

diploid size, but twice as numerous. While haploid cells at this stage presumably contain half the diploid content of DNA and RNA, normal total levels per embryo are maintained by its increased number of cells. After undergoing the additional division, haploid cells apparently divide at the same rate as diploids, at least until neurula stages are reached. During this period, the S phase of DNA synthesis occupies similar positions in the cell cycle and lasts as long in haploid cells as it does in diploid cells¹¹.

The period at which haploid and diploid nucleic acid content becomes dissimilar coincides with one of increasing abnormality for haploid embryos. The increased cell number of earlier haploids is apparently superceded by incomplete differentiation in certain tissues. Mitosis in forebrain and pronephros is similar in both haploids and diploids, but in liver and cartilage the mitotic index is greatly diminished¹². Both nervous tissue and the notochord of haploid embryos have larger numbers of cells than diploids, but the cell number is reduced in muscle, the circulatory system and the gut¹³.

Clearly, the abnormal development of haploid embryos is accompanied by a reduction in the net synthesis of both DNA and RNA. The role of nucleic acid metabolism, however, in the development of the haploid syndrome is uncertain. The first visible sign of haploid abnormality is the retardation of gastrulation. Because differences between haploids and diploids in DNA and RNA content are not detectable for several hours after gastrulation, a direct causal relationship between nucleic acid synthesis and the syndrome may be precluded¹⁴.

Résumé. Une méthode micro-biochimique a été utilisée pour comparer les quantités d'ADN et ARN contenues dans des embryons en développement haploïdes et diploïdes de la grenouille, *Rana pipiens*. Le contenu d'ADN des embryons haploïdes a été réduit au stade de la queue bourgeonnante, et leur contenu d'ARN au stade de l'éclosion. Puisque les irrégularités morphologiques caractéristiques des embryons haploïdes apparaissent beaucoup plus tôt dans le développement, une relation directe et causale entre la réduction observée de la production nette de l'acide nucléique et le syndrome haploïde n'est pas probable.

F. C. GREENSLADE¹⁵

Tulane University, New Orleans (Louisiana, USA),
22 May 1967.

¹¹ C. F. GRAHAM, *Expl Cell Res.* 43, 13 (1965).

¹² B. C. MOORE, *Chromosoma* 4, 563 (1952).

¹³ K. PORTER, *Biol. Bull. mar. biol. Lab.*, Woods Hole 77, 233 (1939).

¹⁴ Acknowledgment. This work was done in partial fulfillment of the degree of Doctor of Philosophy at Tulane University; and was supported by the U.S. Public Health Service training grant No. 28655 and a grant-in-aid from the Society of Sigma Xi.

¹⁵ Present address: Division of Biological and Medical Research, Argonne National Laboratory, 9700 South Cass Avenue, Argonne (Illinois 60440, USA).

Action de la capsicine sur la multiplication et la virulence de l'*Agrobacterium tumefaciens*

En 1961, nous avons établi qu'en soumettant des cultures bien développées de leptospires à l'action de la capsicine¹ pendant 6 h dans le milieu de KORTHOFF dans la proportion de 0.0025% dans 5 ml de culture, il se produit un très fort accroissement du pouvoir de multiplication des leptospires de tous les sérotypes. Cet accroissement atteint dès la 18^e h de l'action des quantités de leptospires telles qu'on n'en obtient dans des conditions ordinaires que vers le 10^e jour. En outre, les leptospires soumis à l'effet de la capsicine accusent un accroissement de leur pouvoir antigène par rapport aux leptospires normaux, qui est de l'ordre d'environ 60%²⁻⁴. Au cours d'un autre essai, effectué en 1964 avec de la capsicine sur le *Mycoplasma agalactiae*, nous avons obtenu des modifications morphologiques des colonies du microorganisme et une légère modification de sa virulence⁵.

Nous avons continué nos études dans ce sens et entrepris d'autres recherches, cette fois-ci sur l'*Agrobacterium tumefaciens*.

Dans 3 cultures bien développées et virulentes d'*A. tumefaciens* en milieu liquide de pommes de terre, en quantité de 5 ml chacune, nous avons placé respectivement 0.0025, 0.005 et 0.01 g de capsicine, puis laissé les tubes dans l'étuve à 30°C pendant 6 h. Passé le délai de 6 h, on a repiqué dans un autre tube contenant le même milieu stérile, séparément, 2 gouttes de culture, aussi bien de celle ayant été soumise à l'action de la capsicine que celle de la culture normale et développées simultanément.

Après 48 h à l'étuve à 30°C on a constaté que dans les nouvelles cultures de repiquage provenant de 3 cultures soumises à des quantités différentes de capsicine, la multiplication des bactéries est plus abondante que chez les témoins aussi repiqués. Il est à remarquer en outre, que lors du premier repiquage en milieu stérile des cultures soumises à l'action de la capsicine, environ le 20% des bactéries pendant les 6 h meurent sous l'influence de la capsicine. Cela signifie que la quantité de bactéries des 2 gouttes de culture traitée est plus petite que celle des 2 gouttes de culture normale. Pour obtenir des données encore plus précises, on a semencé dans 5 boîtes gélose nutritive à base de pomme de terre une culture soumise à l'action de la capsicine et dans 5 autres une culture normale, en partant de repiquages correspondants d'un milieu stérile, après, bien entendu, une égalisation quantitative des bactéries dans les repiquages mêmes.

L'examen des résultats, effectué après un séjour des boîtes de géloseensemencées et tenues à 30°C a permis d'établir que dans la culture soumise à l'action de la capsicine il y avait dès la 24^e h une multiplication abon-

¹ Par capsicine on entend l'extrait total du fruit des piments rouges (*Capsicum annuum* L.) qui ont un goût âpre et qui, avec d'autres composants, contiennent aussi l'alcaloïde de même goût — la capsaïcine. La capsaïcine est l'alcaloïde chimiquement pur.

² I. KUJUMGIEV, *Izv. mikrobiol. Inst.*, Sof. 13, 5 (1962).

³ I. KUJUMGIEV, *Zentbl. Bakt. Parasitk., Abt. I.* 185, 230 (1962).

⁴ I. KUJUMGIEV, *Izv. mikrobiol. Inst.*, Sof. 16, 41 (1964).

⁵ I. KUJUMGIEV, *C. r. Acad. bulg. Sci.* 18, 79 (1965).

dante exprimée par la formation de 98 colonies qui, vers la 72^e h ont commencé à se mêler formant une couche à la surface de la gélose, alors que chez les cultures normales un tel développement sur la gélose n'est apparu qu'au bout de 48 h, d'ailleurs assez réduit – environ 16 colonies dont le fusionnement n'a commencé qu'après le 6^e jour. Les jours suivants la surface de la géloseensemencée de bactéries soumises à l'action de la capsicine s'est recouverte d'une couche caractéristique pour la croissance du *A. tumefaciens*, et dans les cultures normales, seulement après 10 jours.

Il convient de relever que cette nouvelle propriété ainsi obtenue s'est conservée aussi dans les générations suivantes.

Nous avons effectué des recherches aussi sur la virulence des cultures, tant des unes, que des autres. Nous avons utilisé la réaction de BERNAERTS et DE LEY⁶ pour la détection du 3 céto-lactose. Cette réaction a montré que

la culture traitée par la capsicine possède une virulence plus grande que la normale.

Summary. It was established that the treatment of liquid cultures of *Agrobacterium tumefaciens* with capsicine (in doses of 0.0025–0.01) in the course of 6 h, causes a more abundant and quicker multiplication of the microorganism and an increase of its virulence, as measured by the method of BERNAERTS and DE LEY.

I. KUJUMGIEV

Institut de Microbiologie, Académie bulgare des sciences, Sofia (13) (Bulgarie), 24 avril 1967.

⁶ M. J. BERNAERTS and J. DE LEY, *Nature* 197, 406 (1963).

Experiments on the Respiration of the Trigger Fish (*Balistes capriscus*)

Although several authors (WILLEM^{1,2}, BERTIN³) have recognized that the Plectognathi have special problems in relation to their respiratory movements, relatively little experimental work has been carried out on this group of fishes. The possession of a markedly ossified skin confers rigidity and makes the body relatively indeformable and contrasts with the flexibility so characteristic of the locomotory and respiratory movements of other fishes. Largely on the basis of morphological studies, WILLEM² suggested that changes in volume of the buccal and opercular cavities mainly take place in a dorso-ventral direction as a result of movements of the branchiostegial apparatus in a lymphatic space beneath the skin. He considered that lateral movements of the palatal arch and operculum play a relatively minor role.

A preliminary study of gill ventilation in *Balistes capriscus* has been made by recording pressure changes in the buccal and opercular cavities of unanaesthetized fish by means of cannulae inserted dorsally through the nasal region and laterally through the operculum. Lateral expansion of the opercular region was found to be quite definite in this fish and its time course was recorded by means of an impedance pneumograph (HOGGARTH and TRUEMAN⁴) simultaneously with the pressure changes. These recordings have indicated that gill ventilation in this fish is achieved by the combined action of a buccal force pump and opercular suction pumps, as is typical of other groups of fishes (HUGHES⁵).

Specialized features of *Balistes* such as the stiffened skin with little mucous and the small mouth which scarcely moves during ventilation, suggested a new way of measuring the ventilation volume of a fish (Figure). A finger cut from a rubber glove was fixed round the mouth by means of Braun Histocoll T100B cement. Water was fed to the mouth from a plastic cone which floated at the surface of the water. The rate at which water was supplied was adjusted so that the level within the cone remained constant and the same as that in the aquarium. The flow rate was measured when a steady state had been reached. *Balistes* proved to be an ideal animal for this type of experiment as when confined in a small part of an

aquarium, it often remains stationary by means of the combined action of its fins. Samples of water drawn from the opercular cavity were used to measure the pO₂ of the expired water by means of an Eschweiler oxygen electrode.

The results of measurements made on three specimens are given in the Table and show % utilizations of oxygen as high as 92% and resting oxygen consumption of 55–75 cm³/kg/h. A number of different ventilation patterns, including unilateral ventilation as previously observed in another species (HUGHES and SHELTON⁶) were recorded and these will be discussed later.

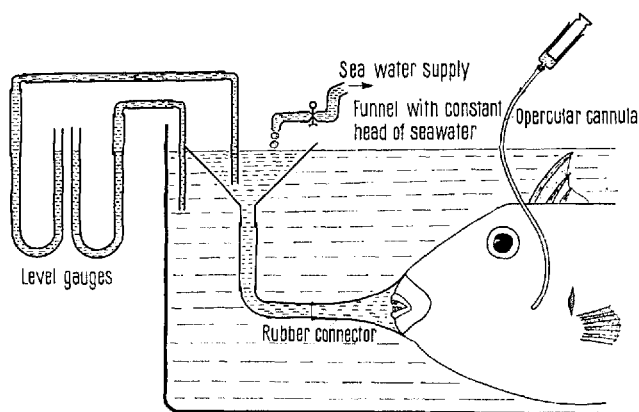


Diagram to show experimental arrangement used to measure ventilation volume and for sampling opercular water.

¹ V. WILLEM, *Bull. Mus. r. Hist. nat. Belg.* 78, 35, 1 (1942).

² V. WILLEM, *Bull. Mus. r. Hist. nat. Belg.* 23, 29, 1 (1947).

³ L. BERTIN, *Traité de Zoologie* (Ed. P. P. Grassé; Masson et Cie., Paris 1958) vol. 13, p. 1303.

⁴ K. R. HOGGARTH and E. R. TRUEMAN, *Nature*, Lond. 213, 1050 (1967).

⁵ G. M. HUGHES, *J. exp. Biol.* 37, 28 (1960).

⁶ G. M. HUGHES and G. SHELTON, in *Advances in Comparative Physiology and Biochemistry* (Ed. O. LOWENSTEIN; Academic Press, New York and London 1962), vol. 1, p. 275.