

Recherches sur les greffes de méristèmes de *Pisum*

Il est possible de greffer le point végétatif apical de *Pisum* sur un méristème radiculaire cultivé isolément dans un milieu synthétique stérile. La plante ainsi reconstituée reste en vie durant 3 semaines environ¹. Nous avons admis qu'une incompatibilité se manifeste entre les deux partenaires dont le passé physiologique est différent. La pointe de racine a été isolée très tôt de la graine en germination tandis que le point végétatif de la plumule est resté en contact avec la plantule, bénéficiant des substances diverses fournies par les cotylédons.

Il convenait de compléter ces expériences par des greffes entre deux organes cultivés chacun séparément, à l'état embryonnaire.

Les méristèmes radiculaires de *Pisum* (sorte Mai-königin) se sont développés dans le milieu liquide de BONNER avec vitamine B₁. Les embryons, séparés très tôt des cotylédons, ont été cultivés sur un milieu gélosé de la composition suivante:

Eau	1000 cm ³	tartrate de fer	10 mg
Glucose	10 g	MnSO ₄	3 mg
Ca(NO ₃) ₂ . . .	500 mg	ZnSO ₄	0,5 mg
KNO ₃	125 mg	CuSO ₄	0,025 mg
MgSO ₄	125 mg	H ₃ BO ₃	0,5 mg
KH ₂ PO ₄	125 mg	moût de bière	50 g
		gélose	12 g

La partie apicale de l'embryon, faiblement développé sur milieu synthétique, est sectionnée après une durée de culture de 10 à 24 jours, coupée en biseau et insérée dans la fente d'un méristème radiculaire âgé de 3 à 8 jours. Le tout, maintenu à l'aide d'un fil de laine, est placé sur un milieu gélosé durant 2 à 4 semaines.

On remarque que la soudure s'effectue. La plantule reconstituée est ensuite placée en terre et cultivée en serre dans des conditions optimales. Elle se développe harmonieusement et 9 greffes sur 10 ont réussi.

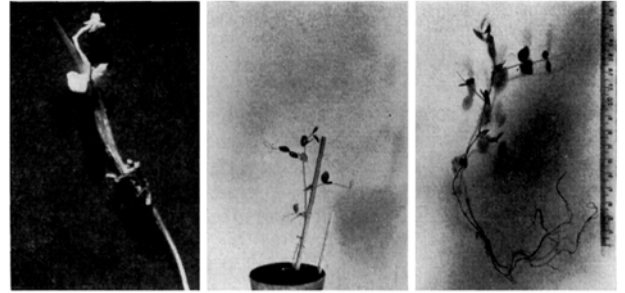
Le tableau indique la longueur en cm de la partie feuillée de quelques plantules.

Jours*	Grefte n°					
	1	2	3	5	8	9
0	3,5	3	4	3	2	2
8	7	5	7	6	3	3
15	15	10	12	11	5	5,5
21	22	16	18	18	—	—
28	23	13	—	—	—	—

* Comptés à partir du transfert en pot de la plantule sur milieu synthétique gélosé.

Les plantes 1 et 2 produisent chacune une fleur normale après 25 et 23 jours. Les feuilles et les vrilles sont bien développées. Le fruit se forme régulièrement.

Il est donc possible d'effectuer avec succès une greffe entre les points végétatifs radiculaires et apicaux après qu'ils aient été cultivés en milieu synthétique. La plante ainsi reconstituée ne se distingue pas d'une plante normale. Les corrélations physiologiques normales ont été rétablies.



A gauche: greffe fortement grossie; au milieu: plantule reconstituée en terre, de 30 jours; à droite: plantule identique sortie de terre et montrant le développement du système racinaire.

La mise au point de cette technique permet d'envisager de nombreuses expériences de morphogenèse expérimentale.

R. LOUIS et W. H. SCHOPFER

Institut et jardin botaniques de l'Université de Berne,
le 28 janvier 1955.

Summary

Experimental grafting of embryonal apical buds of *Pisum* upon *in vitro* cultivated rootmeristems in agar culture is described.

After transferring in the soil the plants develop normally, form flowers and seeds.

Versuche zur somatischen Beeinflussung der Organbildung pflanzlicher Embryonen

Bekanntlich kann man an tierischen Keimen durch stoffliche Einflüsse in der sensiblen Phase Vervielfachung oder Ablast von Organanlagen erzielen; eine grosse Anzahl von Arbeiten berichtet über Erfolge auf diesem Gebiet¹. Dagegen fehlen systematische Untersuchungen zur somatischen Beeinflussung der Organbildung pflanzlicher Embryonen meines Wissens fast ganz.

Einige Autoren, denen es gelungen ist, sehr junge Embryonalstadien höherer Pflanzen zu isolieren und *in vitro* weiterzuzüchten, beschreiben das Auftreten von Keimblattverwachsungen (Syncotylie) oder Keimblattvermehrungen (Pleiocotylie) bei derart ihrem natürlichen Milieu entzogenen Keimen, so OVERBEEK und Mitarbeiter² bei *Datura* und RIJVEN³ bei *Capsella Bursa pastoris*.

Vermutlich beruhen solche nicht genetisch, sondern erst im Verlauf der Embryoentwicklung somatisch induzierten Hypo- und Hypermorphosen auf einer durch das künstliche Milieu bedingten «physiologischen Disharmonie»⁴. Es wäre zu untersuchen, ob hierbei allein physikalisch-chemische Verhältnisse verantwortlich zu machen sind oder ob die den Nährlösungen zugefügten aktiven Substanzen (Vitamine, Wachstumsstoffe usw.) einen direkten oder indirekten spezifischen Einfluss ausüben.

Dass extreme (im positiven oder negativen Sinn) Ernährungsbedingungen modifizierend in die Vorgänge

¹ Vgl. F. E. LEHMANN, *Einführung in die physiologische Embryologie* (Birkhäuser, Basel 1945).

² J. VAN OVERBEEK, M. E. CONKLIN und A. F. BLAKESLEE, *Amer. J. Bot.* 29, 472 (1942).

³ A. H. G. C. RIJVEN, *Act. Bot. Neerland.* 1, 157 (1952).

⁴ Vgl. C. W. WARDLOW, *Proc. VIIIth int. Bot. Congr.*, Paris 1954.

¹ W. H. SCHOPFER et R. LOUIS, *Exper.* 8, 388 (1952).

der Organbildung am Embryo eingreifen können, ist bekannt. So beobachteten SAUNDERS¹ bei *Matthiola incana* eine Erhöhung des Prozentsatzes an Syncotylen in unter besonders günstigen Bedingungen gereiften Samen, LITOVCHENKO² bei der Zuckerrübe die meisten Tricotylen in den grössten Fruchtknäueln, STRAUB³ bei *Petunia* eine Förderung der Tricotylye durch Nahrungsmangel und HASKELL⁴ bei der Tomate eine Häufung der pleiocotylen Keime in den obersten und untersten Fruchtbündeln.

Man weiss aber auch, dass bei der Einwirkung von Wuchsstoffen auf Vegetationspunkte häufig «Teilungen» oder «Verwachsungen» der Blattanlagen resultieren. Dass dergleichen unter besonderen Bedingungen auch für die Cotyledonen gilt, haben ERGLE, McILRAHT und Mitarbeiter⁵ gezeigt: mit 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D) oder mit Maleinhydrazid behandelte Baumwollpflanzen lieferten Samen, deren Embryonen neben anderen Anomalien alle Grade von Syncotylye aufwiesen.

Selbstverständlich können, ebenso wie bei den oben erwähnten Embryokulturen, Abweichungen der Keimblattanlage nur an den frühesten Embryonalstadien erzielt werden. Wuchsstoffbehandlung reifer Samen ist daher im allgemeinen in dieser Beziehung erfolglos⁶. So haben GAVAUDAN, DEBRAUX und Mitarbeiter⁷ Samen zahlreicher Dikotylenarten jeweils 48 h verschiedenen Wuchsstofflösungen ausgesetzt und nur bei einer Gartenvarietät von *Campanula* eine ein- oder beidseitige Vereinigung der Keimblattbasen (Gamocotylye) und bei *Nicotiana Tabacum* und *Petunia hybrida* eine Verwachsung der Keimblätter mit den ersten Laubblättern beobachtet. Wie die Verfasser ausdrücklich betonen, war es auch in diesen Fällen nur möglich, das interkalare Wachstum, nicht aber die Anlegung der Cotyledonen zu modifizieren, was allein durch die Behandlung «au moment de la formation des graines» zu erreichen sei.

Unter den Frühlingsblühern unseres Klimas gibt es einige Arten (zum Beispiel *Eranthis hiemalis*, *Anemone narcissiflora*, *A. apennina*, *Ranunculus Ficaria* und die einkeimblättrigen *Corydalis*arten), bei denen die Samen bereits verbreitet werden, also äusserlich reif erscheinen, obwohl die Embryonen noch völlig undifferenziert sind⁸. Man kann diese daher sehr viel leichter der Einwirkung von Lösungen aussetzen als die gleich weit entwickelten Keime noch im Fruchtknoten befindlicher Samenanlagen.

Die ersten Versuche habe ich mit *Eranthis hiemalis* durchgeführt, über deren normale Embryogenese und Keimlingsanatomie eine frühere Arbeit berichtet⁹. Neuerdings wurden auch die «monocotylen Dicotylen» *Corydalis cava* und *Ranunculus Ficaria* einbezogen. Neben der Applikation verschiedener als wachstumsaktiv bekannter Stoffe wurden sowohl Temperaturschockbehandlungen als auch Röntgenbestrahlungen¹⁰

durchgeführt. Die Untersuchungen sind noch nicht abgeschlossen. Da sie aber bereits einige Ergebnisse gezeigt haben, die von allgemeinem Interesse sein dürften, soll im folgenden eine Übersicht über die wichtigsten Resultate des Jahres 1953 und über einige Stichprobenzählungen der zur Zeit laufenden Experimente gegeben werden.

Kontrollen. *Eranthis hiemalis* gehört mit einer Reihe anderer Ranunculaceen zu den Arten mit einem normalerweise bereits relativ hohen Prozentsatz spontan auftretender Keimblattanomalien. Von 3200 unbehandelten Samen waren 2899 (91%) gekeimt, darunter waren 7 tricotyle (0,24%), 1 tetracotyle (0,03%), 2 syncotyle (0,07%) Keimlinge und 1 Zwillingspaar (0,03%), also insgesamt 11 Anomalien (0,37%).

1. Versuchsserie. Am 2. Mai 1953 wurden je 500 Samen von *E. hiemalis* jeweils 12 h in 50 cm³ der 2,4-D-Lösungen (1000 ppm und 100 ppm¹) gebadet und zu je 100 Stück in Blumentöpfe ausgesät (Tabelle I).

Tabelle I

Konzentrationen 2,4-D-Lösung ppm	Gekeimte Samen	Anomale Sämlinge	Von den anomalen Sämlingen waren:				
			Syn- cotyl	Tri- cotyl	Tetra- cotyl	Mehr als te- tracot.	Zwil- linge
1000	466	10 (2%)	2	6	1	—	1
100	461	3 (0,7%)	1	2	—	—	—

Ein zwölfstündiges Eintauchen in die Lösungen genügte also schon, um eine, wenn auch nur geringfügige Erhöhung des Prozentsatzes an Anomalien zu bewirken. Der Effekt lässt sich, wie der folgende Versuch beweist, durch eine intensivere Einwirkung gleicher Konzentrationen beträchtlich steigern.

2. Versuchsserie. Am 3. Mai 1953 wurden 1000 *Eranthis* Samen zu je 200 Stück in 5 Töpfe ausgesät. Die Töpfe 1 bis 4 wurden am gleichen Tag mit je 200 cm³ der 2,4-D-Lösungen (1000, 500, 100 und 50 ppm) begossen, der Topf 5 bekam am 15. Mai, also 12 Tage später, die gleiche Menge einer 500-ppm-Lösung (Tabelle II).

Das Begiessen frisch geernteter Samen mit einer 0,1%igen 2,4-D-Lösung bewirkte also bei einer Überlebensrate von 78% fast 100% Keimblattanomalien (gegenüber 0,37% bei den Kontrollen). Mit abnehmender Konzentration der Lösungen wurde die Anzahl der Abweichungen geringer. Auch die etwa 2 Wochen nach der Samenreife¹ vorgenommene Behandlung hatte einen stark herabgeminderten Effekt (22% Anomalien gegenüber 65% bei der ersten Behandlung mit gleicher Konzentration).

Auffallend und unerwartet war das starke Überwiegen der Syncotylen gegenüber den Pleiocotylen bei der späteren Applikation. Auch bei den sofort nach der Ernte durchgeführten Versuchen konnte man den Eindruck haben, als verschöbe sich das Verhältnis zwischen Syn- und Pleiocotylen mit abnehmender Konzentration der

Frau Dr. E. REINHOLZ (Max-Planck-Institut für Biophysik, Frankfurt) durchgeführt. Eine erste Mitteilung wurde bereits veröffentlicht: B. HACCUS und E. REINHOLZ, *Naturwissenschaften* 40, 533 (1953). Die genauere Auswertung der Ergebnisse wird durch REINHOLZ publiziert werden. REINHOLZ hat inzwischen die Bestrahlungsversuche an einem anderen Objekt (*Arabidopsis thaliana*) fortgeführt und die gleichen Effekte erzielt. (*Exper.* 10, 486 (1954)).

¹ Es wurde das NH₄-Salz der 2,4-D verwandt, ppm = 1:1000000.

¹ E. R. SAUNDERS, *Bibl. Genet.* 4, 141 (1928).

² A. G. LITOVCHENKO, *C. r. Acad. Sci. USSR.* 27, 816 (1940), zitiert nach G. HASKELL, *Phytomorph.* 4, 140 (1954).

³ J. STRAUB, *Z. Vererbgl.* 82, 331 (1948).

⁴ G. HASKELL, *Nature* 173, 311 (1954).

⁵ W. J. Mc ILRATH, D. R. ERGLE und A. A. DUNLAP, *Bot. Gaz.* 112, 511 (1951). – D. R. ERGLE und W. J. Mc ILRATH, *Bot. Gaz.* 114, 114 (1952).

⁶ M. HANF, *Nbl. dtsch. Pflanzenschutzd.* 2, H. 6 (1950).

⁷ P. GAVAUDAN, G. DEBRAUX und A. BONNENFANT, *C. r. Trav. Lab. Biol. Vég. Fac. Sci. Poitiers Nr.* 4 (1953).

⁸ Vgl. M. FINDEIS, *Sitzber. Akad. Wiss. Math.-Nat. Kl.* 126, Abt. I, 77 (1917).

⁹ B. HACCUS, *Planta (Berlin)* 41, 439 (1953).

¹⁰ Damit die Röntgenbestrahlungen vorgenommen werden konnten, habe ich diesen Teil der Untersuchungen in Zusammenarbeit mit

Tabelle II

Behandlungszeit	Konz. 2,4-D-Lösung ppm	Gekeimte Samen	Anomale Sämlinge	Von den anomalen Sämlingen waren:				
				Syncotyl	Tricotyl	Tetracotyl	Mehr als tetracotyl	Zwillinge
3. Mai 1953	1000	155	149 (96%)	4	39	41	63	2
	500	174	113 (65%)	18	52	24	19	—
	100	179	41 (23%)	19	22	—	—	—
	50	196	3 (1,5%)	—	3	—	—	—
15. Mai 1953	500	174	38 (22%)	33	5	—	—	—

Lösungen zugunsten der Syncotylen. Bei Konzentrationen von 50 ppm und darunter wurden allerdings keine Syncotylen, aber stets noch eine über dem Durchschnitt der Kontrollen liegende Anzahl von Tricotylen gefunden.

3. Versuchsserie. Die Versuche wurden, zum Teil etwas abgewandelt, im Frühjahr 1954 wiederholt. Da diese Pflanzen erst im Frühjahr 1955 keimen werden, wurden, um bereits ein vorläufiges Ergebnis zu bekommen, im August des laufenden Jahres Samenproben entnommen und die Embryonen präpariert. Die Stichproben bestätigten die im Vorjahr gewonnenen Befunde. Eine Behandlung frisch geernteter Samen (am 6. Mai 1954) hat im Konzentrationsbereich zwischen 100 und 1500 ppm 2,4-D zu einer signifikanten und mit der Konzentration zunehmenden Steigerung der Keimblattanomalien geführt an im übrigen durchaus lebenskräftigen Keimen. Bei einer Einwirkung von höher konzentrierten Lösungen überwiegt die Zahl stark unterentwickelter oder völlig verküppelter Embryonen.

Am 12. Mai, also 10 Tage nach der Samenreife, war noch ein Effekt zu erzielen, während die später (am 18. und 24. Mai) behandelten Embryonen überwiegend normal gestaltet, wenn auch zum Teil in ihrer Entwicklung gegenüber den Kontrollen zurückgeblieben waren. Die sensible Periode für den morphogenetischen Einfluss der 2,4-D endet also bei *Eranthis* etwa mit der zweiten auf die Samenreife (= eben beginnende Öffnung der Balgfrüchte) folgenden Woche. Da die Samen nicht alle genau gleichzeitig reifen, kann man die sensible Phase des einzelnen Embryos noch kürzer veranschlagen.

Bezüglich der relativen Zunahme der Syncotylen im Verhältnis zu den Pleiocotylen sowohl bei Anwendung schwächerer Konzentrationen als auch bei einer erst am Ende der sensiblen Periode erfolgten Behandlung entsprechen die vorläufigen Ergebnisse dieses Jahres denen des vorigen.

4. Versuchsserie. Nachdem sich die 2,4-D bei *Eranthis* in der Auslösung von Keimblattanomalien derart wirksam erwiesen hatte, lag es nahe, auch andere als wachstumsaktiv bekannte Substanzen zu prüfen. Die Behandlung erfolgte am 7. Mai 1954, und zwar mit 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure (2,4,5-T), mit 2-Methyl-4-Chlorphenoxyessigsäure, α -Naphthylessigsäure, β -Indolylessigsäure, Trijodbenzoesäure und Isopropyl-N-Phenylcarbammat unter Anwendung der bei der 2,4-D als wirksam erkannten Konzentrationen. Das Ergebnis der Stichproben kann wie folgt zusammengefasst werden. Eine nur sehr geringe Wirkung hatte die β -Indolylessig-

Tabelle III

Art der Temperaturbehandlung	Gekeimte Samen	Anomale Sämlinge	Von den anomalen Sämlingen waren:		
			Syncotyl	Tricotyl	Tetracotyl
Ständig 28°	242	24 (10%)	15	9	—
10 h 5°/26 h 28°	252	24 (9,5%)	18	6	—
4 h 5°/20 h 28°	261	28 (10,7%)	26	2	—
15 h 5°/15 h 28°	243	12 (5%)	10	1	1
26 h 5°/10 h 28°	216	7 (3,2%)	2	5	—
20 h 5°/4 h 28°	287	4 (1,4%)	—	4	—
Ständig 5°	298	4 (1,3%)	1	3	—

säure: unter 80 präparierten Embryonen waren nur 3 syncotyle und 2 tricotyle. Die Trijodbenzoesäure zeigte eine ebenfalls nur schwache Wirksamkeit im Konzentrationsbereich von 200 bis 500 ppm: unter 100 Keimen waren 1 syncotyl und 3 tricotyl. Alle übrigen Stoffe (auch das Isopropyl-N-phenylcarbammat!) zeigten qualitativ und quantitativ keinen geringeren bzw. einen noch stärkeren (2,4,5-T) Effekt als die 2,4-D.

5. Versuchsserie. Die Temperaturschockbehandlung wurde am 12. Mai 1953, also, wie sich später herausstellte, erst am Ende der sensiblen Periode begonnen. Trotzdem konnte eine gewisse, durch früheren Versuchsbeginn sicher noch zu steigernde Wirkung erzielt werden. Je 300 Samen wurden 2 Wochen lang in der in Tabelle III angegebenen Weise abwechselnd Temperaturen von 5° und 28° ausgesetzt.

Wärme wirkt anscheinend stärker schädigend, das heisst die Ausbildung von Anomalien begünstigend, als Kälte, denn der Anteil an abnormen Keimen hat ungefähr parallel mit der Dauer der applizierten 28°-Periode abgenommen. In weiteren Versuchen ist geplant, Temperatureinwirkung und Wuchsstoffbehandlung zu kombinieren.

Die morphogenetische Wirkung der Röntgenstrahlen entspricht im Dosisbereich von 2000 r bis 4000 r derjenigen von 0,1 bis 0,2%igen 2,4-D-Lösungen. Die dabei auftretenden Abweichungen in der Gestaltung der Embryonen und Keimpflanzen gleichen morphologisch und anatomisch in jeder Beziehung den durch Wuchsstoffe induzierten Morphosen.

Durch beide Behandlungsweisen entstanden eigenartige embryonale Regenerate, die bei Applikation von Temperaturschock und bei den schwächeren Wuchsstoffkonzentrationen nicht auftraten. Der Embryo, der zur Zeit der Samenreife das sogenannte birnförmige Stadium (Länge ohne Suspensor etwa 0,17–0,18 mm) erreicht hat, entwickelt sich in diesen Fällen nicht weiter, sondern bildet an seinem apikalen Ende oder etwas seitlich davon regenerativ ein oder zwei neue Embryonen, die zu fertigen, oft stark deformierten Keimen auswachsen. Die meisten, wenn nicht alle hochgradig pleiocotylen Sämlinge (5 und mehr Keimblätter) und die Zwillingsbildungen der Wuchsstoff- und Röntgenbehandlungen sind derartige Regeneratkeime¹. Bei den künftigen Zählungen wird es daher nötig sein, die am ursprünglichen Embryo induzierten Keimblattanomalien, die qualitativ den normalen Variabilitätsbereich nicht überschreiten, von den viel weitergehenden Verände-

¹ Der Ausdruck wird hier im Sinne der «Verbreitungsreife» gebraucht.

¹ Vielleicht haben die von REINHOLZ (Anm.¹⁰, S.150) als «unregelmässig tricotyl» bezeichneten Arabidopsis-Embryonen, die gehäuft an mit hohen Dosen bestrahlten Pflanzen auftraten, eine ähnliche Bildungsweise.

rungen an regenerativ gebildeten Keimen zu unterscheiden.

Sicher beruht auch die Verschiebung des Verhältnisses zwischen Syncotylen und Pleiocotylen zugunsten der Syncotylen bei den mit schwächer konzentrierten Lösungen oder zu einem späteren Zeitpunkt behandelten Embryonen, wenigstens zum Teil, auf dem Wegfall der nur durch intensivere Einwirkungen zustandekommenden, hochgradig pleiocotylen Regeneratembyonen.

B. HACCUS

Aus dem Botanischen Institut der Universität Mainz, den 3. August 1954.

Summary

Experiments on influencing cotyledon formation in embryos of *Eranthis hiemalis* are reported. By treating the seeds with 100–2000 ppm solutions of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid, 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid, α -naphthylacetic acid and even isopropyl N-phenyl carbamate one can obtain significant increases in twinning and in cotyledon anomalies (syncotyly and pleiocotyly of all degrees). Embryos can be successfully treated until approximately 2 weeks after initial opening of the follicles. X-radiations achieve the same effect, with doses of 2000–4000 r corresponding to the treatments with 1000–2000 ppm 2,4-D-solutions. By using weaker concentrations and with sudden temperature changes one can likewise raise the percentage of syn-, tri- and tetracotylys, but pleiocotylys of the higher degrees (5 and more cotyledons) appear only when more intensive methods of treatment are employed. These forms which exceed the normal range of variability arise as bud-like embryo regenerates on the as yet undifferentiated original embryo.

Bordure superficielle de pseudopodes au niveau des cellules mésothéliales du revêtement péritonéal chez les mammifères

L'étude au microscope optique du revêtement péritonéal des Mammifères montre que, souvent, la limite extérieure des cellules mésothéliales est marquée par une ligne particulièrement épaisse, quelquefois même par un mince plateau.

Au cours de recherches expérimentales sur l'absorption de la silice injectée dans le péritoine chez le Rat, nous avons pu étudier au microscope électronique les caractères de ce revêtement mésothélial.

Il supporte de fins pseudopodes grêles, larges d'environ 400 à 450 Å, longs de 0,6 à 0,8 μ . Ils sont peu serrés, avec des espacements allant de 0,1 à 0,3 μ . Le contenu de ces pseudopodes apparaît homogène, non limité par une membrane perceptible.

Les pseudopodes ne sont pas disposés en couche régulière, mais par touffes, avec un certain fusionnement à leur base. Ils se distinguent par là des éléments constituant les bordures en brosse du rein.

Ils ressemblent par contre aux fins pseudopodes décrits à la surface de certaines cellules: cellules endothéliales¹, cellules alvéolaires du poumon², cellules épithéliales de la trachée entre les cils vibratiles³.

¹ W. BERNHARDT, Communication au Congrès international d'Hématologie, Paris, 1954 (sous presse).

² A. POLICARD, A. COLLET et L. GILTAIRE-RALYTE, C. r. Acad. Sci. 239, 573 (1954).

³ G. BLOOM et H. ENGSTRÖM, Ann. Otol. Rhin. Laryng. 62, 15 (1953).

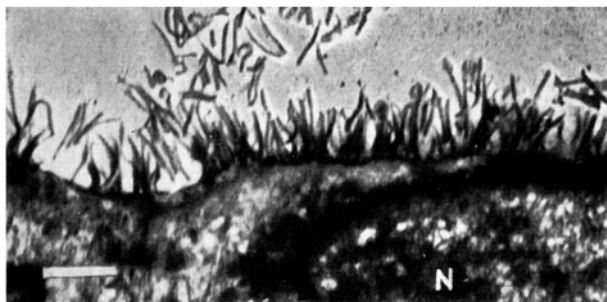


Fig. 1. Disposition des pseudopodes à la surface de la cellule mésothéliale. N partie supérieure du noyau. Grossissement: 12000.

Il semble plausible de rattacher ces formations aux processus d'absorption très développés au niveau du revêtement péritonéal.

A. POLICARD, A. COLLET et
L. GILTAIRE-RALYTE

Centre d'études et recherches des charbonnages de France, Paris et Verneuil, Oise, le 6 décembre 1954.

Summary

The surface of the mesothelial peritoneal cells (Rat) show with electron microscope very thin pseudopods, 0.6–0.8 μ by 0.04–0.045 μ , separated by 0.1–0.3 μ spacings, and different from vibratile cilia, but similar to the submicroscopic pseudopods of alveolar or endothelial cells.

Mitotic Frequency in Normal and Regenerating Tail Tips of *Rana pipiens* Embryos¹

The tail tip of the Amphibian embryo or larva has proved to be a most convenient material for chromosome studies, and has been used extensively for this purpose first by FANKHAUSER², later by COSTELLO and HENLEY³, and others. Usually these studies are done on whole mounts of tail tips, which of necessity are amputated, at the earliest, during later embryonic stages when the fin becomes thin and transparent. Recently, however, it has been shown that squash techniques also give good results when applied to tail tips (TING⁴). This means that it is possible to get satisfactory preparations of tail tips at any stage of development, and poses the problem of selecting the stage (s) which will give the largest number of mitotic figures for study. Primarily in order to solve this practical problem we have measured mitotic frequencies in smears of tail tips taken from normal frog embryos at stages ranging from SHUMWAY⁵ stage 18 (4 mm embryo) to stage 25 + (young tadpole). A comparable series of measurements was done on tail tips which were regenerating following amputation at stage 18 or stage 19.

Materials and Methods.—Fertilized eggs were produced in the laboratory according to the usual technique

¹ Aided by an Institutional Grant from the American Cancer Society.

² G. FANKHAUSER, Proc. Amer. Phil. Soc. 79, 715 (1938); Quart. Rev. Biol. 20, 20 (1945).

³ D. P. COSTELLO and C. HENLEY, Proc. Amer. Phil. Soc. 93, 428 (1949). — C. HENLEY and D. P. COSTELLO, J. Morph. 89, 91 (1951).

⁴ H. P. TING, Stain Techn. 25, 127 (1950).

⁵ W. SHUMWAY, Anat. Rec. 78, 139 (1940).