

*moratus*, whose mitotic and lampbrush karyotypes have been recently defined<sup>12, 15, 16</sup>.

**Riassunto.** Sono stati studiati i «lampbrush chromosomes» di mutanti semi-albini di *Triturus cristatus carnifex*. Il rilevamento degli organizzatori nucleolari ha per-

<sup>15</sup> I. NARDI and G. MANCINO, Experientia 27, 424 (1971).

<sup>16</sup> G. MANCINO and I. NARDI, Experientia 27, 821 (1971).

messo il completamento delle mappe cromosomiche della specie.

G. MANCINO, IRMA NARDI and MATILDE RAGGIANTI

Cattedra di Istologia e Embriologia,  
Istituto di Zoologia e Anatomia Comparata  
dell'Università, Via Volta 4, Pisa (Italy),  
7 February 1972.

## Der Mitosezyklus im diploiden und triploiden Wurzelmeristem von *Scilla sibirica*

Die Dauer des Mitosezyklus und seiner Abschnitte im meristematischen Gewebe der Wurzelspitze ist bei einigen Pflanzenarten, die von cytologischem Interesse sind, bestimmt worden (z.B. *Tradescantia paludosa*<sup>1</sup>, *Vicia faba*<sup>2</sup>, *Trillium grandiflorum*<sup>3</sup>, *Haplopappus gracilis*<sup>4</sup>, *Allium cepa*<sup>5</sup> und *Trillium erectum*<sup>6</sup>). *Scilla sibirica*, dem Cytologen bekannt vor allem durch die Untersuchungen von LA COUR und RUTISHAUSER<sup>7</sup> über die Existenz von Subchromatiden, verdient besondere Aufmerksamkeit, weil diese Spezies die Vorteile grosser, in der Regel unterscheidbarer Chromosomen und markanter Chromozentren aufweist. Kürzlich ist gezeigt worden, dass auch hier, wie bei vielen anderen Objekten, die DNS des Heterochromatins am Ende der S-Phase synthetisiert wird. Die spät-replizierenden chromosomal Segmente sind identisch mit den Kältezonen, die bei dieser Art durch extreme Kältebehandlung induziert werden können<sup>8</sup>.

Bekanntlich bestehen keine Unterschiede in der DNS-Synthesedauer zwischen diploiden Pflanzen und ihren autotetraploiden Formen<sup>9, 10</sup>. Aufgabe dieser Mitteilung ist es, über den Mitosezyklus von *Scilla sibirica* ( $2n$ ) zu berichten und gleichzeitig darzulegen, ob die Anwesenheit eines zusätzlichen Chromosomensatzes ( $3n$ ) zu einer Veränderung des Zyklus und seiner einzelnen Phasen führt.

**Material und Methoden.** Als Versuchsstoff dienten diploide ( $2n = 12$ ) und triploide ( $3n = 18$ ) Zwiebeln («Spring Beauty»), die im Handel lediglich während des Herbstes im nicht ausgetriebenen Zustand erhältlich sind. Die damit verbundene Abhängigkeit der Versuchsplanung von der Jahreszeit kann grossenteils verhindert werden, indem man die Zwiebeln eine Viertelstunde lang in einer 0,2 prozentigen 8-Hydroxychinolinsulfat-Lösung desinfiziert und anschliessend trocken in steriles Sägemehl bei

0°C aufbewahrt. So ist eine Lagerung während knapp eines Jahres möglich. Die Anzucht der Wurzeln geschah wie bereits früher berichtet<sup>8</sup>.

Nach einer zweistündigen Fütterung der Pflanzen mit methylmarkiertem  $^3\text{H}$ -TdR (2  $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ , 18600 mCi/mM, Radiochemical Centre, Amersham) wurden in Abständen von zwei und mehr Stunden Wurzeln abgeschnitten und direkt in Methanol/Eisessig (3:1) während 30 min fixiert. Zwecks Überprüfung der chromosomal Markierungsmuster geschah die Fixation bei einigen Erholungszeiten zusätzlich erst nach Vorbehandlung mit Colchicin (0,05% in Leitungswasser, 2 h). Die weitere Verarbeitung der Wurzeln erfolgte mit Hilfe der Feulgen-Quetschmethode und anschliessender Autoradiographie (Stripping Film, Kodak AR 10). Für das cytologische Präparat wurde jeweils nur eine etwa 0,5 mm lange, stark gefärbte Meristemzone gequetscht, nachdem die Wurzelhaube an Filterpapier abgestreift worden war. Für die Bestimmung des Mitosezyklus wurden einerseits zwei Wurzeln einer diploiden Pflanze pro Erholungszeit verwendet, während an-

<sup>1</sup> D. E. WIMBER, Am. J. Bot. 47, 828 (1960).

<sup>2</sup> H. J. EVANS and D. SCOTT, Genetics 49, 17 (1964).

<sup>3</sup> C. J. GRANT, Mutation Res. 2, 247 (1965).

<sup>4</sup> E. SPARVOL, H. GAY and B. P. KAUFMANN, Caryologia 19, 65 (1966).

<sup>5</sup> R. MATAGNE, Caryologia 27, 209 (1968).

<sup>6</sup> E. R. BOOTHROYD and N. MACDONALD MARK, Can. J. Genet. Cytol. 12, 750 (1970).

<sup>7</sup> L. F. LA COUR and A. RUTISHAUSER, Chromosoma 6, 696 (1954).

<sup>8</sup> T. W. BAUMANN, Expl Cell Research 64, 323 (1971).

<sup>9</sup> M. R. TROY and D. E. WIMBER, Expl Cell Research 53, 145 (1968).

<sup>10</sup> D.-P. YANG and E. O. DODSON, Chromosoma 31, 309 (1970).

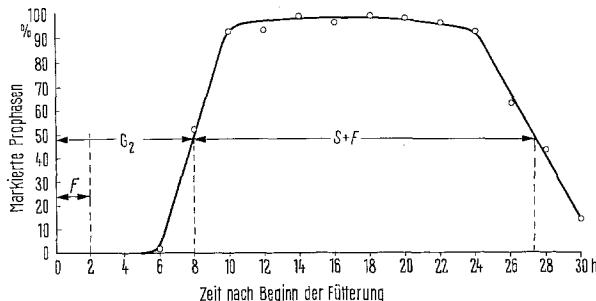


Fig. 1. Markierungsindex-Zeit-Diagramm, *Scilla sibirica*  $2n = 12$ . Temperatur 23°C. F, Fütterungszeit;  $G_2$ , postsynthetische Interphase; S, DNS-Synthesephase.

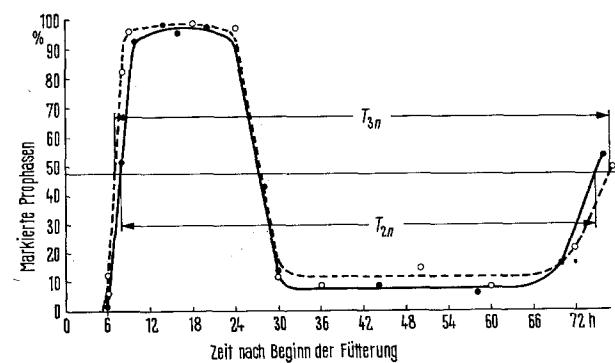


Fig. 2. Mitosezyklus und Ploidiegrad.  $T_{2n}$  bezeichnet die Zyklusdauer im diploiden,  $T_{3n}$  diejenige im triploiden Meristem. Temp. 23°C.

dererseits von zwei triploiden Pflanzen je eine Wurzel präpariert wurde. Sofern nicht anders vermerkt, basieren die angegebenen Werte auf der Analyse des ganzen Präparates. Zur Berechnung des Mitosezyklus und seiner Phasen wurden die Methoden von QUASTLER und SHERMAN<sup>11</sup> und WIMBER<sup>1</sup> benutzt.

**Resultate und Diskussion.** Figur 1 zeigt die Prozentsätze markierter Prophasen zu verschiedenen Zeiten nach der Fütterung einer diploiden Pflanze mit tritiertem Thymidin. Die eingetragenen Werte sind Mittelwerte aus je zwei Wurzeln. Der <sup>3</sup>H-Index (Prozentsatz aller markierten Zellen) wurde unmittelbar nach der Fütterung an vier Wurzeln bestimmt und beträgt  $27,0 \pm 1,4\%$ . Folgende Werte können von dieser graphischen Darstellung abgelesen werden: Die durchschnittliche Dauer von  $G_1$  (post-synthetische Interphase) ist 8 h, die Summe aus DNS-Synthesephase ( $S$ ) und Fütterungszeit ( $F$ ) 19,3 h. Werden vom letzten Betrag 2 h für die Fütterungszeit abgezogen, so verbleiben rund 17,5 h für die DNS-Synthese. Aus der Gleichung  ${}^3H\text{-Index} = [S+F]/T$  kann die Dauer des ganzen Mitosezyklus ( $T$ ) ungefähr ermittelt werden. Sie beträgt  $71,5 \pm 3,5$  h.

In Figur 2 werden diploides und triploides Meristem miteinander verglichen.  $T_{2n}$  ist 67,2 h, während  $T_{3n}$  70,0 h beträgt. Der <sup>3</sup>H-Index hat im triploiden Meristem nach der Fütterung den Wert von  $28,8 \pm 1,8\%$ . Aus der Abbildung geht hervor – unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die angewendete Methode relativ ungenau ist –, dass keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf Zyklusdauer und einzelne Phasenlängen zwischen diesen Pflanzen verschiedenen Ploidiegrades vorhanden sind.

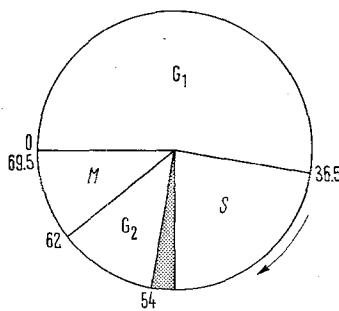


Fig.3. Kreissektorschema des Mitosezyklus von *Scilla sibirica*  $2n=12$ . Abkürzungen siehe Text.

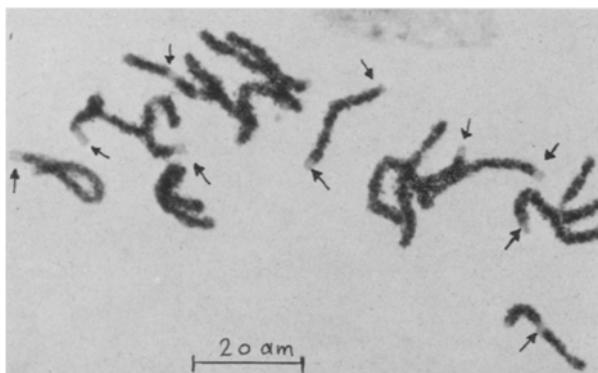


Fig. 4. Ausschnitt aus einer triploiden Metaphase. Die Pfeile weisen auf die unmarkierten, heterochromatischen Chromosomensegmente hin. Erholungszeit 14 h.

Figur 3 gibt eine zusammenfassende Darstellung des Teilungszyklus und seiner Phasen. Für das Verständnis des Schemas sind folgende Punkte wichtig: a) Die eingetragene Dauer des Mitosezyklus von 69,5 h ist das Mittel der Werte, die aus den Abbildungen 1 und 2 erhalten wurden. b) Die Mitosedauer ( $M$ ) von 7,5 h ergibt sich aus der Proportion  $MI/100 = M/69,5$  ( $MI$  = Mitoseindex, 10,8%). c)  $G_2$  hat die Länge von 8 h, d) Die  $S$ -Phase beansprucht durchschnittlich 17,5 h. Die DNS im Heterochromatin repliziert während der letzten 2 Stunden der Synthesephase, ermittelt einerseits durch den Prozentsatz an Kernen mit starker Markierung über dem Heterochromatin (12%) und andererseits durch die Zeitspanne, während der markierte heterochromatische Chromosomensegmente beobachtet werden können. e) Die Länge der präsynthetischen Interphase  $G_1$  (36,5 h) ist die Differenz aus Mistosezyklusdauer und dem Total der übrigen Abschnitte.

Nach Fütterung mit tritiertem Thymidin kann es zu einem Abfall des Mitoseindex und zu chromosomal Strukturveränderungen kommen<sup>12,13</sup>. Bei den in dieser Arbeit beschriebenen Fütterungsbedingungen konnten nur vereinzelt Chromosomenaberrationen festgestellt werden. Der Mitoseindex variierte während der gesamten Versuchsdauer innerhalb enger Grenzen ( $\pm 0,3\%$ , 1000 Zellen pro Präparat ausgezählt). Es ist deshalb nicht erstaunlich, dass der Prozentsatz an markierten Prophasen beinahe den theoretischen Wert von 100 erreicht (Figur 2). Zellpopulationen mit verschiedener Zyklusdauer im gleichen Meristem, wie etwa von BOOTHROYD und MACDONALD MARK<sup>6</sup> bei *Trillium* gefunden, konnten nicht beobachtet werden.

Aufgrund der offensichtlich geordneten, asynchronen Replikation der DNS innerhalb des Chromosoms einerseits<sup>14-16</sup> und der Tatsache andererseits, dass homologe Chromosomen im allgemeinen ähnliche Replikationsmuster aufweisen<sup>17</sup>, kann erklärt werden, weshalb zusätzliche Chromosomensätze zu keiner Verlängerung der  $S$ -Phase führen (Figur 4). Auch die totale Mitosezyklusdauer wird durch die Präsenz eines dritten Chromosomensatzes nicht verändert. Diese Beobachtung stimmt nicht überein mit den Resultaten von GIMÉNEZ-MARTIN et al.<sup>18</sup> Diese Autoren haben festgestellt, dass die Mitosezyklen diploider und durch Coffein induzierter, binukleärer und tetraploider Zellen in der Zwiebelwurzel 13,5 respektive 14,0 und 14,5 h dauern. Möglicherweise sind bei *Scilla sibirica* ebenfalls kleine Unterschiede vorhanden, die jedoch mit der hier verwendeten Technik nicht erfasst werden könnten<sup>19</sup>.

<sup>11</sup> H. QUASTLER and F. G. SHERMAN, Expl Cell Research 77, 420 (1959).

<sup>12</sup> D. E. WIMBER, Proc. natn. Acad. Sci. USA 45, 839 (1959).

<sup>13</sup> A. T. NATARAYAN, Expl Cell Research 22, 275 (1961).

<sup>14</sup> J. H. TAYLOR, Expl Cell Research 75, 350 (1958).

<sup>15</sup> W. SCHMID, Cytogenetics 2, 175 (1963).

<sup>16</sup> C. D. DARLINGTON and A. HAQUE, in *Chromosomes Today* (Eds. C. D. DARLINGTON and K. R. LEWIS; Oliver and Boyd, Edinburgh and London 1966), vol. 1, p. 102.

<sup>17</sup> T. C. HSU, W. SCHMID and E. STUBBLEFIELD, in *The Role of Chromosomes in Development* (Ed. M. LOCKE; Academic Press, New York 1964), p. 83.

<sup>18</sup> G. GIMÉNEZ-MARTIN, A. GONZALEZ-FERNANDEZ and J. F. LOPEZ-SAEZ, Expl Cell Research 43, 293 (1966).

<sup>19</sup> Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds unterstützt.

**Summary.** In meristematic root tip cells of *Scilla siberica* ( $2n = 12$  and  $3n = 18$ ) the following results were obtained with the aid of autoradiography: 1. The average duration of the mitotic cycle ( $2n = 12$ ) is 69.5 h. The  $G_1$ -phase lasts 36.5 h, the DNA synthetic phase 17.5 h, the

$G_2$ -phase 8 h and mitosis 7.5 h. 2. There are no marked differences in the lengths of the cell cycles nor in the duration of the various phases between diploid and triploid plants.

T. W. BAUMANN<sup>20</sup>

<sup>20</sup> Jetzige Adresse: University of Southern California, Allan Hancock Foundation, University Park, Los Angeles (California 90007, USA).

Institut für Allgemeine Botanik der Universität Zürich,  
Künstlergasse 16, CH-8006 Zürich (Schweiz),  
16 November 1971.

### Antarctic Seal Serum Proteins, Glycoproteins and Lipoproteins

In order to complete our investigations on Antarctic animals<sup>1-3</sup>, we have studied the serum proteins, lipoproteins, glycoproteins and total lipids of the Antarctic seal (*Leptonychotes weddelli*).

This report was carried out on the sera of seals captured in the Argentinian Antarctic Base Almirante Brown (Lat.  $64^{\circ} 52' S.$ , Long.  $62^{\circ} 53' W.$ ).

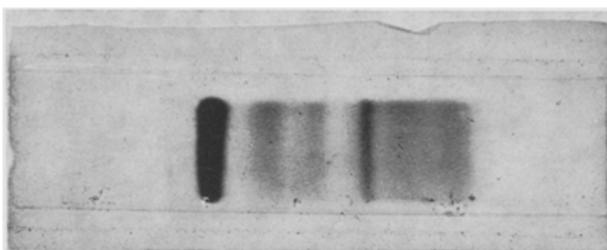
The sera of 20 animals were analyzed and the results shown in Tables I-III express their average.

The estimation of total proteins was made with the Folin-Ciocalteu phenol reagent. Fractioned serum proteins, glycoproteins and lipoproteins were determined by cellulose acetate electrophoresis<sup>4-10</sup> (Figure). Total lipids were determined by a method based on the sulfo-phosphovanillin reaction<sup>11</sup>.

The results shown in Tables I and II do not differ greatly from the normal values of the other mammalian

species, although lipids and lipoproteins (Table III) are increased.

This fact can be explained because these animals utilize lipids and lipoproteins as reserve material<sup>12</sup>.



Gel acetate electrophoresis of seal serum.

Table I. Proteins

	$\bar{x}$	2SD (g/100 ml)
Total proteins	7.07 ± 0.85	
Albumin	5.12 ± 0.68	
$\alpha_1$ globulins	0.20 ± 0.05	
$\alpha_2$ globulins	0.55 ± 0.14	
$\beta$ globulins	0.98 ± 0.25	
$\gamma$ globulins	0.85 ± 0.20	

The results express the average of 20 animals.

Table II. Glycoproteins

	$\bar{x}$	2SD
Total glycoproteins	12.1% ± 3.0 of the total proteins	
$\alpha$ glycoproteins	75.4% ± 9.5 of the glycoproteins	
$\beta$ glycoproteins	8.3% ± 1.9 of the glycoproteins	
$\gamma$ glycoproteins	17.5% ± 3.3 of the glycoproteins	

The results express the average of 20 animals.

Table III. Total lipids and lipoproteins

	$\bar{x}$	2SD
Total lipids	8.25 ± 0.11 mg/100 ml	
$\alpha$ lipoproteins	14.9% ± 4.3 of the total lipoproteins	
$\beta$ lipoproteins	85.1 ± 6.9 of the total lipoproteins	
$\beta/\alpha$ ratio	5.6 ± 0.5	

The results express the average of 20 animals.

**Résumé.** On a étudié les variations qualitatives et quantitatives des protéines sériques, lipoprotéines et glycoprotéines des phoques antarctiques, et on a trouvé que seulement les lipoprotéines et les lipides totaux sont augmentées par rapport à celles des autres mammifères.

R. A. MARGNI, SILVIA E. HAJOS and MARGARITA ROMERO MERCADO

University of Buenos Aires,  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry,  
Buenos Aires (Argentina), 6 December 1971.

<sup>1</sup> R. A. MARGNI and O. D. CASTRELOS, Contribución No 75. Instituto Antártico Argentino (Buenos Aires) (1963).

<sup>2</sup> R. A. MARGNI and O. D. CASTRELOS, *Quelques aspects de la bactériologie antarctique* (Eds. R. CORRICK, M. HOLDGATE and S. PREVOST; Ed. Herman, Paris 1964), p. 121.

<sup>3</sup> R. A. MARGNI, O. D. CASTRELOS and M. R. HERRERA, Contribución No 102. Instituto Antártico Argentino (Buenos Aires) (1967).

<sup>4</sup> O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, L. FARR and R. J. RANDALL, *J. biol. Chem.* 193, 265 (1951).

<sup>5</sup> E. O. ACERBO, R. A. MARGNI and E. E. HEER, *Archos Fund Roux-Ocefa.* 3, 91 (1969).

<sup>6</sup> R. A. MARGNI, E. O. ACERBO, E. E. HEER and S. E. HAJOS, *Clin. chim. Acta* 28, 451 (1970).

<sup>7</sup> R. A. MARGNI, E. E. HEER, E. O. ACERBO, S. E. HAJOS, M. BELIVEAU and M. E. C. DE BOBBI, *Clin. chim. Acta* 29 (1970), 219.

<sup>8</sup> M. PAGET and P. COUSTENOBLE, *Annu. Biol. clin.* 24, 181 (1966).

<sup>9</sup> B. COLFS and J. VERHEYDEN, *Clin. chim. Acta* 18, 325 (1967).

<sup>10</sup> E. E. HEER and R. A. MARGNI, *Electro e Immunolectroforesis* (G. Fernandez Editiones, Buenos Aires 1971).

<sup>11</sup> R. T. DUNN, 21st. Nat. Meet. Am. Assoc. clin. Chem. (1959).

<sup>12</sup> These investigations were developed with the cooperation of the Instituto Antártico Argentino.