

Moleküls führen zum Verlust dieses Potentials (Tabelle I). Entweder entsteht nach den folgenden Beispielen eine völlig andere Art der teratogenen Wirkung, oder das Derivat beeinträchtigt überhaupt nicht die vorgeburtliche Entwicklung:

N-Methylformamid erzeugt nur isolierte Gaumenspalten zusammen mit Cranialhypoplasien und mesenchymalen Hämorrhagien am Corpus. N-Methylformhydroxamsäure bewirkt Gehirn-, Schädel- und Extremitätenmissbildungen, beeinträchtigt aber in keinem Fall die Entwicklung des Kauschädels. Das Basismolekül Formamid wirkt überhaupt nicht teratogen und auch Formylglycin stört selbst in extrem hoher Dosierung (6 g/kg) die Embryonalentwicklung nicht.

Weitere Substanzen, auch Hydroxamsäuren, die nach Behandlung am 13. Tag der Gestation bei der Ratte typische LKG-Spalten erzeugen würden, sind in der Literatur und aus den eigenen Versuchen noch nicht bekannt. Die Frage steht noch offen, ob andere Hydroxamsäuren, in früheren Stadien appliziert, z.B. am 11. oder 12. Tag der Gestation LKG-Spalten erzeugen oder nicht. (Ventrales Krümmungsstadium des Keimes und Zeitpunkt des Nabelanschlusses und der Plazentation¹⁸.) In unseren Versuchen beeinträchtigten teratogene Dosen von Acethydroxamsäure nach Behandlung am 13. Tag der Gestation in keinem Fall die Entwicklung des Kauschädels, es entstanden lediglich Gehirn-, Gesichts- und Extremitätenmissbildungen. Auch Hydroxyharnstoff erzeugte nur Brachygnathien, Schädel- und Extremitätsdefekte, während LKG-Spalten nicht beobachtet wurden^{14, 18}. Weitere Untersuchungen zur Frage, wie weit andere Hydroxamsäuren und ihre Derivate in embryonalen Entwicklungsstadien der Ratte appliziert, LKG-Spaltenformen erzeugen, sind im Gange. Bis jetzt haben sich Hinweise ergeben, dass einige Vertreter dieser Verbindungsgruppe in frühen Stadien auch LKG-Spalten erzeugen können¹⁹.

Unsere Untersuchungen zeigen im Zusammenhang mit unseren gesamten bisherigen Kenntnissen, dass die Entstehung bestimmter Missbildungsformen, wie z.B. die LKG-Spalten, durch artspezifische Besonderheiten, vor allem durch den genetischen Hintergrund einer jeweiligen Art bedingt ist.

Beim Menschen liegt die kritische Etappe für die Entstehung von LKG-Spalten vom Anfang bis zur Mitte der Embryonalphase (25.–32. Tag), bei der Ratte am 12./13.

Tag und bei der Maus am 10./11. Tag der Gestation^{7, 11, 18}. Fehlt im Experiment mit Versuchstieren eine besondere genetische Praedisposition wie bei der Ratte, so erzeugen in den kritischen Phasen nur bestimmte, stark organotrop wirksame Teratogene LKG-Spaltenformen, die mit denen beim Menschen vergleichbar sind. Hierbei fiel uns die besondere Organotropie zweier Derivate der Formhydroxamsäure auf, die in den kritischen Stadien bei der Ratte bevorzugt LKG-Spalten bewirken können. Bei Hadacidin scheint die N-Acetylierung eine Transportform dieses Wirkmechanismus zu verwirklichen (vergl. DL₅₀ und teratogene Dosis in Tabelle I), während die N-Alkylierung diese Wirkungsart maskiert (Tabelle I). Für jeden Fall ergibt sich aus unseren Befunden unter Heranziehung der einschlägigen biochemischen Studien die Folgerung, dass bei Ratten die Entstehung von LKG-Spalten in Verbindung mit dem wahrscheinlichen Wirkmechanismus von Hadacidin – durch die Hemmung des Enzyms Adenylosuccinin – Synthetase^{12, 20} – eine Rolle spielen könnte. Weitere Untersuchungen zur Klärung dieses Mechanismus und auch zur Vergleichbarkeit der Entstehung von LKG-Spalten bei Mensch und Versuchstier sind in Gange.

Summary. Only formhydroxamic acid and its certain derivatives induce in rats cleft-lip and palate (CLP) after treatment during early embryonic developmental phase. Other hydroxamic acids and formamide-derivatives caused different malformations but no CLP. Also unknown in rats in the hereditary CLP. The possible causes of CLP in rats are compared with these in mice and men.

G. PFEIFER und Th. VON KREYBIG

Nordwestdeutsche Kieferklinik, Chirurgische Abteilung der Universitätsklinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten, Martinistrasse 52, D-2000 Hamburg 20 (Deutschland), 24. Juli 1972.

¹⁸ Th. VON KREYBIG, *Experimentelle Praenatal-Toxikologie*. (Cantor KG, Aulendorf/Württ. 1968).

¹⁹ G. PFEIFER, Th. VON KREYBIG und R. PREUSSMANN, in Vorbereitung.

²⁰ H. T. SHIGEURA und C. N. GORDON, *J. biol. Chem.* 273, 1937 (1962).

Chromosomes of *Spermophilus adocetus* (Mammalia; Sciuridae), with Comments on the Subgeneric Affinities of the Species¹

HOWELL² named the subgenus *Notocitellus* and placed within it the species *Spermophilus annulatus* (the type species) and *S. adocetus*. BRYANT³ relegated the name *Notocitellus* to the synonymy of *Otospermophilus*, which previously had included only rock squirrels of the species *S. arcticapillus*, *S. beecheyi*, and *S. variegatus*. Subsequently, the relationships of New World ground squirrels have been studied extensively by comparison of chromosomes (see NADLER⁴ and elsewhere) and immunological reactions of blood proteins⁵, but neither species earlier assigned to *Notocitellus* was included in these investigations.

A young male *Spermophilus adocetus adocetus*⁶ (Museum of Natural History, The University of Kansas, No. 120576) was obtained at Xalitla, Guerrero, Mexico, and karyotyped from bone marrow preparations as described by LEE⁷. The karyotype of this animal (Figure) consists of 32 chromosomes that can be divided into 7 pairs of metacentric and 8 pairs of submetacentric elements with a

large metacentric and a small acrocentric element remaining as the heteromorphic pair. The latter two elements are thought to be the X and Y chromosomes,

¹ Field work was supported in part by a grant (No. GB-4446x, administered by The Committee on Systematics and Evolutionary Biology at The University of Kansas) from the National Science Foundation. BIRNEY was supported in the field by a grant from the University of Kansas General Research Fund (Biomedical Division). R. J. BAKER, Texas Tech University, provided technical assistance and critically reviewed the manuscript, and A. CADENA, The University of Kansas, translated the summary.

² A. H. HOWELL, *N. Am. Fauna* 56, 1 (1938).

³ M. D. BRYANT, *Am. Midland Nat.* 33, 257 (1945).

⁴ C. F. NADLER, *Syst. Zool.* 15, 199 (1966).

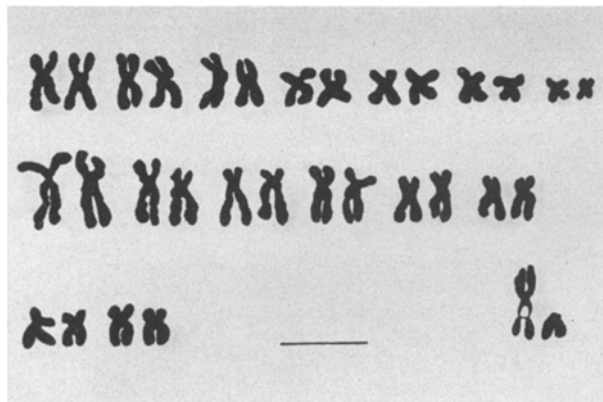
⁵ J. D. GERBER and E. C. BIRNEY, *Syst. Zool.* 17, 413 (1968).

⁶ T. ALVAREZ and J. RAMÍREZ-PULIDO, *Rev. Soc. Mexic. Hist. Nat.* 26, 181 (1968).

⁷ M. R. LEE, *Stain Tech.* 44, 155 (1969).

respectively, but because no females and only 1 male was examined, this identification is only tentative. The fundamental number of autosomal arms (FN) is 60.

Only 2 subgenera of ground squirrels include species that have a diploid number of 32 and an FN of 60. These are *Spermophilus (Ictidomys) spilosoma*, which also has 14 metacentric and 16 submetacentric autosomes⁸, *S. (Spermophilus) columbianus*, which has 18 metacentric and 12 submetacentric autosomes⁹, and *S. (Spermophilus) undulatus*, whose karyotype VORONTSOV and LYAPUNOVA¹⁰ described as similar to that of *S. columbianus*. *Spermophilus spilosoma* and *S. columbianus* have minute Y chromosomes, whereas this element is a larger acrocentric in *S. undulatus* and *S. adocetus*. Both species of otospermophiles, *S. beecheyi* and *S. variegatus*, that have been examined^{4,11} are characterized by a diploid number of 38, which consists of 22 metacentric autosomes, 14 submetacentric autosomes, a metacentric X chromosome, and an acrocentric Y chromosome. Therefore, the autosomal portion of the karyotype of *S. adocetus* is most like that of *S. spilosoma*, similar to that of *S. columbianus* and *S. undulatus*, but unlike that of members of the subgenus *Otospermophilus*. The Y chromosome of *S. adocetus* is similar to that of *Otospermophilus* and *S. undulatus* but dissimilar from that of *S. spilosoma* and *S. columbianus*. However, the other two species in the subgenus *Ictidomys* (*S. mexicanus* and *S. tridecemlineatus*) and many other species of the subgenus *Spermophilus* are characterized by acrocentric Y chromosomes^{8,9}.



Karyotype of a male *Spermophilus adocetus adocetus* from Xalitla, Guerrero. The line represents a scale 10 μ m in length.

Neither BRYANT³ nor BLACK¹² considered members of the subgenus *Otospermophilus* to be closely related to those of either *Spermophilus* or *Ictidomys* on the basis of morphological data and the fossil record, and we do not suggest that here. However, although BRYANT³ did not consider ground squirrels of the subgenera *Otospermophilus* and *Notocitellus* sufficiently different to warrant separate subgeneric recognition, we have found that the karyotype of *S. adocetus* is more like that of species within the subgenera *Ictidomys* and *Spermophilus* than like that of members of the subgenus *Otospermophilus*.

The interspecific relationships of *S. adocetus* should be reevaluated. BRYANT³ listed examples of *S. annulatus* in several sections of specimens examined, but nowhere can we find reference to specimens of *S. adocetus* that were included in his study. Perhaps *S. adocetus* is not closely related to *S. annulatus* and should be placed in the subgenus *Ictidomys*, or less likely in the subgenus *Spermophilus*, or possibly both species should be placed in one of these subgenera. Other possibilities that might explain the incongruities observed have occurred to us, but additional speculation without knowing the karyotype of *S. annulatus* would seem premature.

Resumen. En este trabajo se encontró que el cariotipo de *Spermophilus adocetus* está compuesto de 32 cromosomas que pueden dividirse en 14 autosomas metacéntricos, 16 autosomas submetacéntricos, un cromosoma X grande metacéntrico, y un cromosoma Y pequeño acrocéntrico. *Spermophilus adocetus* esta en la actualidad colocado en el subgénero *Otospermophilus* pero su cariotipo indica una relación con el subgénero *Ictidomys* o posiblemente con el subgénero *Spermophilus*.

E. C. BIRNEY and H. H. GENOWAYS

Bell Museum of Natural History, University of Minnesota, Minneapolis (Minnesota 55455, USA); and The Museum, Texas Tech University, Lubbock (Texas 79409, USA), 20 June 1972.

⁸ C. F. NADLER and C. E. HUGHES, J. Mammal. 47, 46 (1966).

⁹ C. F. NADLER, J. Mammal. 47, 579 (1966).

¹⁰ N. N. VORONTSOV and E. A. LYAPUNOVA, Dokl. biol. Sci. 187, 644 (1969).

¹¹ C. F. NADLER and D. A. SUTTON, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 110, 36 (1962).

¹² C. C. BLACK, Bull. Mus. comp. Zool., Harvard Univ. 130, 109 (1963).

The Localization of Water-Soluble Proteins in the Wheat Endosperm as Revealed by Fluorescent Antibody Techniques

Extraction experiments¹ and amino acid analyses² have suggested that a high proportion of the water-soluble, cytoplasmic, or non-gluten-forming proteins are associated with the starch granules in the mature wheat endosperm cell. The in situ demonstration of the distribution of this group of proteins is of interest and possible importance in relation to the vitreosity and milling properties of the grain. We now report the successful application of fluorescent antibody techniques^{3,4} to this problem.

Antisera were prepared by injection of dialyzed and freeze-dried aqueous buffer extracts (pyrophosphate, 0.01M; pH 7.0) of wheat flour (cv. Timgalen) into New

Zealand white rabbits⁵. The primary immunizing dose (10 mg) was emulsified with Freund's complete adjuvant and given i.m., while boosting doses (10 mg) in buffered saline (0.02M phosphate buffer, 0.15M NaCl, pH 7.2)

¹ R. W. JONES and R. J. DIMLER, Cereal Chem. 39, 336 (1962).

² D. J. STEVENS, E. E. McDERMOTT and J. PACE, J. Sci. Fd. Agric. 14, 284 (1963).

³ A. H. COONS, H. J. CREECH, R. N. JONES and E. BERLINER, J. Immun. 45, 159 (1942).

⁴ R. C. NAIRN, *Fluorescent Protein Tracing* (E. and S. Livingstone Ltd., Edinburgh, London 1969), 3rd Ed.

⁵ P. G. H. GELL and R. R. A. COOMBS *Clinical Aspects of Immunology* (Blackwell, Oxford 1963).