

Results. The data on duration of the cell cycle phases in the retinal anlage of embryos of the genotypes studied were derived from the graphic curves of the percentage of labelled mitoses by using the method of QUASTLER and SHERMAN³ (Figure 1). The generation time (T) of the retina anlage cells shows a 1.5-fold increase in *or/or* embryos and a 1.2-fold increase in *fi/fi* embryos as compared to the norm. The total duration of G₁ and M phases in *or/or* embryos increased three times and in *fi/fi* embryos twice against the norm (Table, Figure 2). The earlier finding, that in the retina anlage of 10-day-old *or/or* and *fi/fi* embryos the mitotic index is much lower than that of *+/+* embryos^{1,2}, leads us to suggest that changes in the length of the generation time in the mutants are due to elongation of G₁, but not M phase. The other periods of the cell cycle in the retina anlage of *or/or* and *fi/fi* embryos do not differ much from the norm.

The count of silver grains over labelled nuclei of the retina 1 h after a single ³H-thymidine injection has shown

The duration of the cell cycle phases in the retina anlage of 10-day-old mouse embryos (h)

Genotype	t G ₂	t S	t G ₁ + M	T
<i>+/+</i>	1	6 ¹ / ₂	2 ¹ / ₂	10
<i>or/or</i>	1 ³ / ₄	5 ³ / ₈	8	15
<i>fi/fi</i>	1	6 ¹ / ₂	4 ¹ / ₂	12

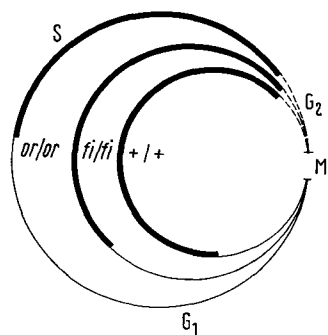


Fig. 2. The relative duration of different periods of the cell cycle in the retina anlage of 10-day-old mouse embryos of *+/+*, *or/or* and *fi/fi* genotypes.

slightly-increased incorporation intensity of label in *or/or* embryos as compared to the norm. Reduction of S, and more intensive incorporation of ³H-thymidine into DNA, indicates some acceleration of DNA synthesis in *or/or* embryos. This is evidently a compensatory response to significant elongation of G₁ phase. In *fi/fi* embryos the intensity of ³H-thymidine incorporation and the duration of S do not show any difference from those of *+/+* embryos.

The experiments with repeated ³H-thymidine injections have shown that all the retina anlage cells of 10-day-old *+/+*, *or/or* and *fi/fi* embryos undergo proliferation. Nuclei of all the cells become labelled after 6 ³H-thymidine injections.

Discussion. Thus, inhibition of the proliferative activity of the retina anlage cells by the mutant genes *or* and *fi* is caused by the elongation of the presynthetic phase of the cell cycle. Gene *or* evidently acts only in the retina anlage cells. The mitotic indices determined by us in the dorsal region of the telencephalon and ventral part of diencephalon have revealed no significant differences between 10-day-old *or/or* and *+/+* embryos. Gene *fi* inhibits the proliferative cell activity in the brain and its derivative-eye vesicle. Hence, these mutant genes act in definite cell systems and disturb the synthesis of tissue-specific proteins (heterosynthesis). It has been shown for many cellular systems that the variations in the generation time are due to different length of G₁. PRESCOTT⁴ suggests that there is a control point of cell reproduction at the end of the presynthetic period which, in our opinion, must be the starting-point of autosynthesis. The mutant genes *or* and *fi* changing of heterosynthesis delay the beginning of autosynthesis, bringing about the elongation of G₁ in the retina anlage cells of the mouse.

Выводы. Мутантные гены *or* и *fi* у мыши значительно удлиняют G₁ период клеток зачатка сетчатки, в результате чего происходит подавление пролиферативной активности клеток развивающейся сетчатки.

B. V. KONYUKHOV and M. V. SAZHINA

Institute of General Genetics,
USSR Academy of Sciences, 7 (I) Profsoyuznaya,
Moskva B-133 (USSR), 21 December 1970.

³ H. QUASTLER and F. G. SHERMAN, *Expl Cell Res.* 17, 420 (1959).

⁴ D. M. PRESCOTT, *Cancer Res.* 28, 1815 (1968).

Chromosomenaberrationen in den Wurzelspitzen von *Allium cepa* durch Aflatoxin B₁

Aflatoxin B₁, ein von *Aspergillus flavus* und verwandten Pilzarten gebildetes Mycotoxin¹, hat wegen seiner carcinogenen Eigenschaften grosses Interesse gefunden. In einer Reihe von Untersuchungen wurden Schädigungen von Zellen in Zellkulturen beobachtet, so Zerstörung von Kern und Cytoplasma bei Kälbernierenzellen², Hemmung der Vermehrung sowie Entstehung von Riesenzellen bei menschlichen embryonalen Lungenzellen^{3,4}, Wachstumshemmung und zunehmende Granulation bei HeLa- und Chang-Leberzellen⁵ und Zerstörung der Nucleoli bei menschlichen Leberzellen^{6,7}. Aflatoxin B₁ rief auch direkt Chromosomenaberrationen in Wurzeln von

*Vicia faba*⁸ und in menschlichen Leukozyten⁹ sowie eine Reduktion der Mitoserate in menschlichen Lungenzellen hervor.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von Aflatoxin B₁ auf die Chromosomen in Zellen der Wurzelspitze von *Allium cepa* untersucht. Dieses Objekt erschien besonders interessant, weil an ihm bereits die Entstehung von Aberrationen durch Cumarin, von dem Aflatoxin B₁ chemisch abzuleiten ist, studiert worden war^{11,12}.

Wurzeln von *Allium cepa* wurden in verschiedenen Konzentrationen (200 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml) von Aflatoxin B₁ (Serva, Heidelberg) in 0.3% Dimethyl-



Fig. 1. Chromosomenbrücken quer durch eine sich bildende Zellwand nach Kultur in 100 µg/ml Aflatoxin B₁ (46,5 h). ×1100.



Fig. 2. C-mitotische Chromosomen nach Kultur in 200 µg/ml Aflatoxin B₁ (47 h). ×1100.

formamid (DMF) (Serva) eingetaucht und nach 4, 24 und 48 h entnommen. Zur Kontrolle wurden die Wurzeln mit 0,3% DMF ohne Zusatz behandelt. Die Chromosomen in den meristematischen Zellen der Wurzelspitzen wurden mit Karminessigsäure (Chroma, Stuttgart) durch Erwärmen und Quetschen¹³ dargestellt.

Ergebnisse. Verklebungen einzelner Chromosomen während der Anaphase, die sogar quer durch neu gebildete Zellwände verfolgt werden konnten (Figur 1), waren die auffälligsten Schädigungen. Daneben zeigten einzelne Zellen auch C-mitotische Chromosomen während der Metaphase (Figur 2). Alle Aberrationsformen traten gehäuft auf, wenn die Zwiebelwurzeln 48 h lang mit 200 µg/ml Aflatoxin B₁ behandelt worden waren (etwa 50% aller Meta- bzw. Anaphasen geschädigt) und nahmen in dem Maße ab, wie Toxinkonzentration und Einwirkungszeit herabgesetzt wurden. Zusätzlich wurde bei *A. cepa* die allgemeine Mitoserate herabgesetzt: Mitoseindex (Anzahl der Mitosen in Prozent der Gesamtzellzahl): DMF-Kontrollen: 12%, 200 µg/ml Aflatoxin B₁: 3%. Ähnliche Verminderungen der Mitosehäufigkeit unter dem Einfluss von Aflatoxin B₁ wurden auch bei menschlichen Lungenzellen¹⁰, menschlichen Leukozyten⁹ sowie bei Wurzelzellen von *Vicia faba*⁸ festgestellt. In der DMF-Kontrolle entstanden bei *A. cepa* keine Chromosomenschädigungen.

Chromosomenbrücken wurden auch nach Einwirkung von Aflatoxin auf *Vicia faba*-Wurzeln⁸ sowie nach Behandlung von Zwiebelwurzeln mit dem chemisch verwandten Cumarin^{11,12} beobachtet. Zumindest für *A. cepa* kann angenommen werden, dass die beobachteten Aberrationen nicht für Aflatoxin B₁, sondern vielmehr für eine Gruppe chemisch verwandter Substanzen spezifisch ist.

Summary. After treatment of roots of *Allium cepa* with aflatoxin B₁ in 0.3% dimethylformamide, chromosome bridges, C-mitose chromosomes and a reduction of the mitotic index were observed. The aberrations occurred especially frequently when the roots had grown in 200 µg/ml toxin for 48 h. In its cytotoxic effect on *Allium cepa* root tips, aflatoxin B₁ acts similarly to the chemically related coumarin.

J. REISS

Mikrobiologisches Laboratorium,

Grahamhaus Studt K.G.,

D-655 Bad Kreuznach (Deutschland), 1. April 1971.

¹ J. REISS, Z. allg. Mikrobiol. 8, 303 (1968).

² S. JUHÁSZ und E. GRÉCZI, Nature, Lond. 203, 861 (1964).

³ M. LEGATOR, Bact. Rev. 30, 471 (1966).

⁴ M. S. LEGATOR, S. M. ZUFFANTE und A. R. HARP, Nature, Lond. 208, 345 (1965).

⁵ J. GABLIKS, W. SCHAEFFER, L. FRIEDMAN und G. WOGAN, J. Bact. 90, 720 (1965).

⁶ A. J. ZUCKERMAN und F. FULTON, Brit. med. J. 2, 90 (1966).

⁷ A. J. ZUCKERMAN, K. N. TSIGUAYE und F. FULTON, Br. J. exp. Path. 48, 20 (1967).

⁸ L. J. LILLY, Nature, Lond. 207, 433 (1965).

⁹ D. A. DOLIMPIO, C. JACOBSON und M. LEGATOR, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 127, 559 (1968).

¹⁰ M. S. LEGATOR und A. WITHROW, J. Ass. off. agric. Chem. 47, 1007 (1964).

¹¹ F. D'AMATO und M. G. D'AMATO-AVANZI, Caryologia 6, 134 (1954).

¹² G. ÖSTERGREN, Botaniska Notiser 1948, 376.

¹³ L. GEITLER, Schnellmethoden der Kern- und Chromosomenuntersuchung (Springer, Wien 1949).

The Phase Numbers and Their Variation under Different Treatments

In order to study the dynamics of a meristematic population, indices have been introduced which relate the number of cells in mitosis to the number going through the interphase^{1,2}. Theoretically, the partial mitotic indices, apart from the phase indices, do not always express the kinetics of a cell population going through the division cycle, and for this reason we need a figure which will relate one type of index to the other, giving a resultant which expresses variation or normality

in the proportional relationship between the cells at different stages in the division cycle.

The idea of the phase number is that it should represent the percentage of cells in each of the phases of the division cycle within the meristematic population, and it must necessarily reflect any modification that can be detected in the dynamics of that population. It may be determined by a direct count, to find out the percentage of cells in each one of the actual phases within the