrition similaires. La croissance de leur corps est donnée par deux coefficients: un général et un local. Le premier est un coefficient de croissance moyenne en longueur du corps de l'animal<sup>4</sup>. Le deuxième coefficient est donné par l'augmentation de la largeur moyenne de la queue.

Etant ainsi en possession d'un matériel comparable, nous avons mesuré les différences entre régénérats normaux et sans moelle épinière. L'appréciation de leur croissance se fait par la mesure périodique: a) de la longueur maximum du régénérat, de la base à l'apex, et

<sup>1</sup> Travail exécuté grâce une subvention de la «Donation GEORGES et ANTOINE CLARAZ, instituta et curata JOHANNIS SCHINZ professoris auspiciis».

<sup>2</sup> Y. K. OKADA, Annot. zool. japon. 17, 339 (1938). – S. HOLTZER, J. Morph. 99, 1 (1956). – H. ROGUSKI, Folia biol. 5, 249 (1957).

<sup>3</sup> V. KIORTSIS et A. DROIN, Arch. Sci. 11, 236 (1958).

<sup>4</sup> La longueur du corps, c'est-à-dire la longueur totale, moins celle de la queue est une mesure plus adéquate que la longueur de l'animal entier (E. MAYR, E. G. LINSLEY et R. L. USINGER, *Methods and Principles of Systematic Zoology* (New York 1953), p. 130.

b) de la surface de la projection latérale du régénérat. Comme celui-ci est très aplati, cette surface caractérise son volume. L'évaluation de la surface est faite sur le dessin à la chambre claire au moyen d'un planimètre polaire. Des 40 animaux despinalisés, 7 ont été suivis de façon comparable aux 9 témoins. Afin d'obtenir une appréciation correcte, nous avons pris en considération seulement ces cas, bien que les autres montrent, dans une large mesure, une croissance similaire.

*Choix d'un paramètre.* Dans ce cas particulier, l'utilisation d'une fonction de croissance en  $S$  s'avère impossible. La métamorphose qui s'accompagne d'une réduction de la largeur de la queue, intervient avant que le plateau de la courbe, représenté par la portion caudale amputée, soit atteint. D'autre part, les valeurs caractéristiques du départ ne sont pas suffisantes. Nous nous sommes donc limités à la période de croissance mesurable du 15<sup>e</sup> au 50<sup>e</sup> jour après l'amputation.

Nous avons constaté à l'aide de graphiques (Fig. 2a et b):

- a) une croissance approximativement linéaire du régénérat;  
b) une augmentation de la variance avec le temps (Fig. 1).

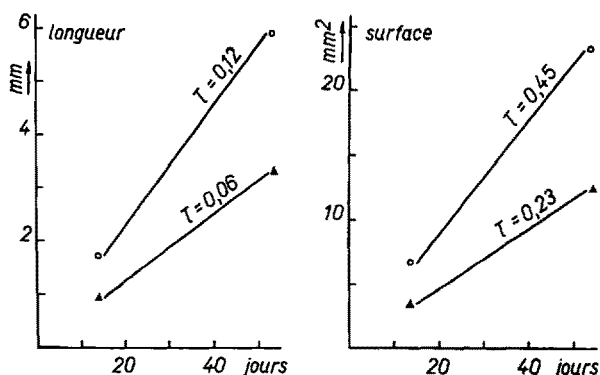


Fig. 2. Fonctions de croissance des régénérats de queues normales et despinalisées. a = longueur, b = surface de projection latérale.

○ = normaux  
▲ = despinalisés

Une régression linéaire n'étant pas indiquée, nous avons utilisé un coefficient d'accroissement  $\tau$ , selon la théorie de RAO<sup>5</sup>.

$$E(y_i) = \tau x_i$$

et pour la variance

$$V(y_i) = x_i^2 \sigma^2$$

(la variabilité augmente donc avec le carré du temps).

On calcule par la formule suivante:

$$\tau = \frac{\sum z_i}{n} \quad \text{avec} \quad z_i = \frac{y_i}{x_i}$$

où  $x_i$  = nombre de jours après l'opération;

$y_i$  = longueur ou surface mesurée au jour  $x_i$  et

$n$  = nombre de mesures.

Nous calculons ainsi une pente moyenne de la courbe de croissance.

*Résultats.* Le coefficient de la croissance en longueur moyenne du corps de l'animal est le même pour les témoins et les despinalisés: 1,3. Le taux d'accroissement en largeur de la queue est environ le même partout:

$$\tau = 0,17 \text{ (témoins);}$$

$$\tau = 0,18 \text{ (despinalisés)}$$

Les régénérats n'atteignent pas, à la fin de l'expérience, la valeur de la partie amputée, ni en longueur, ni en volume, et ceci même sans avoir multiplié cette partie par les deux coefficients précédents.

Le taux de croissance en longueur des régénérats témoins (avec moelle) est: 0,116. Celui des régénérats sans moelle 0,063. Ce qui signifie que dans le premier cas le régénérat s'allonge en moyenne de 0,116 mm par jour et dans le second cas de 0,063 mm. L'absence de moelle freine donc la croissance en longueur de moitié environ.

Le taux de croissance de la surface des régénérats en projection latérale est: témoins 0,45 et despinalisés 0,23. Ceci signifie que cette surface, proportionnelle au volume, croît en moyenne de 0,45 mm<sup>2</sup> par jour pour les témoins et de 0,23 mm<sup>2</sup> par jour pour les despinalisés. La vitesse d'accroissement est réduite également de moitié après despinalisation.

*Conclusions.* Après amputation simple, ou après amputation et despinalisation du moignon, les larves de Salamandre présentent une régénération caudale. Dans les deux cas, malgré les différences internes considérables, les régénérats ont le même aspect extérieur. L'allure de leurs courbes de croissance en longueur ou en volume est également la même. Les valeurs citées montrent seulement un ralentissement de moitié environ pour les queues sans moelle.

Les régénérats caudaux despinalisés se rapprochent, par leur morphologie externe et leur structure, des organes caudiformes obtenus par l'école de GUYÉNOT après excitation à la croissance du territoire queue<sup>6</sup>. D'autre part, des queues hypotypiques analogues ont été observées chez les têtards d'Anoures après traitement aux substances antimitotiques<sup>7</sup>.

La nature caudale de ces formations est hors de doute. Quant à leur origine et leur signification, deux hypothèses sont à envisager. Selon la première, ce sont des queues incomplètes, par manque d'innervation adéquate. Elles ne sont pas totalement dépourvues de fibres nerveuses, – nos observations histologiques en font foi, – mais seule la moelle épinière semble capable d'y induire un axe squelettique et musculaire et de former une véritable queue. Le problème donc, se ramène à une insuffisance quantitative (nombre de fibres nerveuses) ou qualitative (système périphérique ou central) de l'inducteur.

La seconde hypothèse considère le territoire «queue» des Urodèles comme divisé en deux zones ayant des potentialités morphogénétiques différentes: une zone périphérique, ou nageoire, produisant dans tous les cas, des téguments épithélio-conjonctifs, à allongement limité, et une zone centrale, régénérant, sous l'impulsion de la moelle épinière, les parties axiales. D'ailleurs, ces deux hypothèses sont loin d'être inconciliables.

Les auteurs remercient leurs maîtres, MM. les professeurs E. GUYÉNOT et A. LINDER pour leurs conseils.

V. KIORTSIS, V. UEHLLINGER et A. DROIN

*Institut de Zoologie et d'Anatomie comparée et Laboratoire de Statistique mathématique de l'Université de Genève, le 8 avril 1959.*

#### Summary

Tail regeneration in the absence of spinal cord was studied quantitatively in larval salamanders. Growth

<sup>5</sup> E. GUYÉNOT et O. SCHOTTE, C. R. Soc. Biol. 94, 1050 (1926).

<sup>7</sup> F. E. LEHMANN, W. BERNHARD, H. HADORN et M. LÜSCHER, Exper. 1, 232 (1945).

<sup>6</sup> C. R. RAO, *Advanced Statistical Methods in Biometric Research* (New York 1952), p. 86.

parameters were calculated according to the function  $\tau = 1/n \sum y_i/x_i$  (RAO).

The regeneration rate of despinalized tails was found to be approximatively half the normal rate in both the length and volume.

The real nature of despinalized tail regenerates is discussed and two hypotheses are proposed for their explanation.

Effects of Stable Calcium and Strontium on Deposition of Calcium-45 and Strontium-89 in Bone

In order to minimize skeletal deposition and retention of radiocalcium and radiostrontium, dilution with their non-radioactive isotopes has been proposed<sup>1</sup>. High dietary levels of non-radioactive calcium depressed absorption of radiocalcium from the gastrointestinal tract<sup>2</sup>, but had little effect on bone deposition of radiocalcium or radiostrontium<sup>3</sup>. More recent studies<sup>4,5</sup> have markedly demonstrated that sustained feeding of non-radioactive dietary calcium supplements is accompanied by definite reductions in bone deposition of radiocalcium and radiostrontium. The investigation here reported measured effects of single administration of stable calcium and strontium carrier on deposition of radiocalcium (Ca<sup>45</sup>) or radiostrontium (Sr<sup>89</sup>) in bone.

**Material and Methods.**—480 randomly selected young adult female Sprague-Dawley rats (232 ± 32 g weight) received by intraperitoneal injection or by oral administration 0.25 to 1 ml of aqueous solutions of 10 µc of either Ca<sup>45</sup> or Sr<sup>89</sup> mixed with non-radioactive calcium or strontium chlorides at about pH 4. Without added salt the Ca<sup>45</sup> contained 14 to 130 µg Ca per µc Ca<sup>45</sup>, and the Sr<sup>89</sup> was carrier-free. Six rats comprised each group given the mixtures of isotopes at dosages which ranged from 3.6 to 3,000 µg Ca/g rat body weight, and from 0 to 1,300 µg Sr/g rat body weight.

The animals were starved for 24 h before radioisotope administration. They were maintained on a standard stock diet during the experimental periods, which amounted to one day for intraperitoneal treatment, and 1–5 days for oral treatment. These differences in the experimental periods after oral treatment had no perceptible effects on the resulting distributions of the radioisotopes, as shown both by direct inspection and by statistical evaluation. The animals were killed by ether anesthesia. The femurs were removed and ashed. Concentrations of Ca<sup>45</sup> or Sr<sup>89</sup> in suitable aliquots of the ashed samples were measured and corrected for self-absorption and decay. The concentrations of the radioisotopes in the samples were compared to those of 'standards' prepared from aliquots of the original injection solutions.

**Results.**—The data for deposition of Ca<sup>45</sup> and Sr<sup>89</sup> in femur are summarized in Tables I and II. *Table I*: Intraperitoneal Ca<sup>45</sup> and Sr<sup>89</sup>: Ca<sup>++</sup> or Sr<sup>++</sup> added. Deposition

Table I  
Average deposition of Ca<sup>45</sup> and Sr<sup>89</sup> in femur following intraperitoneal administration with added stable calcium or strontium<sup>a</sup>

Radioisotope	% administered radioisotope/femur ± 95% confidence range <sup>b</sup>	
	Ca <sup>++</sup> added	Sr <sup>++</sup> added
Ca <sup>45</sup> . . . . .	2.71 ± 0.17	2.94 ± 0.38
Sr <sup>89</sup> . . . . .	2.85 ± 0.58	1.89 ± 0.34*

<sup>a</sup> Quantities of added calcium administered ranged up to 155 µg/g body weight. Quantities of added strontium administered ranged up to 375 µg/g body weight.

<sup>b</sup> The 95% confidence interval estimates are based on sample range of mean effect.

\* Reduction in deposition compared to Sr<sup>89</sup>-Ca combination statistically significant, with  $p < 0.01$ .

of Ca<sup>45</sup> and Sr<sup>89</sup> in femur did not vary appreciably with differences in concentrations of stable calcium or strontium administered, and the averages for each isotope and time were associated with relatively small of variability. When stable strontium was injected deposition of Sr<sup>89</sup> was reduced at each dosage concentration an average of

Table II  
Deposition of Ca<sup>45</sup> and Sr<sup>89</sup> in femur following oral administration with added stable calcium or strontium

Radio-isotope	Ca <sup>++</sup> added	Deposition	95% Confidence range <sup>a</sup>	Sr <sup>++</sup> added	Deposition	95% Confidence range <sup>a</sup>
	µg/gbody wt.	%/femur		µg/gbody wt.	%/femur	
Ca <sup>45</sup>	129	0.55	0.07	50.2	2.55	0.57
	416	0.58	0.10	125	3.03	0.60
	648	0.77	0.28	200	2.92	0.25
	834	1.10	0.23	308	3.12	0.39
	1019	1.41	0.69	404	3.69	0.42
				510	3.80	0.32
				649	4.87	0.86
				729	4.51	0.93
				800	5.27	0.87
				942	5.24	1.21
Sr <sup>89</sup>	0	0.54	0.24	0	0.54	0.24
	16.2	0.28	0.11	55.5	0.73	0.25
	31.3	0.40	0.09	129	0.46	0.17
	63.8	0.34	0.11	202	0.52	0.02
	103	0.40	0.10	327	0.54	0.10
	160	0.58	0.19	447	0.53	0.16
	183	0.44	0.13	563	0.55	0.18
	245	0.73	0.22	660	0.72	0.32
	259	0.94	0.27	754	0.52	0.21
	311	0.81	0.81	1060	0.77	0.16
				1263	0.81	0.55

<sup>a</sup> The 95% confidence interval estimates are based on sample range of mean effect.

<sup>1</sup> D. H. COPP, D. J. AXELROD, and J. G. HAMILTON, *Amer. J. Roentgenol.* 58, 10 (1947).

<sup>2</sup> H. E. HARRISON and H. C. HARRISON, *J. Biol. Chem.* 188, 83 (1951).

<sup>3</sup> *Relative uptake of Ca-45 and Sr-89 as influenced by method of administration and calcium intake*, ORO-150, p. 21 (1956).

<sup>4</sup> R. F. PALMER, R. C. THOMPSON, and H. A. KORNBERG, *Science* 127, 1505 (1958).

<sup>5</sup> R. F. PALMER, R. C. THOMPSON, and H. A. KORNBERG, *Science* 128, 1505 (1958).

about 30% compared to the average value obtained when stable calcium was administered with Sr<sup>89</sup>. This difference was statistically significant, with  $p < 0.01$ , and contrasts with lack of effect of both stable calcium and strontium on Ca<sup>45</sup> deposition. *Table II*: Intragastric Ca<sup>45</sup> and Sr<sup>89</sup>: Ca<sup>++</sup> or Sr<sup>++</sup> added. Following oral administration values for Ca<sup>45</sup> and Sr<sup>89</sup> femur deposition showed an apparent positive dependence of deposition on inert carrier concentration. With the exception of the Ca<sup>45</sup>-Sr<sup>++</sup> series, the