

Published papers

by

P.Ch. Koller, Ph.D.

(Institute of Animal Genetics,
University of Edinburgh).



Nicht einzeln im Buchhandel

Ueberreicht vom Verfasser

Abdruck aus
Archiv für experimentelle Zellforschung
besonders **Gewebezüchtung (Explantation)**

Unter besonderer Mitwirkung von

MONTROSE BURROWS, Pasadena / N. CHLOPIN · Leningrad / AUBREY DREW, London /
ALBERT FISCHER, Kopenhagen / ROSS GRANVILLE HARRISON, New Haven /
A. KRONTOWSKI, Kiew / ERNST KÜSTER / Gießen, GIUSEPPE LEVI, Turin /
MARGARET LEWIS, Baltimore / WARREN LEWIS, Baltimore / LEO LOEB, St. Louis /
ALEXANDER MAXIMOW †, Chicago / A. POLICARD, Lyon / R. RÖSSLE, Berlin /
G. ROUSSY, Paris

herausgegeben von

Rhoda Erdmann
Berlin-Wilmersdorf

Band VIII

Verlag von Gustav Fischer in Jena
1929



Die Geschichte der Biologie

Ein Ueberblick

von

Erik Nordenskiöld

Stockholm

Deutsch von Guido Schneider

VIII, 648 S. gr. 8° 1926 Rmk 25.—, geb. 27.—

Der Verfasser hat sich nach Möglichkeit in seiner Darstellung an die theoretischen Grundsätze und allgemeinen Grundlinien gehalten, die in der Forschung hervortreten, da sie, obwohl kulturhistorisch von sehr wesentlicher Bedeutung, dennoch nicht oft übersichtlich zusammengestellt worden sind. Nach diesem Prinzip ist auch für jede Richtung eine Anzahl typischer Vertreter unter den Denkern und Forschern ausgewählt und geschildert worden. Die Auswahl der zu schildernden Persönlichkeiten geschah auf Grund einer Prüfung, die natürlich einen gewissermaßen subjektiven Charakter haben muß. Im Hinblick auf die allgemeine Kulturentwicklung war es ferner geboten, Vertreter der wissenschaftlichen Entwicklung verschiedener Länder zu berücksichtigen, um ein möglichst allseitiges Bild vom heutigen Stande der Naturwissenschaften und von den Beiträgen der verschiedenen Nationen zu gewinnen.

Münchener medicin. Wochenschrift. 1926, Nr. 21: Das vorliegende Buch füllt in vorzüglicher Weise eine Lücke in unserer sonst so ungeheuer angewachsenen biologischen Literatur aus. . . . es fehlte an einem Werk, welches dem Geist der Neuzeit entsprechend eine zusammenhängende Darstellung vom Entwicklungsgang der biologischen Forschung von ihren ersten Anfängen im griechischen Altertum bis in die Neuzeit gegeben hätte. Dieser äußerst interessanten Aufgabe hat sich Erik Nordenskiöld unterzogen und sie in so vortrefflicher Weise gelöst, daß es aufs lebhafteste zu begrüßen ist, daß G. Schneider durch seine Uebersetzung ins Deutsche das Werk einem größeren Leserkreis zugänglich gemacht hat.

Der Verf. hat es mit seiner Aufgabe nicht leicht genommen; er hat nicht nur die wichtigsten Erscheinungen einer über fast 2½ Jahrtausende sich erstreckenden Literatur selbst eingehend studiert, sondern ist auch, abermals auf Grund eigener Studien, den Zusammenhängen nachgegangen, die sich zwischen der Biologie einerseits und den gleichzeitigen geistigen Strömungen andererseits ergeben. Unter ihnen spielen die vielfach sich aufs heftigste bekämpfenden philosophischen, kirchlichen und politischen Anschauungen eine wichtige Rolle. . . .

Entsprechend dem Gesamtcharakter des Werkes verzichtet der Verf. darauf, eine trockene Aufzählung der wichtigsten Leistungen zu geben, vielmehr ist er bestrebt, überall den geistigen Zusammenhang der Forschungen herauszuarbeiten und von diesem Gesichtspunkt aus die historische Stellung der einzelnen Forscher zu bewerten. Dabei läßt sich nicht vermeiden, daß der Darstellung ein subjektives Moment beigefügt ist, welches dem gesamten Werk zum Vorteil gereicht, im einzelnen jedoch den Verf. öfters mit den herrschenden Auffassungen in Widerstreit bringt. . . . Wer den ungeheuren Umfang der modernen biologischen Literatur kennt, wird dem Verf. Dank wissen für das viele Vortreffliche, was sein Werk bietet. Richard Hertwig, München.

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

(From the Strangeways Research Laboratory, Cambridge.)

Experimental studies on pigment-formation.

1. The development in vitro of the mesodermal pigment cells of the fowl.

By

P. C. Koller.

With plate 15—17.

Introduction.

B. F. Kaupp in his very useful book the 'Anatomy of the domestic fowl' ('18) states that the black-brown pigment of the fowl sometimes appears in the connective tissue especially in the case of black breeds. This writer describes pigment cells in the connective tissue of the dark-skinned shanks. These cells are of stellate form and give off long, ramifying pseudopodia which often interlace with those of neighbouring cells to form a network. Cells of this type occur in many parts of the body as in the dermis, in the connective tissue surrounding the blood vessels and around the spinal cord.

It was thought that such cells, if cultivated in vitro, would yield interesting material for the study of pigment-formation in living tissue. Up to the present most of the detailed observation on pigment-formation in vitro have been made on epithelial tissue such as the iris and retina (Luna '17, Smith '20, Kapel '29) though the choroid has also been studied to some extent (Smith '20, Luna '20). The present investigation had two main objects — (a) to study the early development of the connective tissue pigment

cells with special reference to the origin and mode of formation of the pigment granules and (b) to determine whether the pigment cells could develop in medium derived from fowls of non-pigmented breed.

Material and methods.

Black and white Leghorn embryos of 3—5 days' incubation and a few dark hybrid embryos were employed. The notochord and its adjacent mesoderm were dissected out and cut into fragments suitable for explantation.

Tissue-extract was made from 8—10 days old embryos of either the black or white Leghorn breed using Pannett and Compton's saline. Blood plasma was also obtained from both breeds.

The cultures were made by the hanging drop method on $1\frac{1}{4}$ inch square coverglasses over 3 in. \times $1\frac{1}{2}$ in. hollow-ground slides. These larger coverslips and slides were found more satisfactory than the smaller size as they necessitated less frequent changing and consequent disturbance of the tissue.

It was found best to change the tissue to fresh medium not later than 48 hours after the original explantation. Subsequent subcultures, however, were made at intervals of 3—5 days. Cultures were maintained up to five or six passages by which time the pigment cells had completed their development.

Observations were made on living cultures by means of a microscope kept at body temperature.

Cultures were vitally stained with neutral red by explanting the tissue into medium, the embryo extract of which contained 0.05% neutral red.

Some of the specimens were fixed in acetic alcohol, stained with very dilute Delafield's haematoxylin, differentiated in acid alcohol and then dehydrated, cleared and mounted in Canada balsam.

Observations on the living cells.

When the tissue was first explanted no pigment cells were present. If the cultures were made from 4-day embryos pigment cells appeared in the first passage, 36—48 hours after explantation, but if 3-day embryos were used the pigment cells were not distinguishable until the 2nd. or 3rd. passage and developed more slowly than in the case of the 4-day tissue. It was therefore easier to study the early development of the pigment cells in the explants of 3-day than in those of 4-day mesoderm.

In their earliest stages the pigment cells resembled fibroblasts and were not always easy to distinguish from the mesenchyme cells among which they were scattered. They were elongated and contained a more or less oval nucleus with one or two nucleoli. In the cytoplasm, especially in the neighbourhood of the nucleus, small, colourless granules were seen which were rather more refractile than the surrounding cytoplasm. When the culture-medium contained neutral red these granules were stained pink and were much more conspicuous. They increased rapidly in number and at the same time some of them began to assume a yellowish tinge. Sometimes 3—5 granules would collect in a small group and it was often found that the granules which emerged from the group a few seconds later were more numerous than those which had entered it. How this multiplication of the granules was effected was not clear but they appeared to arise from the cytoplasm.

The next phase in the development of the pigment cells (Fig. 1 and 2) which usually occupied a period of 8—10 hours following the first appearance of the granules, was characterised by two changes in the appearance of the cells. In the first place the cytoplasmic granules described above gradually became coloured; the granules of an individual cell did not darken simultaneously and usually ranged in shade from pale yellow to deep brown. In the second place the cell altered its shape. The relatively simple, fibroblast-like outline was lost and long, branched arms of cytoplasm containing pigment granules were thrown out from the main body of the cell in various directions. The shape and distribution of these arms were continually changing owing to the active amoeboid movement of the cell. It was interesting to observe the formation of a new pseudopodium. Pigment granules assembled in a group at some point near the surface of the cell, a bud of cytoplasm then appeared at this point and gradually elongated whilst the group of pigment granules dispersed and streamed out into the new branch; the base of the newly formed branch was always found to be clear of granules. When pseudopodia were retracted the granules streamed back into the cell body which accordingly became darker in colour. In some cases very long, thin processes were formed which occasionally became detached from the cell. Such detached fragments degenerated and liberated the pigment granules into the medium.

In cultures made from 4 or 5-day embryos most of the cells contained pigment in the form of granules but cells were sometimes

encountered (Figs. 2 and 3) which showed pigment in both granular and rod-shaped form. The origin of the rod-like pigment was not entirely clear. In young pigment cells it was not uncommon to find 2—3 colourless (never coloured) granules adhering to each other in a line; it is possible that these short strings of granules subsequently formed rods. If the cultures were made from 3-day embryos, on the other hand, the pigment usually developed as rods rather than as granules; the reason for this is at present obscure. In these cases the brown rods were clearly preceded by colourless rods but whether the latter were formed by linear fusion of smaller granules could not be determined.

The pigment granules and rods continued to darken and increased in size, and number (Figs. 1c. and d.). In some cases an aggregation of pigment rods was formed which moved about the cell as a single unit (Fig. 8).

The intracellular movements of the granules and rods of pigment were most curious and interesting to watch. The pigment moved with a quick, jerky motion to and from the periphery or round the nucleus. Sometimes an individual rod or granule would collide with another whereupon its course would be immediately deflected. When a new pseudopodium was protruded the pigment which, as previously described, always aggregated near the future site of a new branch, would pass into the cytoplasmic process with a sudden jerk, perhaps go a short distance, then pause and again move onwards. When the cultures were exposed to strong light for 10—20 minutes their movements appeared to be accelerated — a phenomenon also observed by Smith ('20) in the case of the epithelial pigment cells.

Sometimes the pigment cells degenerated (Fig. 9). The cytoplasm in such cases appeared crowded with pigment often in the form of large aggregations of granules. The branched pseudopodia were withdrawn and amoeboid movement practically ceased. The cell usually became spindle-shaped with long, tapering ends and eventually rounded up and disintegrated.

Mitosis was observed among the pigment cells of the writer's cultures. Metaphase was only occasionally encountered but a few cells in anaphase and several in telophase (Fig. 10) were seen.

When pigment cells broke down and liberated their dark brown rods and granules the latter were usually ingested by macrophages and also less markedly by the neighbouring fibroblasts (Fig. 11). Such pigment-carrying cells were similar to those described by

Smith ('20, '21) and were easily distinguishable from the true pigment-forming cells.

The cultivation *in vitro* of black and white Leghorn embryonic connective tissue in culture medium derived from (a) black Leghorn and (b) white Leghorn fowls.

Experiment 1. Cultures of the notochord and surrounding tissue from 5-day black Leghorn embryos were explanted in plasma and embryo extract from black Leghorn fowls, whilst similar cultures were made in plasma and embryo extract from white Leghorns. Two precisely similar series of cultures were made with tissue from 5-day white Leghorn embryos. In all four series of cultures the eyes of the embryos from which extract was made were included in the minced tissue.

It was found that branched pigment cells developed equally well in both series of cultures of black Leghorn tissue and failed to do so in either set of cultures of white Leghorn mesoderm. In the cultures made from white Leghorn embryos, however, pigment rods were found in many of the fibroblasts and macrophages but the appearance of these pigment-containing cells was totally different from that of the typical branched pigment-forming cells seen in the cultures of black Leghorn tissue. As large numbers of pigment rods were lying freely in the medium it seemed highly probable that the rods present in the cells had been phagocytosed and that the presence of the pigment in the culture medium was due to the non-removal of the eyes from the embryos from which extract was made. To test this view the following experiment was made.

Experiment 2. Cultures of the notochord and adjacent tissue from 4-day black Leghorn embryos were explanted in plasma and extract from white Leghorns. Similar cultures were made from 4-day white Leghorn embryos. The eyes were removed from the embryos from which extract was obtained.

As before branched pigment cells developed only in the cultures made from black Leghorn tissue and failed to do so in the white Leghorn explants. There was no trace of pigment either in the cells or in the medium of the white Leghorn cultures thus showing that the pigment found in the previous experiment was due to the presence of retinal pigment in the embryo extract.

Experiment 3. In order to determine whether pigment cells would develop from very early black Leghorn mesoderm when cultivated in medium derived from white Leghorn fowls explants of the

notochord and surrounding mesoderm from 3-day black Leghorn embryos were explanted in white Leghorn plasma and extract.

After 2—3 days' cultivation typical branched pigment cells began to appear.

Discussion.

Branched, stellate pigment cells have frequently been described in the lower vertebrates especially in the Amphibia. Schmidt ('19) observed pigment cells in the Frog *in vivo*, Holmes ('20) studied these *in vitro* and Hogben and Winton ('22, '23) made various experiments on the behaviour of the frog melanophores. These amphibian pigment cells, however, are of epithelial origin and differ markedly in both appearance and behaviour from the pigment cells of fowl connective tissue. The amphibian pigment cells as figured by Hogben and Winton have a round central body from which radiate numerous branched pseudopodia and are much more regular and uniform in shape than the mesodermal pigment cells of the fowl. Moreover, although the pigment of the frog melanophores may show fairly rapid, wholesale retraction or expansion in response to certain physiological conditions, the cells do not exhibit the constant amoeboid movement so characteristic of the fowl pigment cells.

In many respects the mesodermal pigment cells of the fowl also differed profoundly from the epithelial pigment of the retina and iris. When explanted *in vitro* the epithelial pigment grows as a continuous sheet, the cells of which are square or polyhedral and show little or no amoeboid movement thus contrasting strongly with the scattered, highly branched and actively amoeboid mesodermal pigment cells. The development of pigment was found to take place *in vitro* more rapidly in the connective tissue pigment cells than in the epithelial pigment cells. According to Smith ('20) dark brown pigment rods did not appear in explants of 42 hour embryonic eyes until after 60 hours cultivation *in vitro*, although grey and colourless granules preceding pigment were already present at the time of explantation. In the present writer's cultures of mesoderm from 60 hour embryos in which no sign of pigment was present, pigment cells containing grey and colourless granules appeared after 48 hours growth and it required only 10—20 hours further incubation for these cells to become filled with dark brown rods and granules.

Although in shape and behaviour the epithelial and connective tissue pigment cells are so different, the appearance and behaviour

of the actual pigment are almost identical in both types of cell. In Smith's epithelial cultures the pigment was in the form of either spherical granules or stout rods precisely as in the writer's mesodermal cultures and moved about the cytoplasm in the same curious, jerky manner.

Since the appearance of the pigment is so similar in the mesodermal and epithelial pigment cells it might be expected that it was of the same nature and therefore formed in the same way in both types of tissue. Smith ('20) describes the pigment rods and granules as being formed from colourless granules which regards as distinct from mitochondria since in the same cell the granules stained with neutral red whilst the mitochondria showed affinity for the Janus green. Smith also noted that the granules appeared throughout the cytoplasm and not only near the nucleus where mitochondria were usually aggregated — a fact also observed by Luna ('17). Pigment formation in epithelium as recorded by Smith and others thus appears to correspond almost exactly with pigment formation in the mesodermal pigment cells described in the present communication, i.e. it develops from colourless granules which appear throughout the cytoplasm and are distinct from mitochondria. The writer has been unable to find any evidence of a nuclear origin of the pigment granules, as described by Szily ('11) in the eye and the melanotic sarcomata. Pigment granules sometimes traversed the film of cytoplasm covering the nucleus and thus temporarily appeared to be within the nucleus but careful focussing showed that such was not the case.

The fact that the mesodermal pigment cells of black Leghorn embryos were able to develop in a culture medium obtained from white Leghorn fowls, in which such pigment cells are absent, is of interest. Breeding experiments have shown that the white Leghorn is dominant to the black Leghorn so that the offspring of a first cross between the two breeds are white; all the hybrid chickens however carry the factor for black in their genetical constitution but owing to the dominance of the white this factor is latent, Danforth and Foster ('27) have demonstrated however, that if skin from a black Leghorn fowl is transplanted into a white Leghorn fowl, pigment formation is not inhibited. They suggest therefore, that there is „no special endocrine“ in the white Leghorn inhibitory to pigment-formation. The present writer's results appear to support this view, but further investigations are in progress with reference to this point.

The writer wishes to express his indebtedness to the Medical Research Council by whom the expenses of the investigation were, in part, defrayed.

Summary.

1. Branched pigment cells occur in the connective tissue of fowls of dark breeds.

2. These cells appeared in explants of 3-days embryonic mesoderm after 24—36 hours cultivation *in vitro*.

3. All stages in the development of these cells were observed in the living cultures.

4. The pigment occurred *in vitro* as either granules or rods and was formed from originally colourless cytoplasmic granules which stained *intra vitam* with neutral red. The transformation *in vitro* of the colourless granules into dark brown pigment occupied 8—10 hours.

5. The pigment cells of the connective tissue differed from those of the retina in their active amoeboid movement, scattered distribution and more rapid development *in vitro*.

6. Pigment cells developed in explants of black Leghorn mesoderm even when cultivated in white Leghorn embryo extract and plasma. Pigment cells never developed in explants of white Leghorn mesoderm even when cultivated in black Leghorn embryo extract and plasma.

Literature.

- Asvadourova, MII, Formation de quelques cellules pigmentaires et des pigments. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 1, S. 15, 1913.
- Danforth, C. H., and Foster, Fr., Skin transplantation as means of analyzing factors in production on growth of feathers. *Proc. of the Soc. for. Exp. Biol. and Med.*, Vol. 25, p. 75—77, 1927.
- Hogben, L. T., and Winton, F. R., The pigmentary effector system, II and III. *Proc. Roy. Soc.*, Vol. 94 and 95, 1922—23.
- Kapel, O., Einige Untersuchungen über das Verhalten des Epithels *in vitro*. *Arch. f. exp. Zellforsch.*, Bd. 8, S. 35, 1929.
- Kaupp, B. T., Anatomy of the domestic fowl. 1918, p. 314—17.
- Luna, Note cytologica sulle epithelio pigmentato della retina coltivato *in vitro*. *Arch. Ital. d. Anat. et Embryol.*, Vol. 15, p. 215, 1917.
- Studio sulle cellule pigmentato della corioide coltivate *in vitro*. *Ibid.*, Vol. 18, 1920.
- Schmidt, W., Einige Versuche mit Blochs Dopa an Amphibienhaut. *Dermat. Zeitschr.*, Bd. 27, 1919.

- Smith, D. T., The pigmented epithelium of the embryo chick eye studied in vivo and in vitro. *John Hopkins Hosp. Bull.*, Vol. 31, p. 239, 1920.
- The ingestion of melanin pigment granules by tissue culture cells grown from the embryonic chick in Locke-Lewis solution. *Anat. Record*, Vol. 21, p. 87, 1920.
- The ingestion of melanin pigment granules by tissue cultures. *John Hopkins Hosp. Bull.*, Vol. 32, 1921.
- Szily, A., Über die Entstehung des melanotischen Pigments im Auge der Wirbeltierembryonen und in Chorioideasarkom. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 76, 1911.

Description of plates.

All the microphotographs were made from specimens from the same series of cultures, fixed and stained at the same time.

ag. aggregation of pigment granules.

p.c. pigment cell.

p.p. phagocytosed pigment rods.

Plate 15.

Fig. 1. Series of freehand drawings of a living pigment cell in its earliest stages of development. Note the increasingly branched appearance of the cytoplasm and the gradual darkening of the cytoplasmic granules (explant from 3-day embryo after 62 hours' cultivation in vitro; 2nd passage).

Plate 16.

Fig. 2. Microphotograph ($\times 650$) showing early pigment cells containing relatively few pigment granules (explant from 4-day black Leghorn embryo after 2 days' cultivation in vitro; 1st passage).

Fig. 3. Microphotograph ($\times 1000$) showing a pigment cell in which the pigment is mostly rod-shaped.

Fig. 4. Microphotograph ($\times 1000$) of a pigment cell containing both rods and granules of pigment.

Fig. 5. Microphotograph ($\times 170$) showing a large group of branched pigment cells all of which had developed during cultivation in vitro.

Fig. 6. Microphotograph ($\times 650$) showing two pairs of pigment cells in close proximity. These cells possibly represent the product of two mitoses.

Plate 17.

Fig. 7. Microphotograph ($\times 1000$) of a much branched pigment cell.

Fig. 8. Microphotograph ($\times 1000$) of two pigment cells containing several aggregations of pigment granules as well as discrete rods and granules.

Fig. 9. Microphotograph ($\times 650$) showing degenerate pigment cells. The elongated cell on the right has lost its long branched arms whilst the three cells on the left have rounded up.

Fig. 10. Freehand drawings of a pigment cell in late telophase. After an interval of 15 minutes the cells had almost separated and had begun to put out the characteristic branched pseudopodia (explant from 3-day embryo after 14 days' cultivation in vitro; 4th passage).

Fig. 11. Microphotograph ($\times 650$) showing true pigment cells surrounded by cells containing phagocytosed pigment rods.



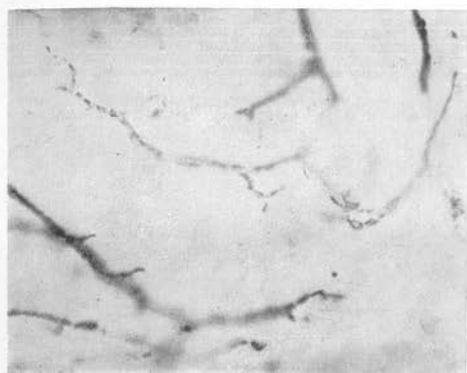


Abb. 2



Abb. 6

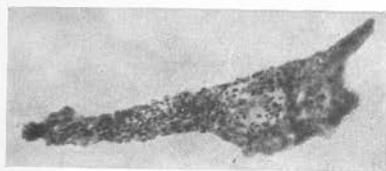


Abb. 3

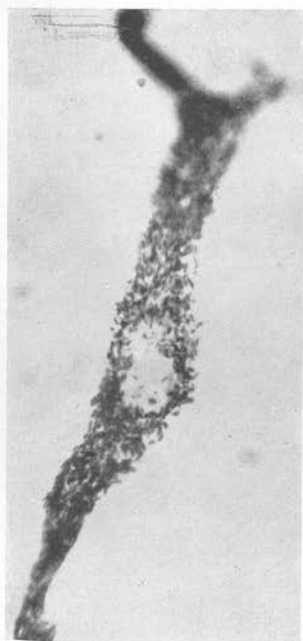


Abb. 4



Abb. 5

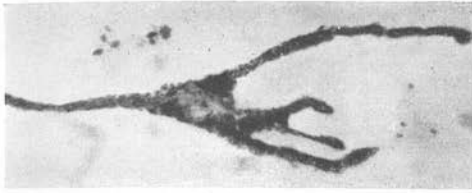


Abb. 7

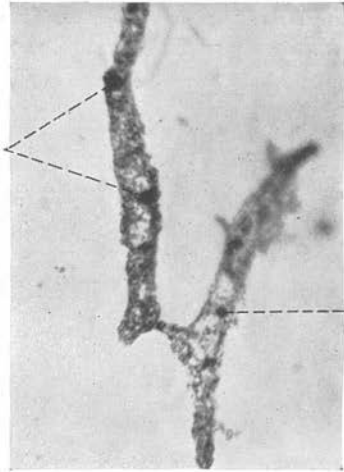


Abb. 8

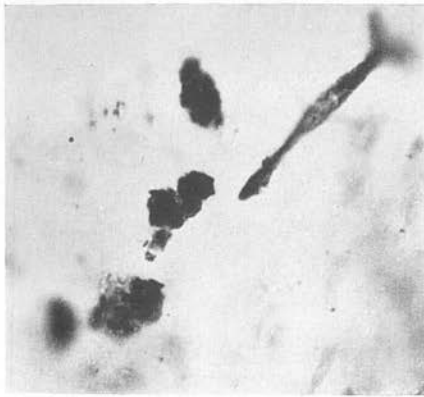


Abb. 9

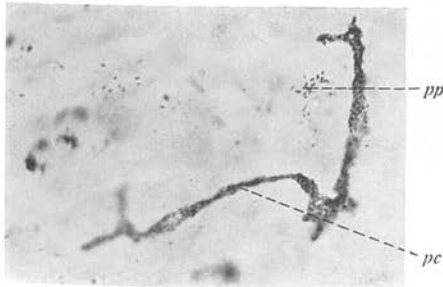


Abb. 11



Abb. 10a

Abb. 10b

Lehrbuch der Protozoenkunde

Eine Darstellung der Naturgeschichte der Protozoen
mit besonderer Berücksichtigung der parasitischen
und pathogenen Formen

Begründet von

Franz Doflein

neubearbeitet von

Prof. Dr. Eduard Reichenow

Abteilungsvorsteher am Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg

Fünfte Auflage

I. Teil (= S. 1—436): **Allgemeine Naturgeschichte der Protozoen.** Mit Abbild. 1—388. 1927 Rmk 21.—

Inhalt: Einleitung. — I. *Allgemeine Morphologie und Physiologie der Protozoen*: 1. Die Protozoen als Zellkörper. 2. Stützsubstanzen und Skelettbildungen. 3. Bewegung. 4. Stoffwechsel. 5. Reizerscheinungen. / II. *Fortpflanzung und Entwicklung*: 1. Vermehrung. 2. Sexualität. 3. Entwicklungsgeschichte. / III. *Oekologie*: Vorkommen und geographische Verbreitung der Protozoen. Meeres-, Süßwasser- und Bodenprotozoen. Parasitische Protozoen. Die Parasiten der Protozoen. / IV. *Technik der Protozoenuntersuchung*. a) Künstliche Züchtung freilebender Protozoen, von Darmprotozoen und Blutparasiten. b) Untersuchungsmethoden. —

II. Teil (= S. 437—864): **Spezielle Naturgeschichte der Protozoen.** Erste Hälfte: *Plasmodroma*: 1. Mastigophora (Flagellaten oder Geißelinfusorien) 2. Rhizopoda. Mit Abbild. 389—823. 1928 Rmk 22.—

Soeben erschien:

II. Teil (= S. 865—1262): **Spezielle Naturgeschichte der Protozoen.** Zweite Hälfte. *Plasmodroma*: 3. Sporozoa. / *Ciliophora*: 1. Ciliata. 2. Suctorina. — Sachregister. Mit Abbild. 824—1201. 1929 Rmk 21.—

Einbanddecke (in Halbleder) für das ganze Werk: Rmk 4.50

Preis des vollständigen Werkes: Rmk 64.—, in Halbleder geb. 70.—

In dem Jahrzehnt, das seit dem Erscheinen der 4. Auflage vergangen ist, hat sich die Forschung auf dem Gebiet der Protozoenkunde ungemein fruchtbar erwiesen; viele neue Tatsachen sind bekannt geworden und manche theoretischen Fragen haben ein anderes Aussehen erhalten. Um diesen Fortschritten gerecht zu werden, ohne den äußeren Umfang des Lehrbuches weiter anwachsen zu lassen, war eine

völlige Neuordnung des Stoffes und vielfach eine gedrängtere Darstellung erforderlich; insbesondere wurden Morphologie und Physiologie der Protozoen zusammen behandelt, wodurch zahlreiche Wiederholungen vermieden worden sind und die Uebersichtlichkeit sicherlich gewonnen hat.

Wenn infolgedessen von dem Text der vorigen Auflage nur wenige Bruchstücke unverändert erhalten bleiben konnten, so war der Bearbeiter doch bestrebt, dem Buch im ganzen den Charakter zu wahren, der ihm von Doflein bestimmt worden war: es soll nicht nur dem Lernenden eine Einführung in das Gesamtgebiet der Protozoenkunde unter besonderer Berücksichtigung der Parasiten geben, sondern es soll in dem Maße, wie dies im Rahmen eines Lehrbuches möglich ist, weit genug in die Einzelheiten gehen, um auch dem Forscher bei Spezialuntersuchungen die ersten Hinweise bieten zu können und ihm das Auffinden der einschlägigen Literatur zu erleichtern. Mehrere hundert Abbildungen wurden neu aufgenommen. Der Raum hierfür wurde zum großen Teil gewonnen durch Ausscheiden veralteter Bilder und durch fast völliges Vermeiden der Wiederholung der gleichen Figur.



Zentralbl. f. d. ges. Hygiene. Bd. 17, Heft 6: . . . Der jetzige Herausgeber, F. Reichenow, kann allseitigen Dankes gewiß sein, daß er die heikle Aufgabe übernommen hat, die Neuauflage zu besorgen, über der der Schöpfer des Werkes verstarb. . . Die Verarbeitung neuerer Anschauungen brachte es mit sich, daß die neue Auflage vielfach ganz als eine persönliche Schöpfung des Herausgebers erscheint und als solche zu werten ist. Der neue „Doflein“ ist dadurch wieder zu einer wirklich zeitgemäßen Einführung in das Gesamtgebiet der Protozoenkunde geworden, die allen fachlich interessierten Kreisen unentbehrlich sein wird wie bisher. Ausstattung und Druck des Werkes sind meisterhaft wie in den früheren Auflagen.

F. W. Bach.

Archiv f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. 32, Heft 5: Der „Doflein“ war jahrzehntelang das maßgebende Lehrbuch und Nachschlagewerk, das auch im Ausland viel als Quelle benutzt wurde. . . Der „Doflein“ wird sich auch als „Doflein-Reichenow“ bald wieder allgemein einbürgern, um so mehr, als der Verlag sich durch überaus bescheidene Preisgestaltung auszeichnet.

M. Mayer.

Deutsche med. Wochenschrift. 1928, Heft 7: . . . Der Verfasser hat es in vorzüglicher Weise verstanden, die Brücke zwischen Zoologie und Medizin herzustellen. Für eigene Forschung dient eine Einführung in die Methodik und ein gut ausgewähltes Literaturverzeichnis. Die neue Auflage ist entsprechend den Fortschritten der Wissenschaft im letzten Jahrzehnt gänzlich umgearbeitet; der Preis ist im Verhältnis zum Gebotenen, namentlich auch an Abbildungen, recht niedrig zu nennen.

Kisskalt, München.

Münchener med. Wochenschrift. 1928, Heft 8: . . . eine große Menge neuer, gut ausgewählter und ausgezeichnet reproduzierter Abbildungen unterstützen das Gesagte ganz wesentlich und werden zum Verständnis des komplizierten morphologischen Aufbaues und der physiologischen Einrichtungen der Protozoen außerordentlich beitragen. Das Lehrbuch ist zur Einführung in die Protozoenkunde ausgezeichnet geeignet und wird viele Freunde finden.

R. O. Neumann, Hamburg.

Centralblatt f. allgemeine Pathologie. 1928, Bd. 42, Heft 3: . . . Die klare Darstellung und übersichtliche Gliederung des umfangreichen Stoffes gibt dem vorliegenden Teil des Lehrbuches der Protozoenkunde eine besondere Prägung. Für den Zoologen und Biologen, wie für den Mediziner, insonderheit den pathologischen Anatomen ist das Buch nicht allein ein Leitfadens- und Nachschlagewerk; durch Vermittlung der notwendigsten Kenntnisse über die Morphologie und Physiologie der Protozoen bildet es eine unentbehrliche Grundlage jeder experimentellen Untersuchung über die Pathologie der Zelle, die gerade an den leicht zugänglichen lebenden Einzellern von besonderer Bedeutung sind.

Danisch, Jena.

2

ON PIGMENT FORMATION IN THE D-BLACK RABBIT

BY

DR P. KOLLER

FROM JOURNAL OF GENETICS, VOL. xxii, No. 1, APRIL, 1930



CAMBRIDGE
AT THE UNIVERSITY PRESS

PRINTED IN GREAT BRITAIN



[All rights reserved]

ON PIGMENT FORMATION IN THE D-BLACK RABBIT.

BY DR P. KOLLER.

(From the Biochemical Laboratory and the
Animal Breeding Station, Cambridge.)

THE mechanism of the origin and formation of pigment has been elucidated by the work of Bertrand (1908), Chodat (1912) and others. They all agree that colour in animals and plants is produced by the action of a ferment or oxidase substance on a colourless chromogen. Von Fürth (1904), Gortner (1911), Przibram, Dembowsky and Breecher (1915), Schultz (1925) and other researchers have demonstrated that the presence of an oxidase (tyrosinase) in the coloured tissues of animals and plants is a *conditio sine qua non* of pigment formation. L. Kaufmann (1923), for example, was able by injection of tyrosinase artificially to supply this oxidase and obtained the formation of melanin pigment.

Our present knowledge of the chemical basis of pigment formation allows us to use the chemical test for genetical analysis. In this connection the work of Onslow (1915) is of special interest. He demonstrated that chemical differences could be found between the two different types of white-coat colour in rabbits and mice, which correspond to differences in their genetic behaviour. In the dominant white coat the pigment-forming mechanism is present, but its action is inhibited by specific "inhibitor" substance. In the recessive white or albino, there is no inhibitor but the pigment-forming mechanism is incomplete.

Onslow used in his experiments the skin of recessive and dominant whites and of recessive black animals, as well as the chocolate form of the latter. He did not extend his work to dominant black, called by Punnett (1913, 1915) D-black, which is dominant to agouti, towards which the normal black is recessive. Our problem was to find out whether, an underlying chemical difference could be found corresponding to the different genetic behaviour of dominant black.

METHODS.

In the light of the more recent literature on oxidases and pigment formation (Schultz, 1925) Onslow's method with tyrosinase and peroxide seemed to be inadequate, and it appeared preferable to follow Bloch

(1917, 1924) in replacing these reagents with "Dopa" (1-3, 4, dioxyphenylalanine).

As experimental animals 2-3 day old rabbits were used. The skin was carefully separated and freed from adherent connective tissue and blood vessels, washed with distilled water and rinsed and dried with a cloth. It was then cut into pieces and ground up in a mortar with pure sand which had been previously wetted with a few drops of water. The pulp was placed in a cloth and pressed out in a press. The juice was separated from solid particles by centrifuging. As material for dominant white or inhibitor, we used the belly of agouti and the white parts of English rabbits.

The extracts of skin were divided into equal parts, which were placed in wetted china plates. In three of the extracts a small quantity of solid finely powdered Dopa was suspended. To one of these portions with Dopa a few drops of the extract of white skin from English rabbit or agouti belly was added. To another we added an equal amount of water to test the effect of dilution by water as compared with the effect of dilution by inhibitor extract.

The china plate was placed in a big Petri dish into which also wet cotton-wool was placed. The dish was covered and placed in a thermostat at 37° C. for 4 hours. Then the dish was kept for 8 hours at room temperature and the results noted. The extract of coloured skin alone (used as control) does not change its colour in this time, while the same with Dopa changes to a very deep black-brown colour.

DESCRIPTION OF EXPERIMENTS.

The following breeds were used as experimental material: (1) agouti; (2) recessive black; (3) dominant or D-black; (4) dominant white (homozyg. English rabbit); (5) recessive white or albino; (6) chocolate or dilute black; (7) agouti-Dutch.

1. *Extract of agouti skin.*

Extracts were prepared from the coloured coat of agouti and as inhibitor the extracts from the belly of the same agouti was used.

Extract	Reaction
<i>E</i>	-
<i>E</i> + Dopa	++
<i>E</i> + Dopa + H ₂ O	±±
<i>E</i> + Dopa + inhibitor	-

E = extract from coloured skin.

+ = positive reaction; formation of a precipitate of black colour.

- = negative reaction; no change in colour.

The reaction with Dopa and water was not so strongly positive as with Dopa alone, the water causing a dilution of precipitate colour. The result, however, shows that the agouti coat has all the factors for pigment formation, whereas the belly has in addition an inhibitor enzyme.

2. *Extract of recessive black skin.*

Extract	Reaction
<i>E</i>	-
<i>E</i> + Dopa	++
<i>E</i> + Dopa + H ₂ O	±±
<i>E</i> + Dopa + inhibitor	-

Two kinds of inhibitor were used: one was the agouti belly, in which case a negative reaction was observed. In crosses of agouti and recessive black the F_1 offspring have the dominant white belly. Similarly if we used the extract of dominant white as inhibitor, the reaction was again negative. In crosses of recessive black and dominant white the F_1 offspring are all white.

3. *Extract of dominant or D-black skin.*

Extract	Reaction
<i>E</i>	-
<i>E</i> + Dopa	+++
<i>E</i> + Dopa + H ₂ O	++
<i>E</i> + Dopa + inhibitor	++

The above result shows that the inhibitor (from agouti belly and dominant white) could not prevent pigment formation. Punnett (1915) suggests that in the D-black rabbit there is present an inhibitor enzyme which itself inhibits the action of the inhibitor from agouti belly and dominant white. Therefore when he crossed agouti with D-black in F_1 generation the white belly did not appear and the offspring were all black. In this case the chemical observation is in full agreement with the genetic behaviour.

4. *Extract of dominant white skin.*

Extract	Reaction
<i>E</i>	-
<i>E</i> + Dopa	-
<i>E</i> + Dopa + H ₂ O	-
<i>E</i> + Dopa + inhibitor	-

In order to test more exactly where lies the cause of pigment inhibition, extract from dominant white was used with Dopa. The result in every case was negative, except when the extract was boiled for a few minutes, when a melanin precipitation was observed. It is suggested that

in that case the effect of inhibitor is destroyed by heat and the other components of the extract can, when combined with Dopa, produce pigment.

5. *Extract of recessive white skin.*

	Extract	Reaction
<i>E</i>	-
<i>E</i> + Dopa	-
<i>E</i> + Dopa + H ₂ O	-
<i>E</i> + Dopa + inhibitor		-

Dopa cannot produce pigment in recessive white extract and even if we boil the extract the reaction remains negative. But if the extract from recessive black is added a positive reaction appears, because the lacking member of the pigment-forming series is supplied. If we cross, for example, albino (recessive white) with recessive black, the F_1 generation is black, because from the black parent the entire pigmentary system is introduced.

6. *Extract of chocolate skin.*

	Extract	Reaction
<i>E</i>	-
<i>E</i> + Dopa	++
<i>E</i> + Dopa + H ₂ O	+
<i>E</i> + Dopa + inhibitor		-

The chocolate is a dilute black; in crossing its fate is the same. If we cross it with agouti, the white belly of the latter, which contains the inhibitor, will appear in F_1 .

7. *Extract of agouti-Dutch rabbit's skin.*

Three kinds of extract were made: E_1 , from the agouti coat; E_2 , from the white part of coat; E_3 , from the belly.

E_1 behaved in the same way as the agouti; *i.e.* with Dopa it gave a positive reaction. E_2 with Dopa did not give a melanin precipitation and this extract could not prevent pigment formation. E_3 had the same effect as the inhibitor from agouti. In crosses the behaviour of the white part is the same as that of recessive white, which shows that it lacks one member of the pigment-forming system.

RESULTS.

1. Extracts from the coloured coat of agouti, recessive black, chocolate and agouti-Dutch give strong melanin formation with Dopa.

2. Extracts from dominant white skin (belly of agouti, white parts of English rabbit) do not form melanin on addition of Dopa. If added to the extracts of the coat of coloured rabbits mentioned under (1), such an extract completely inhibits pigment-formation.

The Journal of Genetics is a periodical for the publication of records of original research in Heredity, Variation and allied subjects. The Journal will also, from time to time, contain articles summarising the existing state of knowledge in the various branches of Genetics, but reviews and abstracts of work published elsewhere will not, as a rule, be included. It will be issued in parts as material accumulates, and a volume will consist of three such parts.

Volumes I—XX (1910—29). Quotations can be given for such of the back volumes and parts as are still in print, as well as for supplying binding cases and for binding subscribers' sets.

Papers for publication may be sent to Professor PUNNETT, Whittingehame Lodge, Cambridge. Other communications should be addressed to the University Press, Cambridge.

Papers forwarded to the Editors for publication are understood to be offered to *The Journal of Genetics* alone, unless the contrary is stated.

Contributors will receive 50 separate copies of their papers free. A further 50 may be had at cost price: these should be ordered when the final proof is returned.

The Subscription price for a volume is 42s. net (post free) payable in advance; separate parts 15s. net each. Subscriptions may be sent to any bookseller, or to The Cambridge University Press, Fetter Lane, London, E.C. 4.

The Cambridge University Press has appointed the University of Chicago Press agents for the sale of the *Journal of Genetics* in the United States of America, and has authorised them to charge the following prices:—Annual subscription, \$10.00 net; single copies, \$3.50 net each.

3

FURTHER STUDIES IN *TRADESCANTIA*
VIRGINIANA VAR. *HUMILIS* AND
RHOEO DISCOLOR

BY
P. CH. KOLLER

FROM JOURNAL OF GENETICS, Vol. xxvi. No. 1,
pp. 81-96, JULY, 1932



CAMBRIDGE
AT THE UNIVERSITY PRESS

PRINTED IN GREAT BRITAIN



Drawings were made with a Zeiss camera lucida. The *Tradescantia* drawings were made with a 1.3 mm. objective and a $\times 30$ eyepiece at a magnification of ca. 5500. For the *Rhoeo* drawings a 1.5 mm. objective (n.a. 1.3) was used giving a magnification of 6300.

The author is indebted to Mr La Cour for the preparations.

I. OBSERVATIONS ON *TRADESCANTIA VIRGINIANA* VAR.
HUMILIS.

Behaviour of chromosomes during meiosis.

The study of the earlier stages in *Tradescantia* was not possible; however, the fact that most of the chromosomes are attached by terminal chiasmata in first metaphase indicates that terminalisation is extensive in this species. Terminalisation is the movement of the chiasmata formed at diplotene away from the attachment constrictions to the ends of the chromosomes. The observations of triple and quadruple terminal chiasmata show that the formation of chiasmata between more than 2 chromosomes does not of itself interfere with terminalisation.

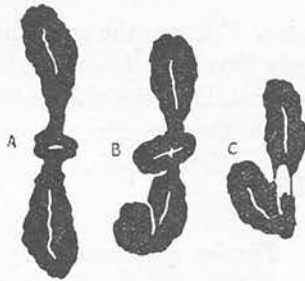
In species with structural changes in the chromosomes leading to pairing of unequal chromosomes or of a middle segment of one chromosome with the end of another, terminalisation obviously can only be complete for one partner resulting in the formation of a terminal-lateral chiasma (Text-fig. 1 C). The latter type of chiasma was observed by Darlington (1929); the present study has revealed the occurrence of the former.

The observations of terminalisation in *Campanula* (Gairdner and Darlington, 1931), in diploid and tetraploid *Primula sinensis* (Darlington, 1931 a), in *Rosa* (Erlanson, 1931) and in *Matthiola* (Philp and Huskins, 1931) indicate that the movement of terminalisation proceeds simultaneously throughout the chromosome complement. The proportion of terminal chiasmata in metaphase is generally a measure of the extent of terminalisation. In *Tr. virg. humilis* terminalisation is usually complete, all the chiasmata in first metaphase being terminal with certain special exceptions.

Occasionally interstitial chiasmata are observed at metaphase. When they occur they seem to be constant in position and of two types; one sub-terminal, the other more median (Text-fig. 1 A, B). It is significant that never more than two interstitial chiasmata were observed in the same nucleus. The occurrence of these interstitial chiasmata in apparently

constant positions in nuclei, which otherwise show complete terminalisation, indicates that they are due to arrest of terminalisation at particular points. It was suggested by Darlington (1929) that such arrest of terminalisation might be caused by a change in the homology of the pairing chromosomes. This suggestion has been supported by the observations of Darlington on *Oenothera* (1931 *c*) and Sansome (1932) on *Pisum* in which known changes in homology were found to check terminalisation.

The change in the homology of the chromosomes might have been produced by segmental interchange between non-homologous chromosomes and by translocation. Such changes must have been common in this species because the behaviour of the chromosomes at meiosis shows it to be a complex structural hybrid. The association of more than four chromosomes, the pairing of the end of one chromosome with the middle of another, the presence of unequal chromosomes and of fragments and



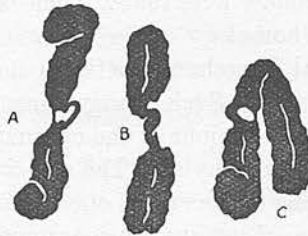
Text-fig. 1. Three metaphase bivalents. *A* and *B* show exceptional interstitial chiasmata, due to arrest of terminalisation; *C* shows a lateral-terminal chiasma. ($\times 2750$.)

their pairing with different parts of whole chromosomes indicate that homologous segments have different positions in different chromosomes. Therefore changes in homology of pairing chromosomes leading to the presence of interstitial chiasmata at metaphase through arrest of terminalisation is to be expected. Even the smallest non-homologous part is probably sufficient to arrest terminalisation.

Pairing of unequal chromosomes.

Pairing has been observed between unequal chromosomes. Sometimes such pairing results in the two chromosomes (chromosomes being used in this sense to mean the two chromatids associated at the attachment constriction) being made up of unequal chromatids (see Text-fig. 2 *A*, *B*, *C*). This condition is a proof of genetical crossing-over on the single assumption that identical chromatids are always associated at the point of attachment. This assumption is based upon genetical data chiefly from

Drosophila (Bridges and Anderson, 1925; Dobzhansky, 1931; Beadle, 1932) and it derives independent support from the fact that splitting of the chromosomes at the attachment is never observed in bivalents before anaphase of the second division. If splitting of the chromosome at the attachment constriction takes place after chiasma formation, identical chromatids, that is chromatids from the same somatic chromosome, must



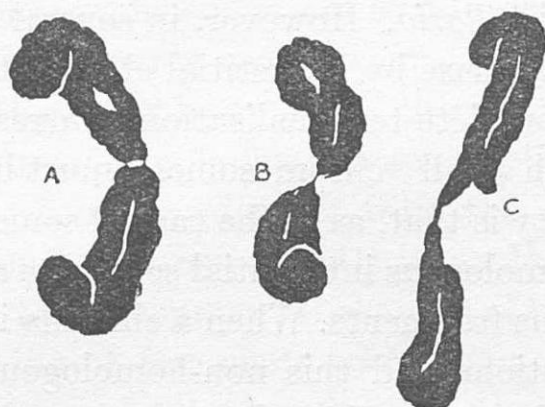
Text-fig. 2. Three metaphase bivalents showing association of unequal chromatids. ($\times 2750$) be associated at that point. If this is the case, the association of two unequal chromatids can only have been brought about by segmental interchange between two chromatids of the unequal chromosomes (crossing-over) at some point between the attachment constriction and the end of the chromosome. *This figure therefore gives cytological evidence of genetic crossing-over.*

Torsion of chromatids.

In the first metaphase some bivalents were observed which seemed to be made up of unequal chromatids due to cytological crossing-over between two unequal chromosomes as described above. However, closer examination revealed that the size disparity is only apparent. The two pairing chromatids of one chromosome are twisted round each other twice at 90° . This results in the twisting *ca.* 180° of the terminal attachments of the pairing chromatids so that two of them are pulled to the opposite side of the other two. The discrepancy in appearance is therefore due to displacement, or change in the position of the chromatids. The force which produces the torsion of the chromatids sometimes breaks the terminal attachment of the two replaced pairing chromatids, resulting in the formation of an imperfect chiasma (Text-figs. 3 *B, C*; 9 *C*; 11 *D*).

Darlington (1932) believes that chromosome contraction in the earlier stages is brought about by a force operating from the attachment constriction. He suggests that the point of attachment may actually spin round, resulting in the twisting of the chromosomes into a spiral which twists in opposite directions on each side of the attachment. The

occasional observed torsion of the chromatids is perhaps caused by a prolongation of the effect of the same force.



Text-fig. 3. *A*, metaphase bivalent with a lacuna in one chromosome; *B* and *C* show torsion of chromatids. ($\times 2750$.)

Morphological change in chromosome.

In one of the bivalent chromosomes (see Text-fig. 3 *A*) at first metaphase a very well-marked gap or lacuna appeared in an interstitial position. A similar case was observed by Darlington (1929) and he explained it by assuming that a structural change had occurred during prophase in the chromosome, and he attempted to correlate the observation with the appearance of new attachment constrictions in the pollen-grain division. The central position of the gap shows that both chromatids must have been involved in the change. The occurrence of lacunae and fragments in the same species perhaps indicates one of the ways in which the latter may originate.

Behaviour of fragments.

Tr. virg. humilis has three fragments. In metaphase configurations the observation of three fragments was sometimes rather difficult, but they were seen in anaphase and their number was proved to be a constant



Text-fig. 4. Fragments. *A*, univalent dividing in first metaphase; *B*, univalent, showing the sub-median attachment; *C*, two fragments associated by an imperfect chiasma; *D*, two fragments paired by two terminal chiasmata; *E* and *F*, paired fragments with an interstitial chiasma. ($\times 2750$.)

three. In their association among themselves and with chromosomes they show a certain variation. Sometimes they are univalents and divide in the first anaphase (Text-fig. 4 *A*, *B*). But the pairing of two of the fragments is quite common (Text-fig. 4 *C*, *D*, *E* and *F*). Their association in metaphase is proof of their partial or total homology.

The fragments are small bodies, therefore terminalisation is expected to be complete and even to be finished sooner than in the other chromosomes, on the analogy of *Fritillaria*. However, in several cases fragments were held together at metaphase by interstitial chiasmata (Text-figs. 4, *E*, *F*; 9 *A*; 11 *A*). The incomplete terminalisation or arrest in the movement of the chiasmata in such small "chromosomes" must be evoked by a special cause. One possibility is that, as in the case of some of the large chromosomes, small non-homologous interstitial segments are present in the two otherwise homologous fragments. When a chiasma is formed between the attachment constrictions and this non-homologous segment its terminalisation is arrested at the point where the homology changes. Careful observation shows that the degree of interstitiality of the chiasmata or the point of arrest of terminalisation is constant.

When a chiasma is formed between the point where the homology changes and the end of the fragment, away from the attachment constriction, terminalisation of course will be complete. Therefore complete terminalisation of chiasmata formed at diplotene does not necessarily prove the total homology of pairing chromosomes or fragments. Terminalisation depends upon the relative positions of the place where the chiasma is formed and the attachment constriction as well as upon the structural differences. The discrepancy in the homology of pairing chromosomes may be taken to be responsible for arrest of terminalisation, but the presence of complete terminalisation cannot be taken as a definite proof of total homology.

The pairing of three fragments (which is very common in *Fritillaria imperialis*; Darlington, 1930) has never been observed in *Tradescantia*. This may be due, either to the fact that only two fragments are homologous, or to special conditions such as chiasma frequency interfering with the pairing of three fragments at once. The latter possibility is rendered very improbable by the observation that one fragment may pair with another fragment and a whole chromosome. Therefore the chiasma frequency of the fragments must be sufficiently high to permit of the pairing of the three fragments if they are homologous. Two of the fragments have terminal attachments (Text-fig. 4 *D*), but the third seems to have a sub-median attachment. Pairing seems only to be between the two fragments with the terminal attachments. This supports the view that only two fragments are homologous.

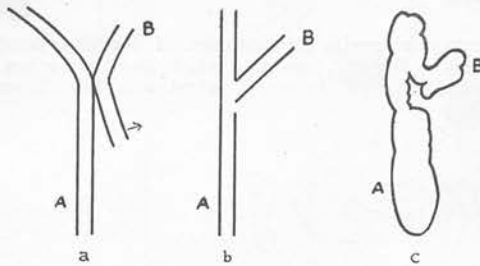
Fragments pair with the major chromosomes quite often. This makes the estimation of the chiasma frequency in the species rather difficult, since the chiasmata between fragments and chromosomes must certainly

be taken into consideration. This raises the question of whether the fragments are to be counted as chromosomes and if not, how the chiasmata between fragments and chromosomes are to be treated.

The association of fragments with chromosomes may be by a single lateral or terminal chiasma or by multiple chiasmata with two or three chromosomes in triple or quadruple chiasmata respectively (see Text-fig. 6).

Since metaphase pairing, as distinct from the special phenomenon "secondary association" (Lawrence, 1931) is, on Darlington's theory of meiosis (1931 *b*), only by chiasmata (*i.e.* changes of partners amongst the chromatids), the pairing of fragments with whole chromosomes in *Tr. virg. humilis* is worth special consideration.

Fragments can pair with chromosomes by *one* or *more* chiasmata. Text-fig. 5 *a, b, c* illustrates the behaviour when the association is by *one* chiasma followed by terminalisation, complete for the fragment, neces-



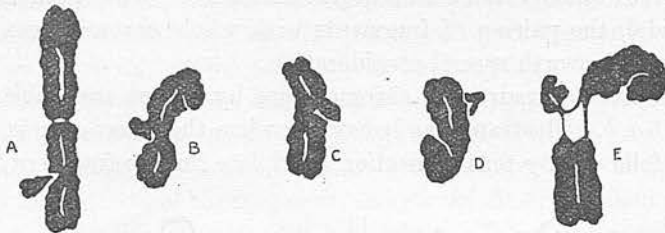
Text-fig. 5. Diagram showing behaviour of chromosome with fragment, united by *one* chiasma. *A* represents chromosome and *B* fragment; *a* at diplotene, *b* and *c* at metaphase.

sarily incomplete for the whole chromosome. Such an association will give four unequal chromatids or chromosomes after the second metaphase. This is a further cytological proof of crossing-over by interchange between unequal chromosomes. As a result of such a chiasma, new chromosome types will be formed; one representing part of the big chromosome with the fragment attached, the other being the remaining part of the big chromosome. Actually Darlington observed chromosomes of new sizes in the pollen-grain divisions, which might have originated in this way.

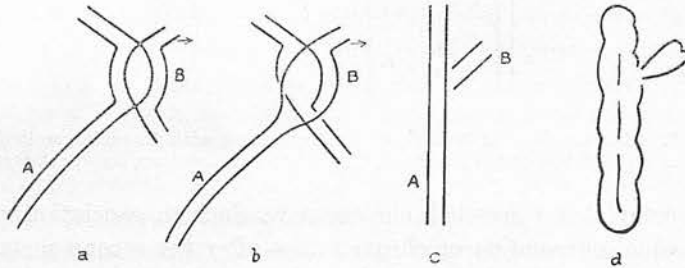
The discrimination between this type of association and the type where *two* chiasmata have been formed and terminalised is rather difficult at metaphase. Text-fig. 6 *D* shows an unusual arrangement between the fragment and chromosome where the proximal end of the fragment is wider than the distal. This may be a special aspect of the type of association described, the fragment being viewed from above. Another possibility is that the "knob" does not represent a fragment at

all, being an interstitial part of one chromosome not present in its homologue. This would be another instance of pairing between unequal chromosomes, the inequality in this case being interstitial whereas in the previously described condition the inequality is terminal. If the second explanation is correct, this configuration affords convincing evidence that pairing is specific at metaphase as well as prophase, *i.e.* only homologous parts of chromosomes and chromatids can pair.

When *two* chiasmata are formed between the fragment and chromo-



Text-fig. 6. Fragments pairing with chromosomes. *A*, condition resulting from *two* compensating chiasmata; *B* and *C*, condition which may have arisen from *one* chiasma; *D*, peculiar configuration; *E*, fragment paired with two chromosomes in a triple chiasma. ($\times 2750$.)



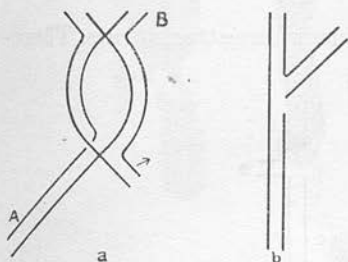
Text-fig. 7. Diagram showing behaviour of fragment paired with chromosome by *two* compensating chiasmata; *A* represents chromosome, *B* fragment, *a* and *b* the two different types of compensating chiasmata at diplotene, *c* and *d* at metaphase.

some these may be compensating or non-compensating. Compensating chiasmata can be formed in two ways; (1) the same two chromatids cross-over at both chiasmata, (2) two different pairs of chromatids cross-over at each chiasma (see Text-fig. 7 *a, b, c, d*). Terminalisation of these two types of compensating chiasmata will give the same configuration, as seen in Text-fig. 7 *d*.

Pairing between a fragment and a chromosome by two non-compensating chiasmata will give a different result. In this type one of the chromatids which interchanges at the first chiasma crosses over with a third at the second chiasma. Terminalisation of non-compensating chias-

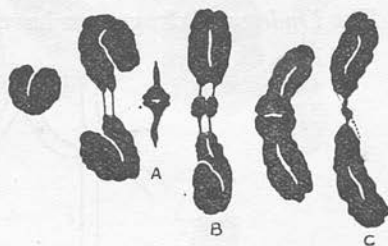
mata will give the same configuration as that formed in the case of one chiasma (see Text-figs. 8 *a* and *b*, 5 *a*, *b* and *c*).

The arrangement most frequently observed was that in which the two fragment chromatids are attached to the side of the large chromosomes. If the chiasma frequency were correlated with size, one would expect the single chiasma type leading to the configuration illustrated in Text-fig. 5 *c* to be most common. But the observations show that this type is rather rare. Therefore, accepting Darlington's chiasma theory of metaphase pairing, we must assume that the most frequently observed method of pairing between fragment and chromosome results from the formation of two compensating chiasmata. Perhaps special circumstances



Text-fig. 8.

Text-fig. 8. Diagram to show fragment and chromosome united by *two* non-compensating chiasmata; *a* at diplotene, *b* at metaphase. Metaphase appearance is the same as shown in Text-fig. 5.



Text-fig. 9.

Text-fig. 9. *A*, a pair of fragments with an interstitial chiasma; *B*, fragment paired with two chromosomes by two terminal chiasmata; *C*, bivalent showing torsion of chromatids. ($\times 2750$)

induce the formation of a second compensating chiasma whenever a chiasma is formed between a fragment and a chromosome.

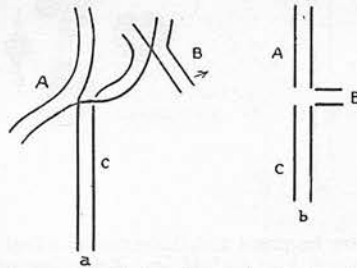
Many cases were observed in which two chromosomes were connected by one fragment. In such a configuration the association between the fragment and chromosome must be by two chiasmata for the fragment and one chiasma for each chromosome. The fibre attachment of the fragment must be between the two chiasmata in order that terminalisation may give the observed figures (Text-fig. 9 *B*). The fragment concerned in such a configuration must be that with the median attachment, otherwise the chiasmata between the fragment and both chromosomes would be on one side of the terminal attachment and terminalisation would result in a formation of a triple chiasma.

Pairing of a fragment with two chromosomes by a triple chiasma has also been observed (see Text-figs. 6 *E*; 10 *a*, *b*).

Discussion.

The study of the behaviour of fragments during meiosis, which reveals their association by chiasmata with each other and with whole chromosomes, gives evidence of their existence and stability in this species. They survive the reproductive phase of the plant, which is responsible for the elimination of supernumerary bodies in the chromosome complement. Chromosome pieces or fragments, originated in different ways, have been observed in several animal and plant species, but in most cases these fragments do not pass through meiosis. For their maintenance at mitosis the possession of an attachment constriction which places the new chromosome fragment into the reproductive mechanism is necessary, as was first mentioned by Navashin (1926).

The *Tradescantia* fragments have permanent fibre attachments. There-



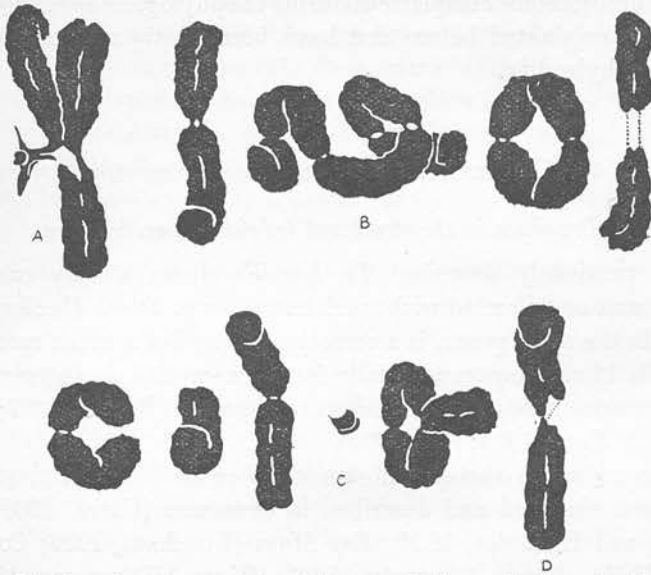
Text-fig. 10. Diagram to show method of pairing of a fragment with two chromosomes to give a triple chiasma.

fore they are able to remain as permanent members of the chromosome complement as indicated by Darlington's observations on pollen grains and somatic tissue. They are not merely fragments, *stricto sensu*, but they are small "chromosomes" with individuality. It seems reasonable to assume that they represent one way, already advanced, towards new chromosome formation. There are species in animals (*Gallus*) and plants (*Yucca* and *Aloe*) where the size of the chromosomes in the same complement ranges from the smallest to the largest. The *Tradescantia* fragments are comparable with these very small chromosomes. Perhaps they are responsible for some morphological or physiological features of *Tr. virg. humilis*. *Tr. virg. var. bracteata* has the same chromosome complement ($2n = 24$), but Darlington did not observe fragments in this variety. This may support the suggestion that the fragments have their important part in the phylogeny of the variety *humilis*.

They enter into meiosis and may segregate through normal disjunction. Normal disjunction can only take place after pairing. Darling-

ton assumes that metaphase pairing depends upon chiasma formation, therefore the fragments, if they are to pair and segregate regularly, must show a chiasma frequency very much higher than that of the large chromosomes in proportion to their size.

The recent observations of Darlington and Dark (1932) on *Stenobothrus parallelus* and of Dobzhansky on *Drosophila* (1931) and O'Mara (1931) on *Yucca* show that chiasma frequency is not always correlated with the size of the chromosome. The chiasma theory of metaphase pairing does not, as O'Mara (1931) appears to suppose, imply that chiasma



Text-fig. 11. Whole nucleus at metaphase. *A*, fragment taking part in a quadruple chiasma; *B*, chain of five chromosomes; *C*, univalent fragment; *D*, bivalents showing torsion. ($\times 2750$.)

frequency is correlated with chromosome size, although it is true that it usually is so correlated. The observation in *Tr. virg.* of some configurations in which the actual exchange of partners in pairing fragments may be seen (Text-fig. 4 *F*) shows that the pairing of fragments, like that of whole chromosomes, is by chiasmata.

To follow the origin of fragments in this case is at present difficult. Certainly they must have originated by fragmentation of the large chromosomes. The pairing of fragments and chromosomes shows without doubt that these must have homologous portions. In *Crepis* Navashin (1931) has observed fragmentation of identified chromosomes following X-ray treatment. In *Uvularia* Belling (1925), and in *Allium* Levan (1932),

recorded similar cases. In the tomato (Lesley and Lesley, 1929) and in *Matthiola* (Frost, 1927) certain fragments have been identified with parts of whole chromosomes by genetical analysis.

The several and different associations of fragments with chromosome segments show that they are not simple displacements from chromosomes. They have—as we can infer from their behaviour—differentiated portions and they give further evidence of structural hybridity in *Tr. virg. humilis*. At present it is rather difficult to decide when and how they originated. Perhaps they appeared after the segmental interchanges between the doubled chromosome complement during the phylogenic evolution, or they may have originated before and have been partly responsible for the structural hybridity.

II. OBSERVATIONS ON *RHOEO DISCOLOR*.

Prophase in the structural hybrid Rhoeo discolor.

The previously described *Tr. humilis* shows a very complicated chromosome complement with much irregularity. *Rhoeo discolor*, a related species in the same genus, is a structural hybrid of a much more regular type. Its 12 chromosomes usually form a complete ring at meiosis, but sometimes one, two or three chains are observed (Belling, 1927; Darlington, 1929; Kato, 1930; Sax, 1931).

Cases in which the chromosomes are connected in a ring or chain have been observed and described in *Oenothera* (Gates, 1908), *Datura* (Belling and Blakeslee, 1926), *Zea Mays* (Burnham, 1930; Cooper and Brink, 1931), *Aucuba* (Meurman, 1929), *Pisum* (Håkansson, 1931; Sansome, 1932), *Campanula* (Gardner and Darlington, 1931), *Hypericum* (Hoar, 1931). In some of these cases it was proved that the association of the chromosomes in a ring is accompanied by certain genetic phenomena, such as linkage between factors on different chromosomes and partial sterility due to non-disjunction. Darlington (1931 c), in his paper on *Oenothera*, discussed this problem and gave the expected linkage map of a ring-forming plant.

The end-to-end pairing of chromosomes, to form a ring, which is characteristic of *Rhoeo*, has been supposed to follow earlier side-by-side pairing of the terminal segments of chromosomes. Since pairing of chromosomes implies homology, the 12 chromosomes of *Rhoeo* are evidently each homologous at one end with one chromosome and at the other end with another chromosome. The origin of such a condition is best explained

by the assumption of segmental interchanges between non-homologous chromosomes as was first suggested by Belling in *Datura* (1926).

Darlington (1929, 1931 *c*) and Cleland and Blakeslee (1931) have applied Belling's hypothesis to explain the chromosome behaviour of the ring-forming *Oenotheras*. They show that a comparatively small number of single reciprocal translocations would lead to the formation of rings involving the complete chromosome complement. Sax (1931) has attempted to explain segmental interchange as being a result of earlier prophase interlocking of chromosomes. Certainly such interlocking as was already suggested by Darlington (1929) might be expected to give opportunity for segmental interchanges between non-homologous chromosomes, since it brings them into close relationship.

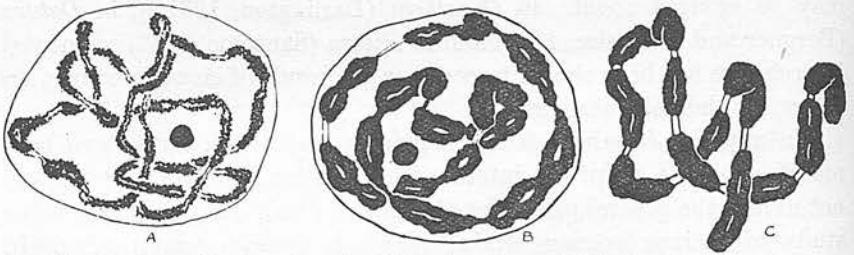
However, this is not the only method by which segmental interchange may be brought about. In *Oenothera* (Darlington, 1931 *c*), in *Datura* (Bergner and Blakeslee, 1932) and in *Pisum* (Sansome, 1932) segmental interchange has been shown to occur as the result of crossing-over in an interstitial homologous segment.

In any ring-forming plant the pairing mechanism must have been modified by the reciprocal interchanges mentioned above, but they do not nullify the general principles of meiosis. From this point of view the study of meiosis in ring-forming plants is especially interesting. In *Rhoeo* prophase has been examined for the first time, and the observations showed that pairing in such ring-forming plants is parasynaptic, the homologous segments of different chromosomes pairing side by side.

The leptotene threads are long, thin and show no polarisation. They twist and coil giving a loose mass in the nucleus. It is impossible to follow the threads completely owing to their length and number, compared with the relatively small space in the nucleus. Similarly the zygotene stage is rather obscure, but in a few cases pairing of threads for a short distance was observed.

The first clear observation was obtained at pachytene. The pairing of the homologous segments of chromosomes was completed and it was obvious that the same thread was pairing with different chromosomes at its opposite ends (Plate III, figs. *a-f*). It was noticed that the pairing segments of the same chromosome could be of different length as is seen clearly in Plate III, fig. *e*. The pachytene stage of the ring-forming *Rhoeo* shows therefore that the threads pair side by side in their homologous segments. In diplotene, loops and chiasmata were observed in some cases (Plate III, figs. *g, h*). The threads in this stage are thicker and doubled, but the doubleness (chromatids) was not always clearly observable.

At the end of diplotene only the ends of the chromosomes were paired (Plate III, figs. *k*, *l*, *m*). This stage is usually clear, and it is very easy to follow the thick threads in the nucleus. The number of chiasmata has been reduced, presumably by terminalisation. In early diakinesis, where the chromosomes are paired end to end, the connection can be seen to be double, that is, between chromatids (Text-fig. 12 *A*). In late diakinesis, as can be seen in Text-fig. 12 *B*, the chromosomes are much shorter and thicker as the result of contraction. The connections between some chromosomes in the ring are pulled out. At that time it becomes obvious that the ring is made up of chromosomes of different lengths. It was, however, not possible to identify special chromosomes as Kato (1930) and Sax (1931) claim to have done regarding their sequence in the ring. The comparison of nuclei at different prophase stages in *Rhoeo* shows that the



Text-fig. 12. *Rhoeo discolor*. *A*, early diakinesis; *B*, mid-diakinesis; *C*, early metaphase. *A* and *B* show complete ring, *C* a chain of 12 chromosomes. ($\times 2500$.)

size remains relatively constant. This observation differs from that of Gates (1928) on the ring-forming *Oenothera*.

In the two above-described closely related plants we dealt with cases of structural hybridity. *Tr. virg. humilis* represents a very complicated interchange heterozygote, in which many structural changes have taken place during its phylogenetic evolution. In *Rhoeo discolor* we have a very regular complex heterozygote, in which reciprocal translocations have taken place in the nuclear complement and they are responsible for the ring association.

But both species—in spite of the peculiarities resulting from their structural hybridity—obey the general principles of meiosis, as recently laid down very clearly by Darlington (1931 *b*).

SUMMARY.

1. In *Tradescantia virginiana* var. *humilis* the following observations were made on meiosis:

- (i) arrest of terminalisation of chiasmata,
- (ii) pairing of unequal chromosomes,

(iii) torsion of chromatids,
 (iv) morphological change in chromosome,
 (v) pairing of fragments, discussed in relation to the chiasma theory of metaphase pairing.

2. In *Rhoeo discolor* pachytene, diplotene and diakinesis stages were observed. The metaphase end-to-end pairing of the chromosomes was observed to follow earlier side-by-side pairing of homologous ends.

The observations show that both species obey the general principles of meiosis as recently outlined by Darlington.

I wish to thank Dr C. D. Darlington and Mrs E. Sansome for their help in the course of this work.

REFERENCES.

- BEADLE, G. W. (1932). "A possible influence of the spindle fibre on crossing-over in *Drosophila*." *Proc. Nat. Acad. Sci.* **18**, 160-5.
- BELLING, J. (1925). "The origin of chromosomal mutation in *Uvularia*." *Journ. Gen.* **15**, 245-66.
- (1927). "The attachment of chromosomes at the reduction division in flowering plants." *Ibid.* **18**, 177-205.
- BELLING, J. and BLAKESLEE, A. F. (1926). "On the attachment of non-homologous chromosomes at the reduction division in certain 25-chromosome *Daturas*." *Proc. Nat. Acad. Sci.* **12**, 7-11.
- BERGNER, D. and BLAKESLEE, A. F. (1932). "Cytology of the *Ferox-Quercifolia-Stramonium* triangle in *Datura*." *Ibid.* **18**, 151-60.
- BRIDGES, C. B. and ANDERSON, E. G. (1925). "Crossing-over in the X-chromosome of triploid females of *Drosophila melanogaster*." *Genetics*, **10**, 418-41.
- BURNHAM, C. R. (1930). "Genetical and cytological studies of semi-sterility and related phenomena in maize." *Proc. Nat. Acad. Sci.* **16**, 267-74.
- CLELAND, R. E. and BLAKESLEE, A. F. (1931). "Segmental interchange, the basis of chromosomal attachments in *Oenothera*." *Cytologia*, **2**, 175-233.
- COOPER, D. E. and BRINK, R. A. (1931). "Cytological evidence for segmental interchanges between non-homologous chromosomes in maize." *Proc. Nat. Acad. Sci.* **17**, 334-8.
- DARLINGTON, C. D. (1929). "Chromosome behaviour and structural hybridity in the *Tradescantiae*." *Journ. Gen.* **21**, 207-86.
- (1930). "Chromosome studies in *Fritillaria*. III." *Cytologia*, **2**, 37-55.
- (1931 a). "Meiosis in diploid and tetraploid *Primula sinensis*." *Journ. Gen.* **14**, 65-96.
- (1931 b). "Meiosis." *Biol. Rev.* **6**, 1-43.
- (1931 c). "The cytological theory of inheritance in *Oenothera*." *Journ. Gen.* **24**, 405-75.
- (1932). *Recent advances in cytology*. Churchill, London (in press).
- DARLINGTON, C. D. and DARK, S. O. S. (1932). "Origin and behaviour of chiasmata. II. *Stenobothrus parallelus*." *Cytologia*, **4** (in press).

- DOBZHANSKY, T. (1931). "The decrease of crossing-over observed in translocations, and its probable explanation." *Amer. Nat.* **65**, 214-32.
- ERLANSOHN, E. W. (1931). "Chromosome organisation in *Rosa*." *Cytologia*, **2**, 256-82.
- FROST, H. B. (1927). "Chromosome-mutant types in stocks (*Matthiola incana*). I. Characters due to extra chromosomes." *Journ. Heredity*, **18**, 475-86.
- GAIRDNER, A. E. and DARLINGTON, C. D. (1931). "Ring formation in diploid and polyploid *Campanula persicifolia*." *Genetica*, **13**, 113-50.
- GATES, R. (1908). "A study of reduction in *Oenothera rubrinervis*." *Bot. Gazette*, **46**, 1-34.
- (1928). "The cytology of *Oenothera*." *Bibl. Genetica*, **4**, 401-92.
- HÅKANSSON, A. (1931). "Ueber Chromosomenverkettung in *Pisum*." *Hereditas*, **15** 2-61.
- HOAR, C. S. (1931). "Meiosis in *Hypericum punctatum* Lam." *Bot. Gaz.* **92**, 396-406.
- KATO, K. (1930). "Cytological studies of pollen mother cells of *Rhoeo discolor* H., with special reference to the mode of syngesis." *Mem. Coll. Sci. Kyoto Imp. Univ.* Ser. B, **5**, 139-61.
- LA COUR, L. (1931). "Improvements in everyday technique in plant cytology." *Journ. Roy. Micr. Soc.* **51**, 119-26.
- LAWRENCE, W. J. C. (1931). "The secondary association of chromosomes." *Cytologia*, **2**, 352-84.
- LESLEY, J. W. and LESLEY, M. M. (1929). "Chromosome fragmentation and mutation in tomato." *Genetics*, **14**, 321-36.
- LEVAN, A. (1932). "Cytological studies in *Allium*. II. Chromosome morphological contributions." *Hereditas*, **15**, 257-94.
- MEURMAN, O. (1929). "Association of chromosome types in *Aucuba japonica*." *Ibid.* **12**, 179-209.
- NAVASHIN, M. (1926). "Variabilität des Zellkerns bei *Crepis*-Arten in Bezug auf die Artbildung." *Zeitsch. f. Zellf. u. mikroskop. Anat.* **4**, 171-215.
- (1931). "A preliminary report on some chromosome alterations by X-rays in *Crepis*." *Amer. Nat.* **65**, 243-52.
- O'MARA, J. (1931). "Chromosome pairing in *Yucca flaccida*." *Cytologia*, **3**, 66-76.
- PHILP, J. and HUSKINS, C. L. (1931). "The cytology of *Matthiola incana* R. Br. especially in relation to the inheritance of double flowers." *Journ. Gen.* **24**, 359-404.
- SANSOME, E. R. (1932). "Segmental interchange in *Pisum*." *Cytologia*, **3**, 200-219.
- SAX, K. (1931). "Chromosome ring formation in *Rhoeo discolor*." *Ibid.* **3**, 36-53.

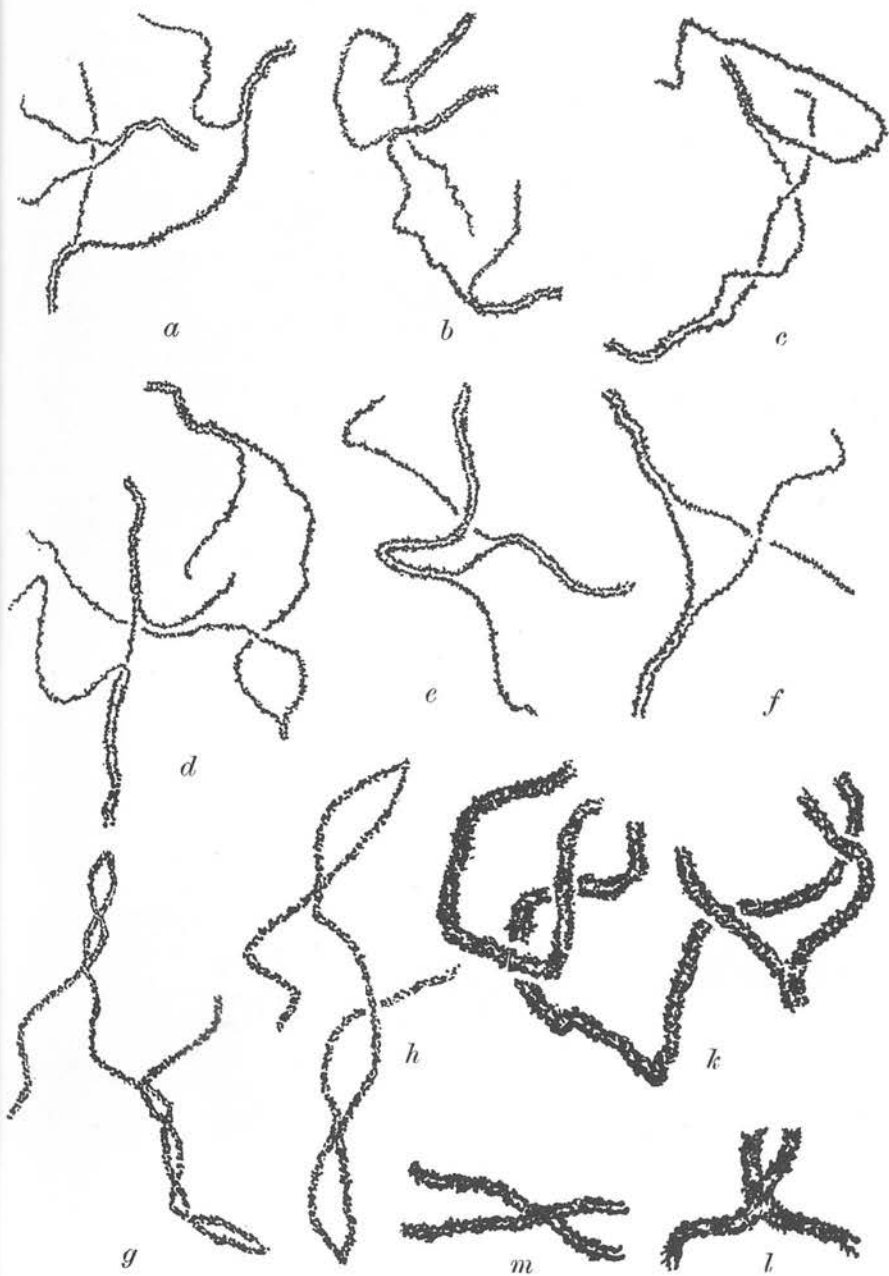
EXPLANATION OF PLATES III AND IV.

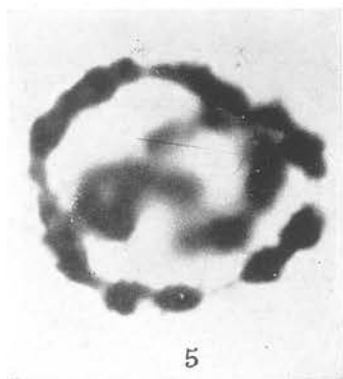
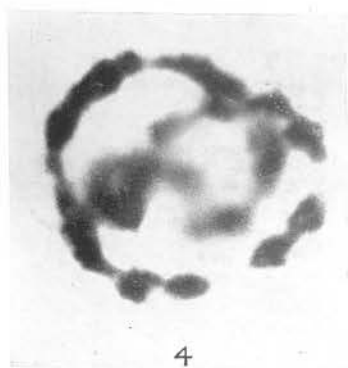
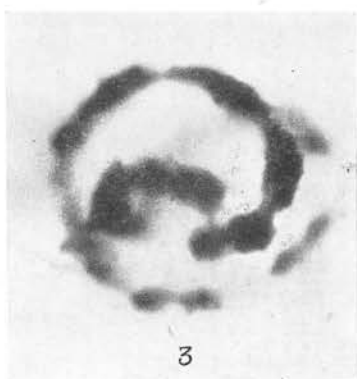
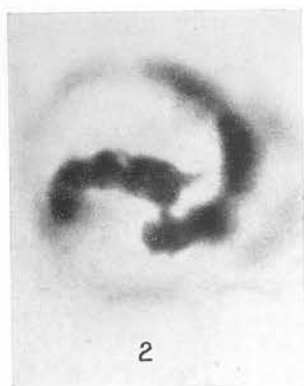
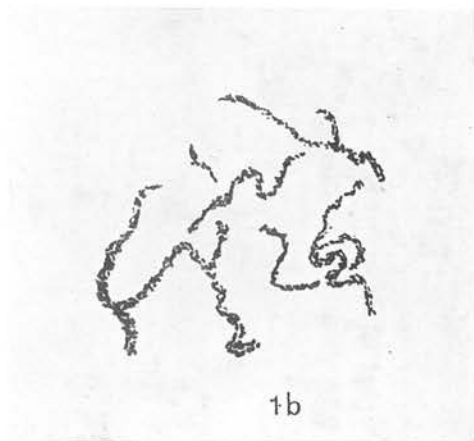
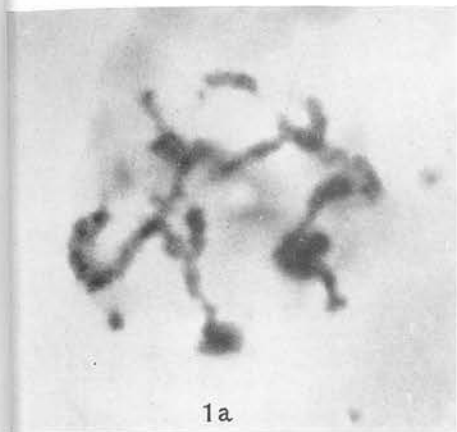
PLATE III.

Prophase from *Rhoeo discolor*. *a-f* show pachytene pairing. It will be noticed that each thread pairs with a different thread at both ends. *g, h*, early diplotene with chiasmata. *k-m*, late diplotene showing reduction in number of chiasmata. (\times 6300.)

PLATE IV.

Pachytene and diakinesis in *Rhoeo discolor*. *1 a*, microphotograph showing pachytene; *1 b*, drawing of the same nucleus. 2-5, diakinesis nucleus, photographed at different foci. Text-fig. 12 B is a drawing of the same nucleus. (Magnification of microphotographs is ca. 5300 diameters.)





The Journal of Genetics is a periodical for the publication of records of original research in Heredity, Variation and allied subjects. The Journal will also, from time to time, contain articles summarising the existing state of knowledge in the various branches of Genetics, but reviews and abstracts of work published elsewhere will not, as a rule, be included. It will be issued in parts as material accumulates, and a volume will consist of three such parts.

Volumes I—XXV (1910—32). Quotations can be given for such of the back volumes and parts as are still in print, as well as for supplying binding cases and for binding subscribers' sets.

Papers for publication may be sent to Professor PUNNETT, Whittingehame Lodge, Cambridge. Other communications should be addressed to the University Press, Cambridge.

Papers forwarded to the Editors for publication are understood to be offered to *The Journal of Genetics* alone, unless the contrary is stated.

Contributors will receive 50 separate copies of their papers free. A further 50 may be had at cost price: these should be ordered when the final proof is returned.

The Subscription price for a volume is 42s. net (post free) payable in advance; separate parts 15s. net each. Subscriptions may be sent to any bookseller, or to The Cambridge University Press, Fetter Lane, London, E.C. 4.

The Cambridge University Press has appointed the University of Chicago Press agents for the sale of the *Journal of Genetics* in the United States of America, and has authorised them to charge the following prices:—Annual subscription, \$10.00 net; single copies, \$3.50 net each.

in these different species show that many identical genes, for example, the closely linked yellow-scute-white-Notch series, are transferred from the extreme left end of the X-chromosome in *D. melanogaster* to the middle region of the X-chromosome in *obscura* and *willistoni*. Recent investigations of the behaviour of Pointed and Pointed-*x*, located in the 'extra' arm of the V-shaped X-chromosome, indicate their homology with Beaded in the third autosome of *D. melanogaster*. It is therefore suggested that part of the X, namely, the segment to the left of the yellow locus in *D. obscura*, corresponds to part of the third chromosome of *D. melanogaster*.

Further evidence of such a chromosome rearrangement is given by the study of the hybrids of 'Race A' and 'Race B' in *D. obscura*^{1,3} (Lancefield 1930, Koller 1932). The hybrid females are partially fertile and exhibit great reduction in crossing-over at both ends of the X-chromosome; the males are sterile. I have shown³ (1932) that only the ends of the X-chromosome differ in the two races (A and B) of *D. obscura*. This can be explained on the assumption that the translocated segment of the X's has a different origin in the two races, and that these non-homologous portions prevent the chromosomes from pairing and crossing-over.

These facts support the hypothesis regarding the constitution of the X-chromosome in *D. obscura*.

P. CH. KOLLER.

John Innes Horticultural Institution,
London, S.W.19,
March 10.

¹ Lancefield, D. E. Linkage relation of the sex-linked characters in *Drosophila obscura*. *Genetics*, 7, 335-384; 1922. A genetic study of crosses of two races or physiological species of *Drosophila obscura*. *Z. ind. Abst. Vererbung.*, 52, 2/3, 287-317; 1929.

² Lancefield, R., and Metz, Ch. The sex-linked group of mutant characters in *Drosophila willistoni*. *Amer. Natur.*, 56, 211-241; 1922.

³ Koller, P. Ch. The relation of fertility factors to crossing over in the *Drosophila obscura* hybrid. *Z. ind. Abst. Vererbung.*, 60, 2/3, 137-151; 1932.

SEX-DIFFERENCES IN CROSSING-OVER AND CHIASMA-FREQUENCY IN THE MOUSE

HALDANE (1922) stated the law, based on the observations of many researchers, that if crossing-over is reduced or entirely suppressed, this occurs in the heterozygous sex. Reduction of crossing-over in the heterogametic sex is found in the Tettigidæ, *Gammarus*, *Mus musculus*, and *Mus norvegicus*, and complete suppression of crossing-over in the male of the *Drosophila* and in the heterogametic female of *Bombyx*.

Recent investigations on meiosis in diploids and polyploids have dispelled many difficulties and have increased our understanding of genetical segregation.

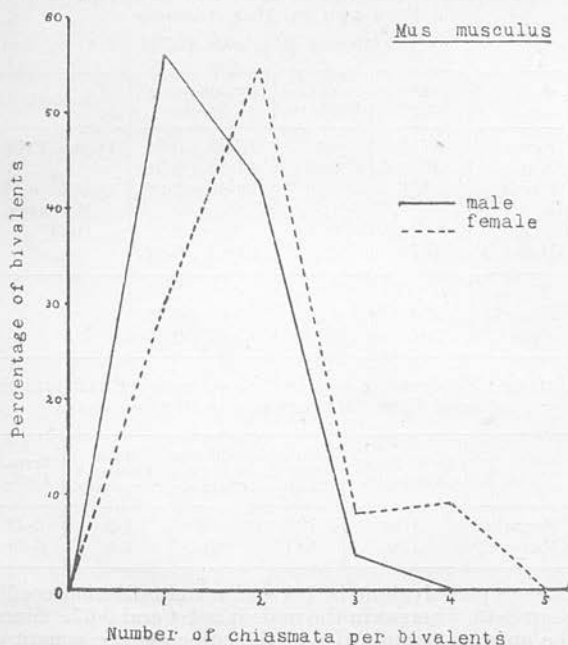


FIG. 1.—Graph illustrating the chiasma frequency of male and female *Mus musculus* at metaphase.

Darlington (1930), adopting Janssens' (1924) partial chiasmotype hypothesis, states that "a chiasma is constituted by genetical crossing over between two of the four chromatids taking part in it, and association at diplotene is between chromatids derived from the same chromosome". Here Darlington is in direct opposition to the 'classical' theory held by Wenrich (1917), Wilson (1925), Sax (1930) *et alii*. Darlington's view assumes a close parallelism between chiasma formation and crossing-over. One important theoretical objection to Darlington's hypothesis, as he himself stated (1931), was that "the difference in crossing-over between the sexes has not been paralleled by the direct observation of differences in chiasma formation".

It was thought desirable to examine chiasma frequency in male and female mice, in view of the fact that it has been shown that linkage between the albino and pink-eye factors in *Mus* is closer in the ethero-gametic male, that is, the crossing-over value is lower in this sex than in the female. From these genetical data a difference in the chiasma frequency in the two sexes would be predicted on the chiasma-type hypothesis, whereas if any correlation between differences in chiasma frequencies and crossing-over values is to be expected on the alternative hypothesis that crossing-over is caused by the breaking of chiasma, the sex with increased crossing-over should have a reduced chiasma frequency.

Observations on chromosome behaviour during meiosis in *Mus* have revealed differences in the chiasma frequencies and terminalisation coefficients in the two sexes. In the female at metaphase the chiasma fre-

CROSSING-OVER VALUES BETWEEN ALBINISM AND
PINK-EYE IN *Mus musculus*
(Castle and Wachter, 1924)

	Gametes tested.	Cross-over Gametes.	Crossing-over Value.	Authors.
Female	2789	444	15.92 ± 0.9	Dunn, 1920
Male .	3683	503	13.65 ± 0.78	„
Female	556	106	19.06 ± 2.02	Castle and Wachter, 1924
Male .	3374	462	13.89 ± 0.82	„
Total				
Female	3345	550	16.44 ± 0.82	
Male .	7057	965	13.77 ± 0.57	

CHIASMA FREQUENCY AND TERMINALISATION COEFFICIENTS
DURING FIRST METAPHASE IN *Mus musculus*

	Total No. of Bivalents.	Total No. of Chiasm.	Total No. of Term. Chiasm.	Mean Chiasm. Frequency.	Term. Coeff.
Female	100	197	86	1.9	0.43
Male .	100	147	100	1.4	0.67

quency per bivalent is 1.9 and terminalisation coefficient 0.43, whereas in the male it is 1.4 and 0.67. Since the animals examined had the same genetic constitution, the differences in chiasma frequency could not be due to genic dissimilarity.

These observations strongly support the partial chiasmatic hypothesis of crossing-over.

P. CH. KOLLER.

Institute of Animal Genetics,
University of Edinburgh.

REFERENCES

- Castle, W. E., and Wachter, W. L., *Genetics*, 9, 1-12; 1924.
Darlington, C. D., *Proc. Roy. Soc.*, B, 107, 50-59; 1930. *Biol. Rev.*, 6, 221-264; 1931.
Haldane, J. B. S., *J. Genetics*, 12, 101-110; 1922.
Janssens, F. A., *Cellule*, 34, 133-359; 1924.
Sax, K., *J. Arn. Arboretum*, 11, 193-220; 1930.
Wenrich, O. H., *J. Morph.*, 29, 471-518; 1917.
Wilson, E. B., "The Cell in Development and Heredity", 3rd ed., 1925.

5

Überreicht von dem Verfasser

Sonderabdruck aus der

**Zeitschrift für induktive Abstammungs-
und Vererbungslehre**

1932 Bd. LX Heft 2/3

Verlag von Gebrüder Borntraeger in Berlin W 35

P. CH. KOLLER:

The relation of fertility factors to crossing-
over in the *Drosophila obscura* hybrid



The relation of fertility factors to crossing-over in the *Drosophila obscura* hybrid

By Dr. P. CH. KÖLLER

From the Hungarian Biological Research Institute, Tihany

(With 8 Text-figures)

(Received for publication, August 17, 1931)

D. E. LANCEFIELD has discovered (1922) and described (1925, 1929) two distinct races (so called race A and race B) of *Drosophila obscura* FALLÉN, which while they are not to be distinguished taxonomically, differ from one another genetically and cytologically (fig. 1). He has

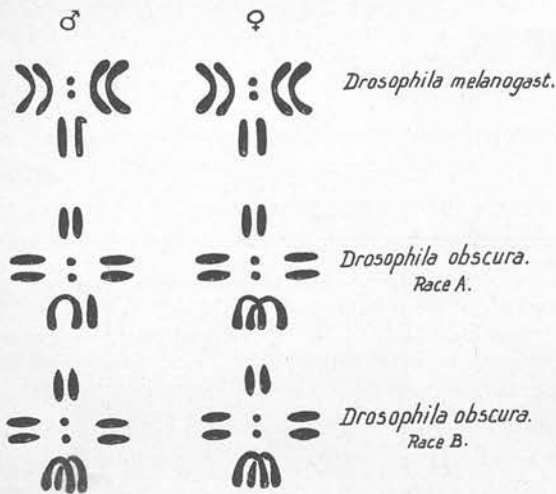


Fig. 1. The chromosomes of *Drosophila melanogaster*, and *Drosophila obscura* race A and B

shown that the races themselves are mutually fertile, but that of the hybrid offsprings the males are sterile, the females partially fertile. LANCEFIELD also has shown that the crossing-over values between certain loci in the X chromosome of race A are remarkably reduced in the case of hybrid A/B female. The present writer was encouraged by Professor

LANCEFIELD to examine the nature of the chromosomal interchanges connected with fertility or sterility, and he wishes to express his thanks to Professor LANCEFIELD for the material and for his help.

1. Reduction in the crossing-over values in the racial hybrid female

With regard to the crossing-over values, obtained from interracial matings, it must be pointed out that these values are really "recombination values" according to BRIDGES and OLBRYCHT (1925), which could be transformed into real crossing-over values only after a study has been made of the frequency of double crossing-over. Therefore when using the term: crossing-over values in the terminology of LANCEFIELD, we refer to recombination-values.

1. Females of race A with the dominant *Pointed* (0.0, wing mutation), *yellow* (62.0, body colour), and *vermilion* (76.0, eye colour) sex-linked characters were mated with wild type males of race B, and *Pointed yellow vermilion* male and *Pointed* female offspring resulted. The males were all sterile, though their orange-coloured testes, which could be seen through the abdominal wall, were of normal size.

The F_1 females $\left(\frac{P\ y\ v}{+++}\right)$ showing *Pointed* only of the mutant characters involved, were then backcrossed to *Pointed yellow vermilion* males of race A and the following results were obtained. There were 292 females and 220 males. Of the males there were the following classes:

Non crossovers		1. regio		2. regio	
wild type	<i>Pointed, yellow vermilion</i>	<i>Pointed</i>	<i>yellow vermilion</i>	<i>Pointed yellow</i>	<i>vermilion</i>
105	87	4	2	10	12

From this figures the following map distances were constructed:

- P/y 2.7
- P/v 12.7
- y/v 10.0

LANCEFIELD had previously obtained from different experiments the following distances:

- P/y 3.0
- P/v 12.7 in his earlier experiments
- y/v 9.7

{ 2.3
11.5
11.4

The rel
] the us
were

the X
differ
i. e. t

mutat
a locu
Point

race
of th
crossi

N

ye
vern
sh

37.3
betw
LANC
obta
the
or n
gene
show
and
betw
mod

Now the map distances based on crossing-over values obtained from the use of pure race A females heterozygous for Pointed yellow vermilion were as follows (see LANCEFIELD):

P/y	62.0
P/v	76.0
y/v	14.0

It is seen that the crossing-over in the region of the middle of the X chromosome, i. e. in the region of y and v is not markedly different, whereas the crossing-over at the left end of the chromosome, i. e. between Pointed and yellow is greatly reduced.

2. In order to follow the other end of the X chromosome another mutation was introduced. This is the recessive *short wing's vein* with a locus at the right end of the X chromosome of race A, 170 units from Pointed and 94.5 from vermilion.

Some yvs females of race A were mated with wild type males of race B and the resulting racial female hybrids backcrossed to yvs males of the original race A. Three successful matings yielded the following crossing-over values:

Non crossovers		1. regio		2. regio		total no. of males
yellow vermilion short	wild	yellow	vermilion short	yellow vermilion	short	
76	56	52	42	15	21	252

Whereas, the map distances are for y/v 14.2, there are between v and s 37.3 y/s 51.5. To the value of y/v and v/s was added 2.7, the distance between P and y to obtain 54.2, the distance between Pointed and short. LANCEFIELD located the same gen at 48.7 in the hybrid. For v/s he obtained the figure 36.0, for y/s 45.7. Possibly the difference between the results is to be explained either by the smallness of the numbers, or more probably by the fact, that LANCEFIELD was using a different gene combination. Reference to the data obtained by LANCEFIELD showed that the reduction affected not the region between vermilion and fused, which is 28 units to the right of vermilion, but only that between fused and short. This point is best illustrated by the use of modification of LANCEFIELD's figure (fig. 2).

The locus of vermilion is taken to be fixed and the lineal relationship of this to the rest is shown.

It can be seen from the data thus obtained that the great reduction in crossing-over affected only the regions near to the right and left ends of the chromosome respectively, and that the middle region was relatively unaffected. In point of fact it was proved by LANCEFIELD that the crossing-over value between vermilion and fused is actually increased, while that between y and v is slightly reduced.

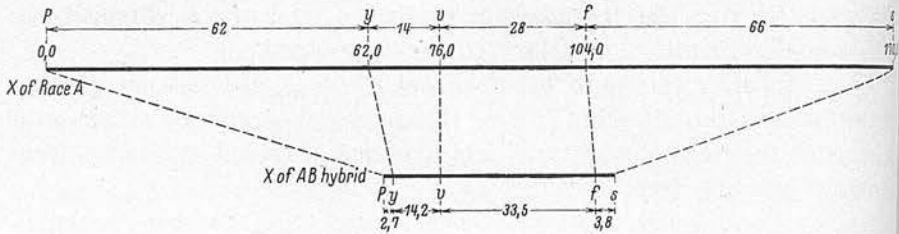


Fig. 2. The chromosome map of race A and of the A/B hybrid. Note the reduction of crossing over between Pointed and yellow and between fused and short

3. Two sex-linked mutations of race B were introduced into the interracial crossings to locate more accurately the region of reduction in crossing-over values. One of them is the *singed* (*sg*) a recessive mutant character common to both races, but whilst its locus in race A is at 74.0, in race B it is tentatively placed by LANCEFIELD at 35.0 (i.e. the distance from beaded 0.0 of X chromosome of race B). The second one is *bubble* (*bu*) another sex-linked recessive character, is peculiar to race B only, its locus is at 53.0.

From different matings the following results were obtained:

	Nature of cross	total	No. of crossovers	percentage of crossovers	LANCEFIELD'S data
y/sg	$\frac{Pyv(A)}{sg\ bu(B)} \text{ } \text{♀} \times (B) \text{ } \text{♂}$	432	32	7.4	8.0
sg/bu	$\frac{Pyv(A)}{sg\ bu(B)} \text{ } \text{♀} \times (B) \text{ } \text{♂}$	284	83	34.4	32.6
v/bu	$\frac{Pyv(A)}{sg\ bu(B)} \text{ } \text{♀} \times (B) \text{ } \text{♂}$	432	148	32.4	30.6

For the purpose of the discussion it is convenient to refer all map distances to the fixed locus of *singed*. This being done, the following map was made (fig. 3).

The rel

bubble

reduc

are ge

somet

for th

Fig. 3.

A/B

If sp

then

appli

one c

cross

and v

male

race

infer

are

deter

cross

only

conc

term

In

It is seen that in the hybrid the crossing-over between singed and bubble is increased, while that between bubble and short is greatly reduced.

Genetic factors affecting crossing-over values are known. There are genes which decrease the crossing-over values, while deficiency sometimes entirely obliterates it. Neither of these can be responsible for the marked differences in map distances exhibited by the hybrid

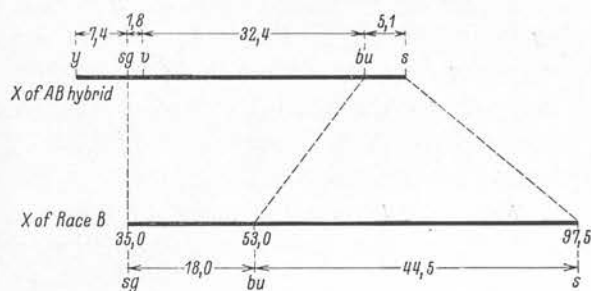


Fig. 3. The chromosome map of race B and of the A/B hybrid. In the latter the crossing over values are reduced between bubble and short

A/B female and by the racially pure heterozygous female respectively. If specific genes diminishing and preventing crossing-over were at work, then surely they must have operated in both races. The same argument applies to deficiency. LANCEFIELD assumes that two inverted sections, one of each end of the X chromosome are concerned in the reduction of crossing-over. Our explanation is different from that of LANCEFIELD, and will be discussed, when the problem of infertility has been dealt with.

2. The problem of infertility in the racial hybrid male

The racial hybrid male of F_1 generation is invariably sterile. The males produced by the mating of the F_1 females to P_1 males of either race fall into two groups: those that are fertile and those that are infertile. It will be shown that fertility and infertility in these stocks are definitely related to the constitution of the sex chromosome as determined by racial origin. If F_1 females obtained from the interracial crossing were infertile as are the males, it would be certain that not only the sex chromosomes, but also the somatic chromosomes were concerned with infertility. The constitution of the X chromosomes in terms of racial origin can be easily determined by the use of the mutant

sex-linked characters: Pointed, vermilion, yellow, short, singed and bubble, since all interchanges of racial chromatin can be followed by the distribution of these characters.

The following experiments were planned so, that by building up X chromosomes composed of different portions of the X-s of race A and race B respectively, the genetic cause of infertility could be regionalised.

1. Pointed yellow vermilion females of race A were mated with wild males of race B, and the resulting F_1 females were then backcrossed to Pointed yellow vermilion males of race A. Of the females of this generation, four classes were to be distinguished: (1) Pointed, (2) Pointed yellow, (3) Pointed yellow vermilion, (4) Pointed vermilion. The third class includes both crossover and non-crossover flies, as does the first class, some of them being heterozygous for Pointed as was seen, when they were mated with yellow vermilion males of race A. From these crossings appeared males with yellow and vermilion, but without Pointed.

The Pointed vermilion class might possibly have resulted from a double crossing-over and to test this, some of them were mated to wild type males of race A, when two kinds of sons appeared: fertile Pointed yellow vermilion and infertile vermilion. The second class of males shows that the females used were homozygous for vermilion and heterozygous for Pointed yellow; that is to say, that of one of their X chromosomes the left half was of race B, the right half probably was of race A. The vermilion males received the crossover X chromosome, its left half of race B, the right portion of race A. The Y chromosome was of race A origin.

2. Certain of these females heterozygous for Pointed and yellow and homozygous for vermilion were then mated to wild type males of race B. The resulting offspring are shown in the following table:

total	females		total	males			
	wild	Pointed		Pointed yellow vermilion	vermilion	Pointed vermilion	yellow vermilion
172	97	75	157	95	59	2	1

7 out of the 59 vermilion male had testis of normal size. The male with abnormally small testis is invariably sterile. These 7 males were tested for fertility, but all of them proved to be infecund.

Fig. 4.
rod indi

It is s
chromo
of race
or (4)
associa
3

males
with w
and th
obtain
males
million
small
sterile
chrom
indiv

vermil
half p
vermil

As was found by LANCEFIELD, the crossing-over values were in such repeated backcrosses, distinctly variable.

The composition of the sex chromosome of the individuals of this generation in respect of racial origin is shown as mentioned in fig. 4.

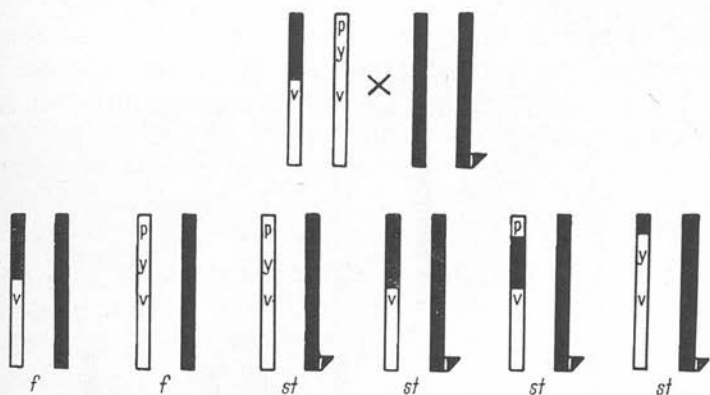


Fig. 4. The composition of the sex chromosomes of the F_3 generation. The hooked rod indicates the Y chromosome the black rods indicate the chromosomes of race B

It is seen that a Y chromosome of race B, associated with (1) an X chromosome of race A, (2) an X with left half of race A and the right of race B, (3) an X all of race A save for the region including yellow, or (4) an X all of race A save for the region including Pointed is associated with infertility.

3. Certain wild type females of F_3 were next mated with wild type males of race B, and the following offspring were obtained: fertile wild type females and males, and also vermilion males with abnormally small testis. The latter were sterile (fig. 5). Shows the chromosome composition of the individuals of this generation.

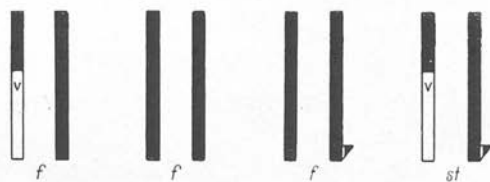


Fig. 5. The sex chromosome composition of F_4 generation, which was obtained from the mating of F_3 wild type female with a wild type male of race B

It is seen that in the X chromosome composition of the infertile vermilion male there was a race B Y chromosome and an X the left half probably of which was race B, the right half including the gene for vermilion of race A. This can be assumed, because double crossing-

over is extremely rare in the racial hybrid. There was no evidence of crossing over involving the X chromosome of the female parent.

4. It was next attempted to build up an X chromosome with its left half of race A and its right of race B.

Yellow vermilion short females of race A were mated with wild type males of race B. The obtained F₁ females were backcrossed to yellow vermilion short males of race A. The results of these matings are recorded on fig. 6. From this F₂ yellow vermilion females were

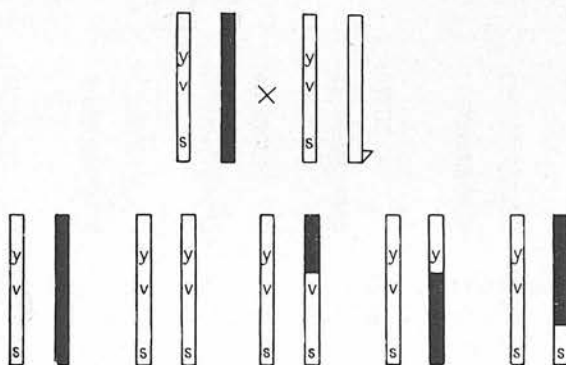


Fig. 6. The sex chromosome composition of the F₂ generation

mated with yellow vermilion short males. The mating yielded in F₃ two kinds of males: yellow vermilion short fertile and yellow vermilion infertile. This result shows that the female parents were homozygous for yellow vermilion and heterozygous for short, and that one of their X chromosomes had a left half of race A and a right of race B. The infertile yellow vermilion males were such as had received this latter X chromosome.

It is seen that the association of a Y chromosome of race A with an X, the left half of which is race A, the right of race B, yields sterile males.

5. Next it was attempted to build up an X chromosome of which the two ends were of the same racial origin, whilst the middle portion was of a different origin: i. e. to build up a chromosome: A-B-A or B-A-B.

The same yellow vermilion females as those of the F₂ above were backcrossed to wild type males of race B. Of the 21 matings two were successful and gave:

The relative

The

character:
X compi
the other
left end
of race
being of
female
then ma
and one
in other
males,
fruitless

6.

obtained
matings
males
cultures
and one

female

wild ty

194

T
crossing
the F₃
of this
male o
the ma
in mat

females	males	
wild types	yellow-vermilion infertile	vermilion-short infertile
168	84	76

The sex chromosome composition of these is shown in fig. 7. The characterisation of the two kinds of males showed that one possessed an X completely of race A, whereas the other's X was composed of a left end of race A and a right end of race B. The Y of both kinds being of race B. The male and female offsprings of this F₃ were then mated; in some vials one male and one female were placed together, in other numerous males and females, but all the matings were fruitless.

6. The wild type female of F₃, obtained from the above mentioned matings were mated to wild type males of race B. Three successful cultures gave five types of males and one type of female.

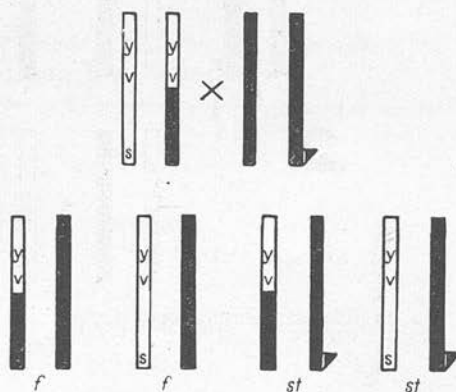


Fig. 7. The sex chromosome composition of the F₃ generation

females	males				
wild type	yellow vermilion short (sterile)	yellow vermilion (sterile)	yellow (sterile)	vermilion (fertile)	wild (fertile)
194	45	41	9	13	67

The presence of yellow and the vermilion males showed that crossing-over between the loci of yellow and vermilion in the case of the F₃ female parent had occurred. The sex chromosome composition of this types in the F₄ are shown in fig. 8. Matings of the female and male offspring of the same generation were then carried out, but all of the males except the wild type and vermilion alone proved to be fertile in mating.

It is seen, therefore, that a male whose sex chromosomes are not completely of one race, can be fertile, when the two ends are of one race, in this case of race B, the middle portion of the other, in this case of race A.

7. The vermilion males of F_4 were then mated with the wild type sisters. Only wild type offspring appeared. This shows that though

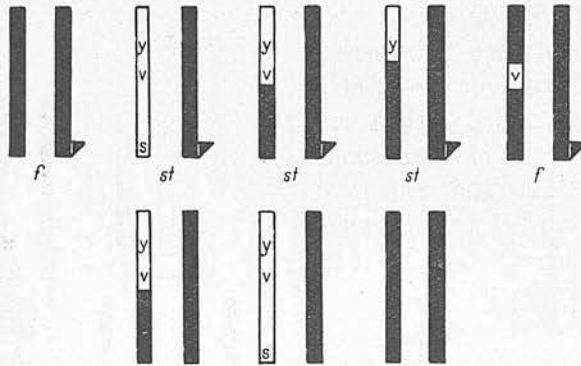


Fig. 8. The sex chromosome composition of the F_4 generation. The vermilion males are fertile

it was known, that there were two kinds of wild type females in F_4 , one with both X-s of race B, and the other with one X of A carrying yellow-vermilion-short and with one X chromosome of race B, in spite of this fact all of the male offspring was only of the wild type. To explain this, one may assume either that no matings occurred between vermilion male and hybrid female heterozygous for yellow and vermilion (all of the females used for crossing were pure race B as regards the sex chromosomes), or that the yellow vermilion males were by some lethal effect obliterated. The most important fact for us to realize, is that the vermilion male of F_4 did produce offspring, i. e. they were completely fertile.

8. It was next attempted to transfer that position of the X chromosome of race B carrying bubble to race A.

Singed-bubble males of race B were mated with yellow vermilion females of race A and the hybrid females were backcrossed to singed-bubble males of race B. The bubble females of F_2 were next mated with yellow vermilion males of race A. Three successful cultures gave

The
the bubble
carrying
bubble be
vermilion

9. T
males of 1

The
mated wi
and yello
fertile ye
attempt t
unsuccessf
piece, car

The
which wa
7. above.
left end
with a Y
and cond
the two e
from the
genetic
Drosophi

females		total	males		total
wild	yellow vermilion		yellow vermilion bubble	singed bubble	
67	56	123	45	56	101

The existence of the yellow vermilion bubble males showed that the bubble females of F_2 had chromosome with its left end of race A, carrying yellow and vermilion, and its right end of race B, carrying bubble being homozygous for the latter and heterozygous for yellow vermilion and singed.

9. The yellow vermilion females were then mated with wild type males of race A and the following classes were obtained:

females	males		total
wild type	yellow vermilion bubble (infertile)	yellow vermilion (fertile)	
135	48	65	113

The yellow vermilion males had testes of normal size and when mated with their wild sister gave an F_3 as follows: fertile wild type and yellow vermilion females, infertile yellow vermilion bubble males, fertile yellow vermilion and wild type males. It is seen, that the attempt to transfer that portion of X of race B, carrying bubble, was unsuccessful, for only an X with the right half and not merely the end piece, carrying bubble of race B was secured.

3. Discussion

The only hybrid male in the whole of the above experiments, which was fertile in mating, was the vermilion male, described in 6. and 7. above. This vermilion male had an X of the following composition: left end of race B, middle of race A, right end of race B, in association with a Y chromosome of race B; *it would seem that fertility is associated with and conditioned by a similarity in the racial origin of the Y and at least the two ends of the X*, the middle of X can be of racially different origin from the Y. It is reasonable to postulate, therefore that there are genetic factors affecting fertility in the end of the X chromosome of *Drosophila obscura* and that these are different in the two races A and B.

Four matters demand further discussion:

- (1). The fertility of the racially hybrid female.
- (2). The infertility of the racially hybrid male.
- (3). The fertility of the vermilion male.
- (4). The modifications of crossing over.

These postulated fertility factors resident in the ends of the Y chromosome, cannot be discussed without reference to others in the Y chromosome. The Y chromosome in males is essential to fertility, a male without it is sterile, as stated by BRIDGES (1916) and C. STERN (1929) who gave the first chromosome map of the Y chromosome and has shown, that in the *Drosophila melanogaster* the ends of the Y chromosome are specifically concerned with fertility. In the Y chromosome there are qualitatively different regions as stated by C. STERN.

For fertility in *Drosophila obscura* it is necessary that there should be present in the male a Y and an X with both ends of the same racial origin as the Y chromosome as was the case in our vermilion male. One must assume therefore, that the genes affecting fertility which are resident in the ends of X, can produce their effects only when they can operate in conjunction with or through fertility factors in the Y chromosome; that is to say, that their relation is as that of the lock and key.

LANCEFIELD has found some Pointed vermilion males, which were fertile in spite of the presence of racially different Y. It is not impossible that in these cases by double crossing-over the racially similar fertility genes remained unaltered.

The females differ in that the female with one X chromosome from each race is fertile, as is also the female with racially compound X's. In the case of racially hybrid female we must assume that the fertility factors of each X operate directly, while their work is controlled by factors of the Y chromosome in the male.

The necessity of postulating such a difference between male and female weakens the attempted explanation of the facts observed so that another interpretation had to be sought. An appeal to the hypothesis of GOLDSCHMIDT is helpful, but not totally satisfactory. One may assume that the quantitative change of the fertility factors either in a positive or a negative direction produce sterility in the hybrid. We can assume that in the race B the fertility factors in the X chromosome produce quantitative changes in a negative direction, while the fertility factors

of the Y
with that

In t
no Y, to
But in th
infertility.

change in
over has

The
the work
in the Y c

At
the modi
crossing-o

"reducers

mosomes,
beaded—

over redu

62 to 2:7
bubble a

crossing-o
assumpti

lie the
similar c

for the s

The
a race B

by mati

respect o

with sma

assume v

size is fe

to norm

determin

ordinary
over, we

Th
and the
racial c

of the Y chromosome change in a positive direction as in comparison with that of race A.

In the racially hybrid females the factors act directly, there being no Y, to control their action upon the gonads, i. e. they are fertile. But in the male the qualitative change in the fertility factors produce infertility. In the vermilion fertile racially hybrid male, there is no change in the quantity of the above mentioned factors, for crossing-over has reestablished the original condition.

The problem is a very complicated one as it can be seen from the work of C. STERN. He has shown that even the male fertility factors in the Y chromosome are of different qualities as mentioned already above.

At present it is impossible to offer any suggestion that will explain the modification in crossing-over, save that the factors *responsible for crossing-over reduction are also concerned with fertility*. The crossing-over "reducers" are situated in the ends of the racially compound X chromosomes, i. e. between Pointed—yellow, fused—short bubble—short, and beaded—singled as it was pointed out by LANCEFIELD. The crossing-over reduction in A/B female between Pointed and yellow is enormous: from 62 to 2.7; between fused and short is reduced from 66.0 to 3.8; between bubble and short is reduced from 44.5 to 5.1. These modifications in crossing-over, observed in our experiments, are to be explained on the assumption that in these regions of the X chromosome of the two races lie the causes for sterility too and therefore one may conclude that similar causes are responsible both for the crossing-over reduction and for the sterility in the hybrid.

The hybrid male produced by the mating of race A female and a race B male, has testes of normal size yet is sterile. In the F_2 produced by mating the F_1 females to P_1 males, the males are of two classes in respect of testis size: (1) normal and (2) abnormally small. The male with small testis is invariably sterile in mating, but it is impossible to assume without actual experiment, that the male with testes of normal size is fertile. In the repeated backcrosses there was tendency to return to normal size. This would be expected if testis size was a character determined by genes in both sex and autosome chromosomes. For the ordinary processes of chromosome distribution together with crossing-over, would yield a range of size.

There is no relation between sterility and fertility on the one hand and the composition of the zygote in respect of racial chromatin and racial cytoplasm on the other. In the latter generations described,

there were all possible combinations of racial chromatin and cytoplasm and it was impossible to relate any of these with sterility.

In the present state of our knowledge of the genetics of *Drosophila obscura* it is reasonable to agree with LANCEFIELD, who suggests, that possibly the most significant difference between races A and B is that portions of the sex chromosomes in one race have, in comparison with the equivalent portions in the other race, become inverted. It is possible that these inversions are responsible for the reduction in crossing-over and altered deeply the original situation of factors, concerned with fertility.

The real interest of this material lies in the fact, that it furnishes a possible example of the method of origin of a new species. LANCEFIELD and STERN have argued, that an early step in such an origin might well be genetic modifications affecting the sex determining mechanism, whereby males are produced, which are infertile with the parental stock. The same phenomenon was commonly observed by H. HARRISON in his work on the *Bistonias* varieties.

4. Summary

(1). D. E. LANCEFIELD had discovered and described two distinct races or physiological species of *Drosophila obscura*. The F_1 racial hybrid female is partly fecund, the racial hybrid male is sterile. There are remarkable reductions in crossing-over in the regions of the ends of the X chromosomes in the F_1 racial hybrid female, when compared with that which occurs in the racially pure.

(2). Experiments involving the use of several sex linked characters and crossing-over showed, that the only fertile male racial hybrid was one with a Y chromosome of race B and a racially compound X chromosome, ends of which were race B and a middle of race A.

(3). It is suggested that there are genes affecting fertility and sterility located in the ends of the sex chromosomes and dissimilar in their physiological action in the two races, and that this is the explanation of reduced crossing-over, and also of the fact that for fertility in the male, the Y chromosome and at least two ends of the companion X must be of similar racial origin.

(4). Support is given to LANCEFIELD's suggestion that the relation of the two races is a study in the origin of species.

References

- BRIDGES, C. B., 1916. Non disjunction as a proof of the chromosome theory of heredity. *Genetics* **1**, 1—52.
- LANCEFIELD, D. E., 1922. Linkage-relation of the sex linked characters in *Drosophila obscura*. *Genetics* **7**, 335—384.
- 1925. An interracial cross in *Drosophila obscura* producing partially fertile hybrids. *Anat. Rec.* **31**, 346.
- 1929. A genetic study of crosses of two races or physiological species of *Drosophila obscura*. *Zeitschr. f. indukt. Abst.- und Vererbungsl.* **52**, 2/3, 287—317.
- STERN, C., 1929. Untersuchungen über Aberrationen des Y-chromosoms von *Drosophila melanogaster*. *Zeitschr. f. indukt. Abst.- und Vererbungsl.* **51**, 2, 254—353.

Inhaltsverzeichnis von Bd. LX Heft 2/3

Abhandlungen

	Seite
Patterson, J. T., A gene for viability in the X-chromosome of <i>Drosophila</i> . (With 4 Text-figures)	125—136
Koller, P. Ch., Dr., The relation of fertility factors to crossing-over in the <i>Drosophila obscura</i> hybrid. (With 8 Text-figures.)	137—151
Kattermann, Georg, Genetische Beobachtungen und zytologische Untersuchungen an der Nachkommenschaft einer Gattungskreuzung. Teil I. Genetische Beobachtungen. (Mit 10 Text-figures.)	152—206
Bridges, Calvin B., The suppressors of purple	207—218
Shull, George H., An "egg lethal" associated with the <i>pervirens</i> factor in <i>Oenothera Lamarckiana</i> . (With 3 Text-figures) . .	219—234
Dobzhansky, Th., Studies on chromosome conjugation. I. Translocations involving the second and the Y-chromosomes of <i>Drosophila melanogaster</i> . (With Plate I and II and 9 Diagrams)	235—283

Kleinere Mitteilungen

Grüneberg, Hans, Einige Bemerkungen zur quantitativen Auswertung zwillingsbiologischer Daten	287—290
Neue Literatur. b) paläontologisch	(1)—(10)

Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen

steht offen jeder Art von exakten Forschungen über Ursachen und Bedingungen der organischen Gestalten.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Autors »Kurze Mitteilung« tragen, werden so bald als möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Das Archiv erscheint zur Ermöglichung raschster Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften; mit etwa 50 Bogen wird ein Band abgeschlossen.

Das Honorar beträgt RM 40.— für den 16 seitigen Druckbogen; »Kurze Mitteilungen« werden nicht honoriert.

Die Mitarbeiter erhalten von ihren Arbeiten, welche nicht mehr als 24 Druckseiten Umfang haben, 100 Sonderabdrucke, von größeren Arbeiten 60 Sonderabdrucke unentgeltlich. Doch bittet die Verlagsbuchhandlung, nur die zur tatsächlichen Verwendung benötigten Exemplare zu bestellen. Über die Freiemplarzahl hinaus bestellte Exemplare werden berechnet. Die Mitarbeiter werden jedoch in ihrem eigenen Interesse dringend ersucht, die Kosten vom Verlage zu erfragen.

Die Herren Autoren werden gebeten, den Text ihrer Arbeiten so kurz zu fassen, wie es irgend möglich ist und sich in den Abbildungen auf das wirklich Notwendige zu beschränken. Zugleich wird ersucht, auf bereits in früheren leicht zugänglichen Abhandlungen befindliche Literaturverzeichnisse zu verweisen und nur die neuere Literatur genau anzugeben.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an:

Professor Dr. W. Vogt, Zürich, Plattenstr. 9, Anatomisches Institut
oder an:

Professor Dr. B. Romeis, München, Ferdinand-Miller-Platz 3.

Die Herausgeber:

H. Spemann. W. Vogt. B. Romeis

Verlagsbuchhandlung Julius Springer in Berlin W 9, Linkstr. 23/24
Fernsprecher: Sammel-Nrn. Kurfürst 6050 u. 6326. Drahtanschrift: Springerbuch-Berlin
Reichsbank-Giro-Konto und Deutsche Bank, Berlin, Dep.-Kasse

125. Band.

Inhaltsverzeichnis.

4. Heft

Moore, Mary Mitchell, On the coherence of the blastomeres of sea urchin eggs. With 2 figures in the text	4
Hadorn, Ernst, Über Organentwicklung und histologische Differenzierung in transplantierten merogonischen Bastardgeweben (<i>Triton palmatus</i> (♀) × <i>Triton cristatus</i> - ♂). Mit 61 Textabbildungen	4
Lehmann, Fritz Erich, Die Beteiligung von Implantats- und Wirtsgewebe bei der Gastrulation und Neurulation induzierter Embryonalanlagen. Mit 45 Textabbildungen	5
Brunst, V., Über die Bedeutung der Funktion für die definitive Skelettbildung der Extremitäten bei der Regeneration. Mit 16 Textabbildungen	5
Koller, P. Ch., Der Einfluß chemisch reinen Thyroxins auf die Entwicklung von <i>Drosophila melanogaster</i> . Mit 1 Textabbildung	5
Romeis, B., und Wüst, J., Die Wirkung von Thyroxin auf den Gasstoffwechsel von Schmetterlingspuppen. II. Teil. Mit 10 Textabbildungen	6
Romeis, B., und v. Dobkiewicz, L., Die Wirkung von Thyroxin auf den Gasstoffwechsel von Schmetterlingspuppen. III. Teil. Ergänzende mikroskopische Untersuchungen. Mit 10 Textabbildungen	6
Tauson, A., Die Abhängigkeit der Verbreitung von <i>Holopedium gibberum</i> Zadd. von einigen Faktoren des äußeren Mediums. Mit 6 Textabbildungen	6
Autorenverzeichnis	6

DE
 Die
 NATSC
 Kaulq
 tieren
 Thyro
 sucht.
 wie ne
 Es
 wurde
 mal p
 roxin
 subst
 Weise
 wurde
 reiner
 klarst
 Stoffe
 Es
 Dr. F
 aufrie
 die M
 die B
 Di
 Inzuc
 halten
 war f
 w.

(From the Animal Breeding Institute, Edinburgh.)

DER EINFLUSS CHEMISCH REINEN THYROXINS AUF DIE ENTWICKLUNG VON DROSOPHILA MELANOGASTER.

Von

P. CH. KOLLER.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 8. Oktober 1931.)

1. Einleitung.

Die Wirkung des Thyroxins auf Wirbeltiere ist bekannt. GUDERNATSCH vermochte mit Hilfe dieses Stoffes die Entwicklungsdauer der Kaulquappe abzukürzen. Andere Forscher erzielten an anderen Wirbeltieren das gleiche Resultat. Der Einfluß von Schilddrüsensubstanz und Thyroxin auf Wirbellose wurde ebenfalls in langen Versuchsreihen untersucht. Die Ergebnisse während der letzten 15 Jahre waren sowohl positiv wie negativ (S. DOBKIEWICZ u. ROMEIS 1929).

Es ist bemerkenswert, daß vollkommen gegenteilige Ergebnisse erzielt wurden, je nachdem, ob man Schilddrüsensubstanz benutzte (die manchmal positive Resultate zeitigte) oder ob man mit chemisch reinem Thyroxin arbeitete. DOBKIEWICZ (1929) fand, daß getrocknete Schilddrüsensubstanz die Entwicklungsdauer von *Drosophila melanogaster* in keiner Weise verändern konnte, was von verschiedenen Forschern bestätigt wurde. Die folgenden Experimente sollten nun die Wirkung chemisch reinen Thyroxins auf die Entwicklungsdauer von *Drosophila melanogaster* klarstellen, da bei den Untersuchungen DOBKIEWICZs ein Einfluß anderer Stoffe der Schilddrüse im Bereich der Möglichkeiten lag.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle Herrn Professor Dr. F. A. CREW für seine wertvollen Anregungen und Ratschläge meinen aufrichtigsten Dank auszudrücken. Ebenso danke ich Frl. R. LAMY für die Mühewaltung bei der Zucht der Fliegen und Herrn Dr. C. VOGÉ für die Bestimmung des p_H.

2. Methoden und Technik.

Die zu den Versuchen benutzten Fliegen gehörten zu einem in starker Inzucht begriffenen Stamm, der einige Jahre auf sterilen Bananen gehalten worden war. Die Zusammensetzung des normalen Nährbodens war folgende:

100 g geschälte Banana,
100 ccm Wasser,

4 g Agar-Agar,
1 Tropfen einer verdünnten
Hefelösung.

Der Nährboden für die Versuchstiere enthielt außerdem:

1 mg chemisch reines Thyroxin,
0,3 ccm InNaOH .

Das p_{H} des normalen und des Thyroxinnährbodens wurde sorgfältig gemessen. Abb. 1 zeigt die Unterschiede in der Versuchs- und in der Kontrollreihe. Am ersten Tag ergab sich eine Abweichung des p_{H} der Thyroxinnährmischung um 1,7 vom normalen, und erst am dritten Tag sank es von 5,6 auf 5,2. Das höhere p_{H} des Normalnährbodens am dritten Tage ist auf Gärung zurückzuführen. Es muß bemerkt werden, daß die Substanz zur Messung des p_{H} in den Kontroll- wie in den Thyroxin-ulturen Gläsern entnommen wurde, die bereits Fliegen enthielten. In

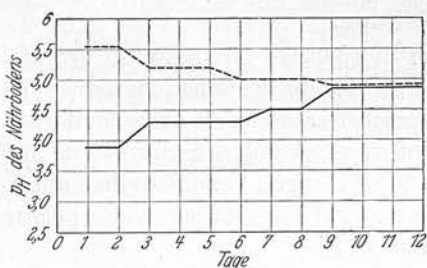


Abb. 1. Veränderung des p_{H} — im normalen, — — — im Thyroxinnährboden.

fliegenlosen Nährböden wich das p_{H} stark von den mit Fliegen besetzten ab. Dasselbe ergab sich für Nährböden ohne Hefe, die nicht in Gärung gerieten. Zu den Versuchen brauchten wir den Typ der wilden *Drosophila melanogaster* und die *y*, *v*, *f* und *b*, *pr* Mutationen¹, die leichter, um festzustellen, ob sich Mutanten etwa anders verhielten.

Alle Versuchstiere stammten aus demselben Schlupf, dadurch war es möglich, die Zeitpunkte der Eiablage bzw. des Schlüpfens zu vergleichen. Die Kulturen waren in fünf verschiedenen Reihen angesetzt. Reihe A_1 war die Kontrolle auf gewöhnlichem Banannährboden; Reihe B_1 waren die thyroxingefütterten Fliegen. Beide wurden in kleinen Röhren gezogen. Die übrigen wuchsen in 300 ccm großen Gläsern an. Reihe A_2 war die Tochtergeneration von A_1 und Reihe B_2 die von B_1 . Die letztere wurde ebenfalls auf Thyroxinnahrung gehalten. In Reihe A_2 wurden Nachkommen von B_1 , die nach dem Schlüpfen aus der Puppe auf Normalnahrung gebracht worden waren, auf dieser weiter gezüchtet. Hierbei sollte sich zeigen, ob die Einwirkung des Thyroxins während des Larven- oder Imaginalstadiums stattfand. Die Fliegen wurden paarweise in Röhren bzw. Gläser getan, ohne vorher ätherisiert zu sein, da die Ätherisieren bekanntlich die Eiablage nachteilig beeinflusst. Die Versuchs- und Kontrollreihen wurden im gleichen Raum bei 25–26° C gehalten.

¹ *y* = yellow, *cv* = crossveinless, *v* = vermilion und *f* = forked sind schlechtsgebundene Charaktere; *b* = black und *pr* = purple sind Autosomen in zweitem Chromosom.

Tabelle 2. Die Entwicklungsdauer von Reihe A₂, B₂ und C in Tagen.

Nr. der Kultur	Erste Eiablage	Erste Larve	Erste Puppe	Erste Imago
Reihe A ₂ .				
2	3	5	10,5	13,5
3	2,5	4,5	10	13
4	3	5	10	13
6	2,5	5	9,5	12,5
7	2,5	4,5	10	13
9	3	5	11	13,5
10	2,5	5	10,5	12,5
	$M_1 = 2,71 \pm 0,62$ $\sigma_1 = 0,247 \pm 0,67$	$M_2 = 4,85 \pm 0,58$ $\sigma_2 = 0,232 \pm 0,41$	$M_3 = 10,20 \pm 0,11$ $\sigma_3 = 0,451 \pm 0,80$	$M_4 = 13 \pm 0,1$ $\sigma_4 = 0,377 \pm 0,1$
Reihe B ₂ .				
3	2,5	4	10	12,5
4	3	4,5	10	13
6	3	5	10,5	13
7	2,5	4,5	10	12,5
8	3	5	10	13
9	3	5	10,5	12,5
10	2,5	4,5	9,5	12,5
11	3,5	6	11	13,5
13	3	5	10,5	13
14	2,5	4,5	10	13
15	2,5	5	11	13,5
17	3	5	10,5	13
21	3,5	5,5	11,5	14
	$M_1 = 2,88 \pm 0,77$ $\sigma_1 = 0,350 \pm 0,46$	$M_2 = 4,88 \pm 0,10$ $\sigma_2 = 0,493 \pm 0,64$	$M_3 = 10,34 \pm 0,11$ $\sigma_3 = 0,545 \pm 0,71$	$M_4 = 13 \pm 0,1$ $\sigma_4 = 0,438 \pm 0,1$
Reihe C.				
1	2,5	5	10,5	13
2	2,5	4,5	10	13
4	3	5	10,5	13,5
5	3	5	11	13,5
7	2,5	4	10	12,5
8	3	4,5	10,5	12,5
9	2,5	4,5	10	12,5
10	3	5	11	13,5
12	3	5	10,5	13
14	2,5	4,5	10	12,5
	$M_1 = 2,75 \pm 0,16$ $\sigma_1 = 0,809 \pm 0,12$	$M_2 = 4,7 \pm 0,17$ $\sigma_2 = 0,811 \pm 0,12$	$M_3 = 10,4 \pm 0,87$ $\sigma_3 = 0,419 \pm 0,61$	$M_4 = 12,9 \pm 0,1$ $\sigma_4 = 0,450 \pm 0,1$

Abb. 1
und de
Eiablag
dem z
anorma
gefallen
obacht
Die
wicklu
Siel
mittell

Nr.
der
Kul-
tur

1.

1 17

2 9

4 20

5 14

7 18

8 5

9 11

Sa. 94

% 25.

beider

sucher

(42,9%

Ta

Reihe

gen w

für di

Di

Fruch

Ta

B₁. E

gibt d

Abb. 1 vergleichen, so ergibt sich, daß zwischen dem p_H des Nährbodens und der Entwicklungsdauer ein sehr enger Zusammenhang besteht. Die Eiablage begann in Reihe A_1 gleich nach Beginn der Nahrung, zwischen dem zweiten und dritten Tag. In Reihe B_1 wurde die Eiablage durch das anormal hohe p_H verzögert und begann erst, nachdem es von 5,6 auf 5,2 gefallen war. Nur in Kultur 10 wurde Eiablage zur normalen Zeit beobachtet.

Die Daten zeigen, daß die Thyroxinfütterung keine Wirkung auf Entwicklungsdauer und Entwicklungserfolg hat.

4. Fruchtbarkeit.

Sieben Zählungen wurden vorgenommen für Reihe A_1 und B_1 (unmittelbar hintereinander). Tabelle 3 zeigt die Anzahl der Nachkommen

Tabelle 3. Fruchtbarkeit der Reihen A_1 und B_1 .

Reihe A_1									Reihe B_1								
Nr. der Kultur	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	Summe	Nr. der Kultur	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	Summe
1	17	39	12	3	1	—	—	72	2	8	10	11	9	5	2	2	47
2	9	21	8	8	4	1	—	51	3	3	17	8	9	3	18	8	66
4	20	15	9	3	1	—	—	48	5	5	7	5	1	1	—	—	19
5	14	9	12	7	3	—	—	45	6	4	8	11	4	3	1	—	31
7	18	32	10	3	2	1	—	66	7	5	12	7	—	2	2	—	28
8	5	24	8	5	2	—	—	44	8	4	6	8	2	2	1	—	23
9	11	19	8	4	1	1	—	44	9	3	8	7	4	2	2	1	27
									10	10	14	22	9	3	1	—	59
Sa.	94	159	66	33	15	3		370	Sa.	42	82	79	38	21	27	11	300
%	25,4	42,9	17,8	8,9	4,3	0,7		—	%	14,0	27,3	26,3	12,6	7	9	3,6	—

beider Reihen. Es ist interessant festzustellen, daß bei den Kontrollversuchen die zweite Zählung fast die Hälfte der gesamten Menge der Fliegen (42,9%) ergab, während diese in der Thyroxinreihe nur 27,3% enthält.

Tabelle 4 zeigt die Zählungen der Reihen A_2 , B_2 und C. Die letzte Reihe ergab in der ersten Zählung ungefähr die gleiche Anzahl von Fliegen wie Reihe A_2 . Tabelle 5 demonstriert die mittlere Anzahl der Fliegen für die Kultur.

Die Ergebnisse beweisen, daß das Thyroxin keine Wirkung auf die Fruchtbarkeit hat.

5. Zahlenverhältnis der Geschlechter.

Tabelle 6 gibt das Zahlenverhältnis der Geschlechter in Reihe A_1 und B_1 . Einige Einzelkulturen (Nr. 2, 5) zeigen eine Ungleichheit. Tabelle 7 gibt das Zahlenverhältnis der Geschlechter in Reihe A_2 , B_2 und C. Die

Tabelle 4. Fruchtbarkeit der Reihen A₂, B₂ und C.

Nr. der Kultur	Reihe A ₂						Reihe B ₂						Reihe C										
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	Nr. der Kultur	1.	2.	3.	4.	5.	6.	Summe	Nr. der Kultur	1.	2.	3.	4.	5.	6.	Summe	
2	15	44	22	12	4	—	97	3	20	41	31	38	24	20	174	1	22	30	34	13	2	2	103
3	17	31	86	8	2	—	144	4	15	42	24	8	3	—	92	2	18	45	21	8	1	—	93
4	10	42	12	4	2	2	72	6	20	29	47	18	7	2	123	4	32	56	38	22	12	8	168
6	19	34	14	9	8	3	87	7	17	73	54	11	—	2	157	5	15	65	89	45	22	11	247
7	8	37	42	17	7	4	115	8	18	89	44	27	9	7	194	7	23	34	40	27	12	7	143
9	24	48	31	15	8	2	128	9	27	74	38	12	8	—	159	8	28	45	85	36	22	13	229
10	12	29	43	17	9	4	114	10	27	24	27	20	12	5	115	9	23	19	67	25	8	—	142
								11	20	60	30	12	6	—	128	10	35	47	23	15	7	2	129
								13	11	25	71	21	8	3	139	12	39	74	27	12	5	—	157
								14	6	40	92	27	24	3	192	14	14	44	34	40	13	6	151
								15	22	68	34	31	7	—	162								
								17	15	57	36	18	8	4	138								
								21	21	72	34	12	7	1	147								
Sa.	105	265	250	82	40	15	757	Sa.	239	694	562	255	123	47	1920	Sa.	249	459	458	243	104	49	1562
%	13,7	35	33	10,8	5,4	1,9		%	12,4	35,2	29,4	13,4	6,3	2,4		%	16,7	29	29,2	15,5	6,6	3,1	—

Reihe	Ta	Nr. der	Tab	Nr. der K	Su	Verhä
A ₁				2		
A ₂				3		
B ₁				4		
B ₂				6		
C				7		
				9		
				10		

Tabelle 5. Die mittlere Anzahl der Fliegen per Kultur.

Reihe	Gesamtzahl der Fliegen	Nummer der Kultur	Mittelwert per Kultur
A ₁	370	7	53
A ₂	757	7	108
B ₁	300	8	37
B ₂	1920	13	148
C	1562	10	156

Tabelle 6. Zahlenverhältnis der Geschlechter in Reihe A₁ und B₁.

Reihe A ₁			Reihe B ₁		
Nr. der Kultur	♀♀	♂♂	Nr. der Kultur	♀♀	♂♂
1	37	35	2	33	14
2	28	23	3	35	31
4	24	24	5	13	6
5	25	20	6	14	7
7	34	32	7	21	17
8	23	21	8	14	9
9	21	23	9	15	12
			10	33	26
Summe	192	178	Summe	178	122
Verhältnis	1 : 0,93		Verhältnis	1 : 0,68	

Tabelle 7. Zahlenverhältnis der Geschlechter in Reihe A₂, B₂ und C.

Reihe A ₂			Reihe B ₂			Reihe C		
Nr. der Kultur	♀♀	♂♂	Nr. der Kultur	♀♀	♂♂	Nr. der Kultur	♀♀	♂♂
2	47	50	3	83	91	1	62	41
3	81	63	4	43	49	2	42	51
4	38	34	6	63	60	4	93	75
6	49	38	7	79	78	5	143	104
7	64	51	8	103	91	7	78	65
9	65	63	9	78	81	8	124	105
10	67	47	10	64	51	9	76	66
			11	73	55	10	67	62
			13	69	70	12	87	70
			14	104	88	14	86	65
			15	92	70			
			17	71	67			
			27	89	58			
Summe	411	346	Summe	1010	901	Summe	858	704
Verhältnis	1 : 0,84		Verhältnis	1 : 0,89		Verhältnis	1 : 0,82	

Tabelle 8. Körpergröße der Imago.

Nr. der Kultur	♀♀				♂♂				
	2,25—2,50 mm	2,50—2,75 mm	2,75—3,0 mm	3,0—3,25 mm	2,0—2,25 mm	2,25—2,50 mm	2,50—2,75 mm	2,75—3,0 mm	
Reihe A ₁ .									
1	4	28	5	—	8	18	7	2	Abweic
4	—	15	8	1	1	12	9	2	ebenso
7	1	21	10	2	3	20	9	—	Deshalb
8	—	14	6	1	3	16	4	—	einigen
Summe	5	78	29	4	15	66	29	4	weichu
%	4,31	67,2	25,0	3,4	13,1	57,9	25,4	3,1	durch T
Reihe B ₁ .									
2	5	25	3	—	1	12	1	—	Es
5	2	7	3	1	—	5	1	—	bes
6	2	6	4	2	1	12	4	—	Körper
9	2	9	4	—	1	8	3	—	Wi
Summe	11	47	14	3	3	37	9	—	von 6,0
%	14,6	62,6	18,6	4,0	6,12	75,5	18,3	—	zweite
Reihe A ₂ .									
2	—	30	13	4	1	41	8	—	durch
3	2	57	21	1	3	49	11	—	ändert
6	1	36	9	3	2	25	11	—	Tab
7	1	48	13	2	2	36	13	—	die gle
10	—	43	22	2	1	29	17	—	Tab
Summe	4	214	78	12	9	180	60	—	Nr. de
%	1,2	69,4	25,3	3,8	3,5	72,5	24,0	—	Kultu
Reihe B ₂ .									
9	—	59	22	2	—	63	28	—	6—
8	—	58	42	3	4	65	22	—	9—1
10	1	37	24	2	1	42	8	—	10—1
11	—	50	22	1	3	39	13	—	13—1
17	1	41	27	2	1	51	15	—	15—1
Summe	2	245	140	10	9	260	86	—	21
%	0,5	61,7	35,2	2,5	2,5	73,2	24,2	—	
Reihe C.									
1	2	45	13	2	2	21	18	—	8—
5	4	90	42	7	3	63	38	—	10—1
7	1	52	20	5	1	45	19	—	14
8	3	70	39	12	4	67	34	—	
14	3	52	27	4	2	49	14	—	Fr
Summe	13	318	145	30	12	245	123	—	Insekt
%	2,5	62,8	28,6	5,9	3,1	64,4	32,3	—	DOBK

Abweichung in dem Zahlenverhältnis ist unregelmäßig und ungefähr ebenso bei den thyroxingefütterten Fliegen wie in den Kontrollversuchen. Deshalb war nicht das Thyroxin die Ursache für die Abweichungen in einigen Kulturen der Reihe B₁. Es muß sich um eine normale Abweichung gehandelt haben. Das Zahlenverhältnis der Geschlechter wurde durch Thyroxinnahrung nicht verändert.

6. Körpergröße der Imago.

Es wurden einigen Kulturen Fliegen entnommen und auf Millimeterpapier gemessen. Tabelle 8 zeigt die Mittelwerte für die einzelnen Reihen. Von Reihe A₁ gehörten 57,90% zur zweiten Klasse (2,25—2,50 mm) in Reihe B₁ 75,5%, in Reihe A₂ 72,56%, in Reihe B₂ 73,23% und in C 64,17%. Es besteht demnach keine Beziehung zwischen Thyroxinfütterung und Körpergröße.

7. Crossing over.

Wir arbeiteten mit Autosomen *black* und *purple* von einer Entfernung von 6,0 Einheiten. *black* war bei 48,5 und *purple* bei 54,5 Einheiten im zweiten Chromosom gelegen. Wir wählten gerade Autosomen, weil diese durch eventuelle Veränderungen im Geschlechtschromosom nicht verändert worden wären.

Tabelle 9 zeigt die Austauschwerte, die für alle drei Reihen nahezu die gleichen sind.

Tabelle 9. Austauschwerte für *black* und *purple* in Reihe A₂, B₂ und C.

Nr. der Kultur	Gesamtzahl der Fliegen	Kein Austausch		Austausch		Austauschwerte
		++	<i>b pr</i>	<i>b</i>	<i>pr</i>	
Reihe A ₂ .						
6—7	} 444	223	195	14	12	5,8
9—10						
Reihe B ₂ .						
10—12	} 1021	480	478	38	25	6,1
13—14						
15—17						
21						
Reihe C.						
8—9	} 808	396	364	27	21	5,9
10—12						
14						

8. Diskussion.

Frühere Versuche haben ergeben, daß Thyroxin keine Wirkung auf Insekten ausübt. Einige positive Ergebnisse sind wahrscheinlich (nach DOBKIEWICZ 1929) auf unvollkommene Technik und ungenaue Arbeits-

weise zurückzuführen. Die Wirbellosen sind anscheinend immun gegen die Wirkungen des Thyroxins. FLEISCHMANN (1929), ROMEIS u. WÜST (1929) zeigten an Lepidopteren, daß das Thyroxin die Atmung zu steigern vermag, jedoch nicht die Entwicklung beeinflußt, und sie nehmen an, daß die Wirkung des Thyroxins auf Wirbeltiere und Wirbellose insofern verschieden ist, als „das Thyroxin nicht nur den Abbau der larvalen, sondern auch den Aufbau der definitiven Organe und Gewebe beschleunigt“.

Es dürfte sich daraus schließen lassen, daß die Insekten keine Organe besitzen, die auf Thyroxin reagieren können, oder daß sie über Mittel verfügen, den Stoff bis zur Unwirksamkeit zu verändern.

9. Zusammenfassung.

1. Es wurde die Wirkung chemisch reinen Thyroxins auf Entwicklungsdauer, Fruchtbarkeit, Geschlechtsverhältnis, Körpergröße und Crossing over bei *Drosophila melanogaster* untersucht.

2. Die Ergebnisse zeigen, daß *Drosophila* nicht wie Wirbeltiere auf Thyroxin reagiert.

3. Einige kleine Änderungen (beispielsweise in der Eiablage) waren auf sekundäre Wirkung des Thyroxins (Änderung des p_H des Nahrungsbodens) zurückzuführen.

4. Die negativen Ergebnisse DOBKIEWICZ' mit getrockneter Schilddrüse wurden mit chemisch reinem Thyroxin bestätigt.

9. Summary.

1. Chemically pure thyroxin solution was used to study the effect on the metamorphic rate, fecundity, sex ratio, size and crossing-over in *Drosophila melanogaster*.

2. The data obtained show that *Drosophila* does not respond to thyroxin in the same way as do the Vertebrates.

3. Some small alteration (e. g. in the egg-laying period) was due to secondary effect of thyroxin; i. e. the altered p_H of the food.

4. The negative results obtained by DOBKIEWICZ with dried thyroid gland were confirmed when pure thyroxin was used.

10. Literatur.

- Dobkiewicz, L.: Der Einfluß von Schilddrüsenfütterung auf Entwicklung, Wachstum und Fortpflanzung der Taufliege (*Drosophila melanogaster*). Roux' Arch. 113, 61 (1928). — Fleischmann, W.: Zur Frage der Beeinflussung Wirbeltierloser durch Wirbeltierinkrete. Pflügers Arch. 221, 591 (1929). — Romeis, J. u. Wüst, J.: Die Wirkung von Thyroxin auf den Gasstoffwechsel von Schmetterlingspuppen. Roux' Arch. 118, 534 (1929).

de

Da
selben
wickl
Umfar
jeder
Körpe
auf die
und d
aus de
Die Al
logisch
da die
dung
De
geglie
hält

Leh
Fi
tu
82

Die
fa
B
M

Leh
V
to
10

Gru
V
U
di

Lei
di
M

* Auf

VE 1

VERLAG VON JULIUS SPRINGER IN BERLIN

Vor kurzem erschien:

Die mitogenetische Strahlung

zugleich zweiter Band der „Probleme der Zellteilung“

Von

Professor Dr. **Alexander Gurwitsch**

Institut für Experimentelle Medizin in Leningrad

Unter Mitwirkung von **Lydia Gurwitsch**

Mit 70 Abbildungen. IX, 384 Seiten. 1932. RM 32.—; gebunden RM 33.—
(Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen und der Tiere, Band XI)

INHALTSÜBERSICHT:

Erster Teil: **Physik und Chemie der mitogenetischen Strahlung.** Prinzipielles über die Methodik des Nachweises des Induktionseffektes. Physikalisches über mitogenetische Strahlen. Energetik der mitogenetischen Strahlung. — Zweiter Teil: **Das Auftreten mitogenetischer Strahlung im Haushalte der Organismen.** Pflanzen als mitogenetische Quellen. Mitogenetische Strahlung während der Furchung und Embryonalentwicklung. Mitogenetische Strahlung des Blutes. Tierische Gewebe als Strahlungsquellen. Das Karzinom. — Dritter Teil: **Der mitogenetische Effekt.** Phänomenologie des mitogenetischen Effektes. Die allgemeinen Gesetze mitogenetischer Erregung. Sekundärstrahlung und Fortleitung des mitogenetischen Erregungszustandes. Theorie des mitogenetischen Effektes. — Nachwort. Literatur- und Sachverzeichnis.

Das Problem der Zellteilung, physiologisch betrachtet. Von Professor Dr. Alexander Gurwitsch, Institut für Experimentelle Medizin in Leningrad. Unter Mitwirkung von Lydia Gurwitsch (Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen und der Tiere, Bd. XI.) Mit 74 Abbildungen. VIII, 222 Seiten. 1926. RM 16.50

Zellteilung und Strahlung. Von Dr. med. T. Reiter und Dr. D. Gábor. Mit 212 Textbildern und 3 Tafeln. Sonderheft der „Wissenschaftlichen Veröffentlichungen aus dem Siemens-Konzern“. Herausgegeben von der Zentralstelle für wissenschaftlich-technische Forschungsarbeiten des Siemens-Konzerns. IV, 184 Seiten. 1928. RM 18.—

Mikroskopische Anatomie der lebendigen Masse. (Bildet Band I vom „Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen“ herausgegeben von W. v. Möllendorff, Freiburg i. Br.)
Jeder Band ist einzeln käuflich, jedoch verpflichtet die Abnahme eines Teiles eines Bandes zum Kauf des ganzen Bandes.

Erster Teil: **Allgemeine mikroskopische Anatomie und Organisation der lebendigen Masse.** Mit 453 zum Teil farbigen Abbildungen. XII, 626 Seiten. 1929. RM 132.—; gebunden RM 138.—

Zweiter Teil: **Wachstum und Vermehrung der lebendigen Masse.** Bearbeitet von Dr. F. Wassermann, Professor an der Universität München. Mit 464 zum Teil farbigen Abbildungen. IX, 807 Seiten. 1929. RM 148.—; gebunden RM 156.—

Körper und Keimzellen. Von Jürgen W. Harms, Professor an der Universität Tübingen. (Band IX der „Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen und der Tiere.“) Mit 309, darunter auch farbige Abbildungen. In zwei Teilen. XIV, 1024 Seiten. 1926.
Jeder Teil RM 33.—; gebunden RM 34.—

Beide Teile werden nur zusammen abgegeben.

*Auf die vor dem 1. Juli 1931 erschienenen Bücher wird ein Notnachlaß von 10% gewährt.

7

"POINTED," AND THE CONSTITUTION OF
X-CHROMOSOME IN *DROSOPHILA*
OBSCURA

BY

P. CH. KOLLER

FROM JOURNAL OF GENETICS, VOL. XXVI. No. 2,
pp. 215-229, OCTOBER, 1932



CAMBRIDGE
AT THE UNIVERSITY PRESS

PRINTED IN GREAT BRITAIN



RLI

ing
lung

RM 33
Band 1

es über
rahlen.
cher Str
rische Str
es. Tier
Effekt.
er Erreg
ogenetis

ch be
ür Expe
r witsc
n und
RM 165

id Dr.
sensch
geben
beiten
RM 18-

asse.
Mensche

s Bades

i Orga
obildung
RM 138

en Mas
t Münch

RM 156

ssor an
esamtge
ich farb

1 RM 34

10 % gene

sometimes only a small part of the wing is surrounded by the margin. The variability of the Pointed^I wing is rather slight as shown by Plate XV, figs. 1-4. The Pointed^I character can be recognised in the heterozygous condition, dominance being incomplete (Plate XVIII, fig. 21).

Lancefield located the Pointed^I gene at the extreme left end of the X-chromosome. Since the classification of Pointed^I flies is easy and their viability and productivity are good, Pointed^I is a useful character to work with. Moreover, environmental factors, such as temperature, moisture and culture medium, affect the Pointed^I character only slightly, and always in the same degree.

In order to investigate the viability and fertility of Pointed^I normal wild type, Pointed^I, Pointed^I-yellow-vermilion and yellow-vermilion were bred in the same environmental conditions. Table I shows the

TABLE I.

No. of culture	Normal wild type		No. of culture	Pointed ^I		No. of culture	Pointed ^I -yellow-vermilion		No. of culture	Yellow-vermilion	
	♀♀	♂♂		♀♀	♂♂		♀♀	♂♂		♀♀	♂♂
320	84	79	471	91	85	22	47	35	51	55	49
322	65	67	472	72	70	24	53	47	52	63	54
323	91	88	475	65	63	26	72	65	53	44	46
Totals	240	234		228	218		172	147		162	149

results obtained during this experiment. It is clear that no lethal effect was introduced by the Pointed^I gene alone. The lower viability of the Pointed^I-yellow-vermilion stock was due to the presence of the yellow gene.

(a) *Pointed^I and the modifier m₁.*

The variability of the Pointed^I character and the presence of extreme types, in significant ratios, in several cultures, suggested that modifying factors might be concerned. But, owing to the difficulties of classification of *P^I*, this assumption was not proved for a long time. During the selection experiments, however, culture 137/31 gave some interesting results. This culture originated from the cross *P^IP^I* × *P^IY* (*Y* represents the *Y*-chromosome of the male) where the *P^I* character was very extreme in the male parent. Half of the males and females showed *P^I* wings, long and very much trimmed (Plate XVI, fig. 8; Plate XVII, figs. 17, 18). The other half, both males and females, showed the usual Pointed^I with slight variation. The offspring were crossed separately, and the results (*F*₂) obtained are given in Table II.

The extreme P^I females were selected and back-crossed to extreme Pointed^I males, and all the offspring, males as well as females, were extreme P^I . These results show that the flies were homozygous for the intensifier m_1 . The constitution of the flies, suggested in Table II, proved to be correct. Some crosses were made to prove that the intensifier is a sex-linked factor. Pointed^I males with the modifier m_1 were mated to normal winged females. The heterozygous P^I females were back-crossed to extreme P^I males. The results of these crosses are given in Table III.

TABLE II.

♀♀		♂♂		Nature of cross
Pointed ^I extreme	Pointed ^I	Pointed ^I extreme	Pointed ^I	
56	3	47	4	$\overline{P^I m_1} \text{♀} \times P^I m_1 \text{♂}$
71	1	69	1	$\overline{P^I m_1} \text{♀} \times P^I m_1 \text{♂}$
30	35	31	32	$\overline{P^I m_1} \text{♀} \times P^I m_1 \text{♂}$
2	62	30	27	$\overline{P^I +} \text{♀} \times P^I + \text{♂}$
28	31	25	29	$\overline{P^I m_1} \text{♀} \times P^I m_1 \text{♂}$

TABLE III.

Pointed ^I ♀♀	Non-cross-overs $P^I m_1 \text{♂♂}$	Non-cross-over + cross-overs: +♂ and $m_1 \text{♂}$	Cross-overs $P^I \text{♂}$
87	34	41	6
109	45	53	7
98	37	49	6
131	51	63	9
Totals observed	425	206	28
Expected	—	180	28

(The crossing-over value (p) was estimated on the assumption that the three classes were $1 - p$, $1 + p + p$, and p respectively.)

The small discrepancies between the obtained and expected classes were due, either to crossing-over between P^I and m_1 , or to experimental errors of discrimination.

It was possible to calculate the crossing-over value between P^I and the sex-linked modifier m_1 from these results. It is approximately 13.7.

(b) Pointed^I and the modifier m_2 .

In culture 56.4/34, soon after the identification of the modifier m_1 , another factor appeared, which apparently had some effect upon P^I (Plate XVI, figs. 9, 10). The culture originated from a cross between a

218 "Pointed," and the Constitution of X-chromosome

$P^1P^1m_1$ female and a P^1Y male. Half of the males were extreme P^1 as was expected, but the remainder could be grouped into three distinct phenotypes, a fact which suggested that more than the usual variability of P^1 was involved. Another modifier, m_2 , was suspected, and crosses were made to detect it.

These new type females and males were mated together and they gave one type of male and female offspring only; but it is very interesting to note that this new type, which originated from the crossing of different P^1 flies, was not the extreme P^1 . The classification proved to be easier than was at first expected, and Table IV shows the results of the matings

TABLE IV.

♀♀		♂♂		
$P^1 m_2$	$P^1 +$	$P^1 m_2$	$P^1 +$	
$\overline{P^1} m_2$	$\overline{P^1} +$	m_2	$+$	
27	98	21	84	
22	71	27	85	
31	87	21	91	
Totals	80	256	69	260

of males and females to be simplex for this modifier. The 3 : 1 ratio obtained in these experiments showed that an autosomal gene which gave a new constant Pointed^I type had been introduced into the Pointed^I stock. This factor, which was called m_2 , is not so much an intensifier as a factor which prevents the variability of the Pointed^I character. The m_2 factor is recessive, as was proved by outcrossing the "fixed" Pointed^I to other Pointed^I types.

In order to determine the linkage group of m_2 , orange (*or*) eye-colour was introduced into several matings. $P^1P^1m_2m_2$ females were crossed to $P^1Y or$ males and flies of the F_1 generation crossed *inter se*. Table V gives the data obtained.

TABLE V.

$P^1 m_2$	$P^1 or$	$P^1 + +$	$P^1 m_2$	$P^1 or$	P^1	
$\overline{P^1} m_2$	$\overline{P^1} or$	$\overline{P^1} + +$	m_2	or		
31	26	59	24	27	61	
24	27	60	26	22	58	
15	19	39	18	21	41	
Totals	70	72	158	68	70	160

The 1 : 2 : 1 ratio (approximate) which was obtained, proved that the m_2 factor is in the same linkage group as orange. The discrepancy between the obtained and expected numbers was probably due to crossing-over in those F_1 females which were heterozygous for m_2 and *or*

To determine the crossing-over between *or* and *m₂* the following crosses were made:

$$\frac{P^I \text{ or } +}{P^I + m_2} \text{♀} \times \frac{P^I \text{ or } m_2}{Y \text{ or } m_2} \text{♂}$$

The crossing-over value between *or* and *m₂* is 9.2 (see Table VI).

TABLE VI.

	♀♀				♂♂			
	Non-cross-over		Cross-over		Non-cross-over		Cross-over	
	$\frac{P^I m_2 \text{ or}}{P^I m_2 +}$	$\frac{P^I m_2 \text{ or}}{P^I + \text{ or}}$	$\frac{P^I m_2 \text{ or}}{P^I m_2 \text{ or}}$	$\frac{P^I m_2 \text{ or}}{P^I + +}$	$\frac{P^I m_2 \text{ or}}{m_2 +}$	$\frac{P^I m_2 \text{ or}}{+ \text{ or}}$	$\frac{P^I m_2 \text{ or}}{m_2 \text{ or}}$	$\frac{P^I m_2 \text{ or}}{+ +}$
	47	53	4	6	52	45	4	5
	64	72	6	9	57	66	6	7
	54	59	3	5	48	61	5	5
	32	39	3	6	27	42	3	6
Totals observed	197	223	16	26	184	214	18	23
Expected	215	215	24	24	198	198	20	20

(c) *The Pointed allelomorph P^I.*

One of the Pointed (*P^I*) cultures, No. 83/34, which had females of the constitution *P^IP^Im₁* and *P^IY* males without *m₁*, gave among the expected flies, eight which were thought to be heterozygous for *P^I* (see Plate XVIII, fig. 20). But the different crosses showed that these flies carried a mutated gene in both *X*-chromosomes. Table VII shows the results obtained by crossing this type with *P^I*.

This proved that no reversion had occurred in the *P^I* stock, and that the "heterozygous" appearance of these eight flies was due to a different cause. The *m₁* factor when in the simplex condition in the female

TABLE VII.

P	$\frac{P^I m_1}{P^{II} +} \text{♀} \times P^I m_1 \text{♂}$				$\frac{P^{II}}{P^{II}} \text{♀} \times P^{II} \text{♂}$		$\frac{P^{II}}{P^{II}} \text{♀} \times + \text{♂}$	
	♀♀		♂♂		♀♀	♂♂	♀♀	♂♂
F ₁	$\frac{P^I m_1}{P^I m_1}$	$\frac{P^I m_1}{P^{II} +}$	$P^I m_1$	P^{II}	$\frac{P^{II}}{P^{II}}$	P^{II}	$\frac{P^{II}}{+}$	P^{II}
	35	42	27	36	83	75	112	106
	53	49	45	39	95	79	87	81
	41	37	39	42	126	117	131	126
Totals	129	128	111	117	304	271	330	313

does not produce any effect, but the wing may vary on quite a large scale, as was observed in many cases. The male offspring from these "heterozygous" Pointed^I mothers were classifiable into two groups, viz.

(1) containing the flies with very broad wings only slightly trimmed and pointed, and (2) containing those which had Pointed in the extreme condition. The appearance of the former class is unusual, similar cases not having been previously observed.

These facts suggested that an allelomorph of P^I (viz. P^{II}) turned up in culture No. 83/34. The eight females carried both allelomorphs, and hence showed the unusual size and shape of the Pointed^I character (Plate XVIII, fig. 20). The m_2 modifier and m_1 intensifier and the variability of the P^I character are factors which make the discovery of any allelomorph of the Pointed^I character rather difficult. However, experiment proved that P^I and P^{II} are allelomorphic. The resemblance of P^{II} to the heterozygous P^I increased the difficulties, but the presence of P^{II} was proved decisively by a study of the male offspring.

To prove with certainty the allelomorphic nature of P^I and P^{II} , their linkage value with beaded (bd) was tested. The beaded character in *D. obscura* described by Lancefield (1922) is a sex-linked recessive mutation, its gene being located 20 or 27.6 units to the right of Pointed^I. The beaded¹ wing (Plate XVII, fig. 16) has a trimmed margin, with little bunches of bristles and teeth along the edge. The discrimination between the character controlled by bd is difficult in the presence of Pointed (Plate XVI, fig. 13; Plate XVII, fig. 19). However, by the aid of selection and the m_1 , m_2 modifiers, it was possible to estimate the crossing-over value of Pointed and beaded.

The relationship between bd and P^I , and between bd and P^{II} is given in Tables VIII and IX.

TABLE VIII.

Total ♀♀	Non-cross-over		Cross-over		Total ♂♂
	P^I	bd	P^Ibd	+	
252	97	95	21	27	240
197	76	70	14	20	180
231	87	81	19	23	210
680	260	246	54	70	630
Expected	271	271	67	67	

The crossing-over value for bd/P^I (19.2) and bd/P^{II} (19.5) is almost the same. This supports the view that the two genes are allelomorphic. P^{II} gives less deviation from normal than P^I , its variability being more limited and its productivity normal.

¹ It should be stated that except in name the beaded factor in *D. obscura* bears no relation to the Beaded of *D. melanogaster*.

The occurrence of the P^{II} gene, the m_1 intensifier and the m_2 modifier afforded the opportunity of synthesising flies with different constitutions. The most remarkable observation was, that the m_1 intensifier did not produce so marked an effect with P^{II} as with P^I . Plate XVI, figs. 8 and 12,

TABLE IX.

$$\frac{P^{II} +}{+ bd} \text{♀} \times P^I \text{♂}.$$

Total ♀♀	Non-cross-over		Cross-over		Total ♂♂
	P^{II}	bd	$P^{II}bd$	$++$	
193	59	77	14	20	170
219	72	85	18	20	195
161	56	59	12	15	142
573	187	231	44	55	507
Expected	204	204	49	49	

show the difference between $P^I P^I m_1 m_1$ and $P^{II} P^{II} m_1 m_1$. The low variability of P^{II} made it impracticable to use it in combination with the m_2 factor, because the appearance of flies of the constitution $P^{II} P^{II} m_2 m_2$ indicated that the effect of m_2 upon P^{II} was slight.

DISCUSSION.

(1) Homology of Pointed and Beaded.

The comparison of Pointed in *D. obscura* with the Beaded (*Bd*) gene in *D. melanogaster* shows an interesting parallelism. The similarity is so convincing that the Pointed and Beaded genes must evidently be placed in the same series of allelomorphs.

The Beaded wing in *D. melanogaster* was first observed by Morgan (1910). It showed a characteristic shape and size, sometimes longer than in the normal flies, the margin of the wing being scalloped as shown in Plate XVI, figs. 11, 12, 13. The fluctuation and variability of the Beaded wing was very great, from the most extreme type to almost normal. Sometimes one wing showed the Beaded character while the other one was quite normal. The great variability of the Beaded character must have been one reason why its analysis proved so extremely difficult. Dexter (1914), working on the selection of Beaded, could not clearly explain its exact behaviour. He located Beaded in the linkage group of the third autosome, and discovered the first intensifying factor for *Bd* in the second chromosome. Morgan's and Dexter's assumptions of factor inconstancy, environmental and age factors, and cytoplasmic interference, to account for the unusual behaviour of the Beaded character, are not at all convincing.

Muller (1918), in his masterly paper on the balanced lethal mechanism,

throws light on the Beaded character in *D. melanogaster*. He located it at 93.8 in the third chromosome and proved it to be dominant as well as lethal in the homozygous condition. Similarly, he identified the second modifier for Beaded, and located it near black in the second chromosome.

The extreme Beaded wing in *D. melanogaster* (a picture is given in Muller's paper, 1918, p. 425) is, as Lancefield (1922) remarked, very similar to Pointed in *D. obscura*. Selection and breeding work proved that Pointed has two modifiers; m_1 , located in the same chromosome as Pointed, and m_2 , linked with orange in the third linkage group. The discovery of the allelomorph P^{II} and its behaviour with the modifiers proved to be very useful for making an accurate comparison with the Beaded character in *D. melanogaster*.

These genes can be arranged in a graded series, as regards their effect upon the wing shape, *normal*, P^{II} , P^I and *Bd* (Plate XV, figs. 4, 7; Plate XVIII, fig. 20). Beaded, however, unlike Pointed in *D. obscura*, is lethal when homozygous. But Pointed in the presence of m_1 , reduces the viability.

The relation between the genes can best be explained in terms of Goldschmidt's theory of the physiological determination of the gene. It is possible to explain the behaviour of these genes, alone and in combination with the modifiers m_1 and m_2 , if we assume that *normal*, P^{II} , P^I and *Bd* are similar and graded in their effect. The graph (Text-fig. 1) shows very clearly the relationships between P^{II} , P^I and *Bd* on this hypothesis. The effect of m_1 is correlated with the intensity of the factor concerned. If it is combined with P^{II} , the lowest member of the series, its effect is very small; but in the case of P^I the same m_1 produces a much greater effect. In *D. melanogaster* a similar modifier exists and it exerts a very strong effect on *Bd*, which is to be correlated with the intensity of factor action of *Bd* as compared with P^I and P^{II} . It is more difficult to analyse the part played by m_2 . This factor, which reduces the variability, has a greater effect upon P^I than upon P^{II} , as is expected. Amongst flies with a combination of P^I , P^{II} and the two modifiers in the homozygous condition, a certain percentage have "dwarf-miniature" wing. This is possibly due to a difference in the reaction between the modifiers and P^I and between the modifiers and P^{II} , as is illustrated in the graph. The data are insufficient to show the reason for this difference, but it might be due to a system of factor interactions on the basis of the times at which the individual factors have their greatest effect.

The viability of the different members of the series is indicated in the graph by the approach to the line of lethality. Beaded is lethal when homozygous. When heterozygous, the intensifiers have the effect of reducing viability to some extent, just as the modifiers in *D. obscura* reduce the viability of Pointed. The question arises as to why Pointed does not produce a lethal effect like Beaded in *D. melanogaster*? The phenotype of P^I and Bd is very similar, but the physiological effect is different. It is certain that the genic balance of *D. obscura* is different from that of *D. melanogaster*. Indeed the rate of metabolism (14 to

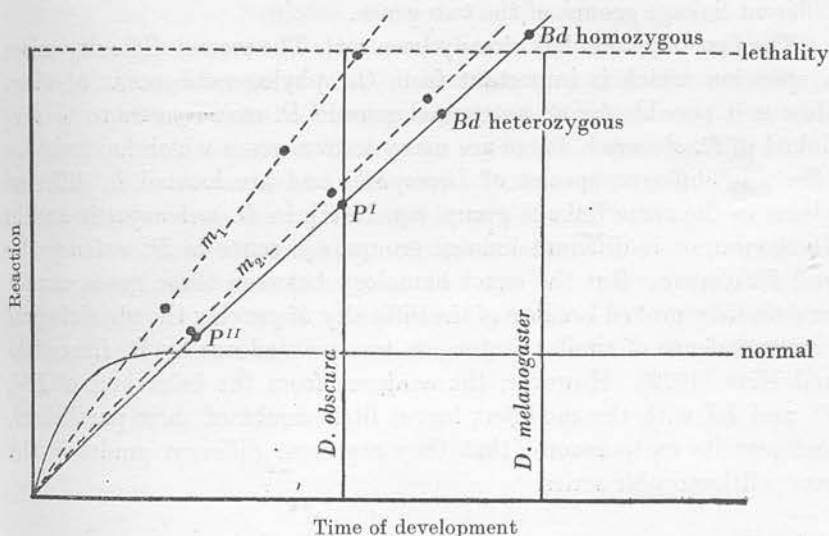


Fig. 1. Graph showing the effect of m_1 and m_2 upon P^{II} , P^I and the effect of the two intensifiers upon Beaded.

16 days of life span in *D. obscura* as compared with 10 to 11 days in *D. melanogaster*) shows a very suggestive difference.

The scanty data available on the behaviour of the so-called "identical" genes in *D. obscura* and *D. melanogaster* have been collected. Eosin and white eye have a darker tinge in *D. obscura* than in *D. melanogaster*. Further, Lancefield (1922) mentioned that the eosin-vermilion double recessive is nearly white in *D. melanogaster* but lemon in *D. obscura*. Scutellar in *D. obscura* agrees with scute in *D. melanogaster*, but the latter gene has a stronger effect in that it suppresses the post-vertical or ocellar bristles on the head. These bristles are present in *D. obscura*-scutellar. The yellow body colour in *D. obscura* become rapidly darker after 5 to 6 days, so that only young flies are suitable for classification. In *D. melanogaster* the effect of the yellow gene lasts much longer.

These examples suggest that the "identical" genes in the two species show a slightly different effect because they are placed in different genic systems. Therefore it is reasonable to suppose that the Pointed and Beaded genes are not only similar but belong to the same allelomorphic series.

The great similarity between the two genes was observed by Lancefield (1922), but he maintained that no genetical identity between the two could be established. Two facts were certainly responsible for this attitude: viz. (1) the lethal effect in one species and not in the other, (2) the different linkage groups of the two genes.

The first objection has already been met. The second difficulty raises a question which is important from the phylogenetic point of view. How is it possible for an autosomal gene in *D. melanogaster* to be sex-linked in *D. obscura*? There are many known genes which have similar effects in different species of *Drosophila* and are located in different places in the same linkage group, e.g. Notch in *D. melanogaster* and in *D. obscura*, or in different linkage groups, e.g. scute in *D. melanogaster* and *D. obscura*. But the exact homology between these genes cannot be definitely proved because of the difficulty of proving the physiological correspondence of similar factors, as was pointed out by R. Lancefield and Metz (1922). However, the evidence from the behaviour of P^{II} , P^I and Bd with the modifiers leaves little doubt of their parallelism, and permits us to assume that they represent different grades in the same allelomorphic series.

(2) Hypothesis of translocation.

If Pointed and Beaded are homologous we may explain their different positions in the linkage maps by the translocation of a chromosome segment.

Cytological evidence. This assumption receives strong support from the comparative study of the chromosome complements in the related species of *Drosophila*. The X-chromosome in *melanogaster*, *virilis* and *simulans* is rod-shaped and comparatively small in relation to the second and third autosomes. In *obscura* and *willistoni*, the X-chromosome is V-shaped and larger compared with the autosomes (Metz, 1922). Lancefield (1922) and R. Lancefield and Metz (1922) suggested that one arm of the V-shaped X-chromosome in *obscura* and *willistoni* corresponds to some, if not all, of the rod-shaped X's of such a species as *melanogaster*. If this is the case, it is reasonable to suppose that the other arm of the

V-shaped X corresponds to a segment of one of the autosomes in the species with a rod-shaped X -chromosome. Such a condition could have been brought about by translocation, either of part of an original autosome to the X -chromosome, or of part of the X -chromosome to an autosome. There is at present no means of telling which arrangement was the original one.

In plants, many examples of rearrangement of chromosome parts or segments have been observed in nature, e.g. *Oenothera* (Darlington, 1929), *Datura* (Belling and Blakeslee, 1926), *Godetia* (Håkansson, 1925), *Pisum* (Håkansson, 1931; Sansome, 1931, 1932), *Zea Mays* (Burnham, 1930; McClintock, 1930). In *Godetia*, two species, *G. amoena* and *G. whitneyi*, differ in the arrangement of their chromosome segments, as in the case of *Drosophila*. Recently Dobzhansky (1930), by means of X-rays, has produced translocation in *Drosophila* itself, and found that the portion of the third chromosome of *D. melanogaster* containing the locus of Beaded is more readily translocated than other segments.

The widespread occurrence of translocations and interchanges of chromosome segments in nature, and the fact that they have been experimentally produced (*Drosophila* (Dobzhansky and Sturtevant, 1931), *Datura*), strongly support the hypothesis that the difference of the shapes of the X -chromosomes in related species of *Drosophila* may be the result of translocation.

Genetical evidence. The study of the X -chromosome maps of five different species of *Drosophila* (Text-fig. 2) shows that many identical corresponding genes, especially the closely linked yellow-scute-white-Notch series, are transferred from the extreme left end of the X -chromosome in *D. melanogaster* to the middle region of the X -chromosome in *D. obscura* and *D. willistoni*.

Hitherto, very few genes have been discovered to the left of yellow in the extra part of the X -chromosome in *D. obscura*. The present study indicates the homology of the P^I , P^{II} in this segment with Beaded in the third chromosome of *D. melanogaster*. It is therefore suggested that part or all of the extra arm, i.e. the segment to the left of the yellow locus, of the X in *D. obscura* corresponds to part of the third chromosome of *D. melanogaster*.

Further evidence of chromosome rearrangement is probably given by the study of the two so-called "physiological" species, or races A and B , in *D. obscura*. The females of the A/B hybrid are partly fertile, but show greatly reduced crossing-over in their end segments (Text-fig. 3). The males are generally sterile. Koller (1931, 1932) showed that those

226 "Pointed," and the Constitution of X-chromosome

males, which are fertile, obtained by repeated back-crosses and have the terminal portion of the X-chromosome of the same origin as that of the Y. Therefore, we can gather that the middle region of the X-chromosome in race A and B, being homologous, does not interfere with fertility

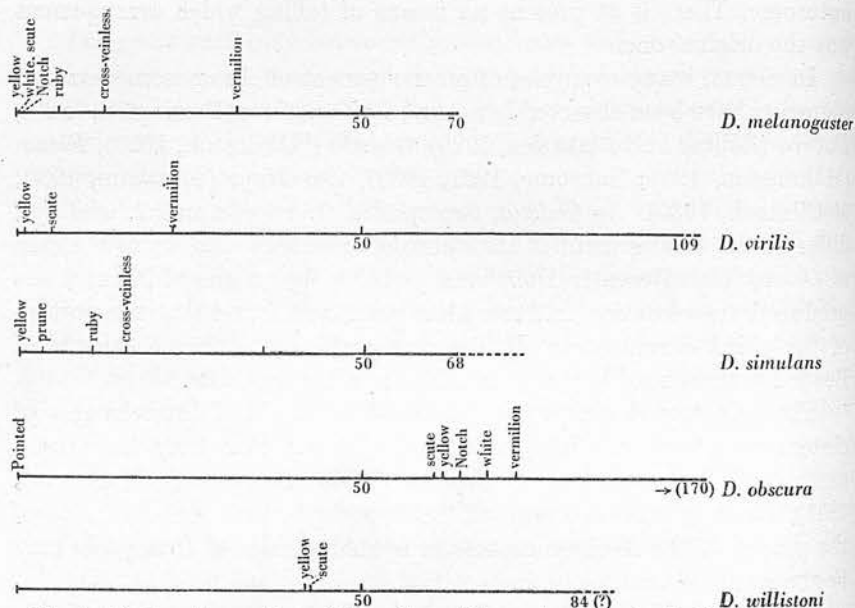


Fig. 2. To show the position of the yellow-white-scute section in the X-chromosome of five species of *Drosophila*.

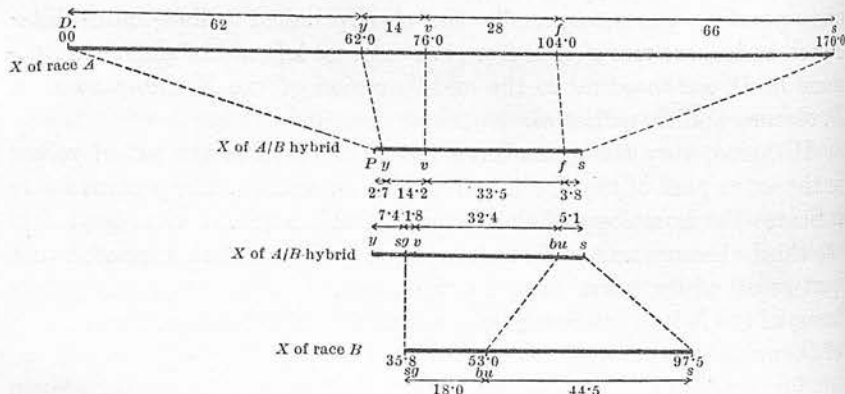


Fig. 3. Comparative linkage maps of race A and B and their hybrid in *D. obscura*.

when combined with either end of the Y-chromosome, but the terminal portion of the X-chromosome and Y-chromosome constitute a balanced system with regard to fertility.

The fact that only the ends of the *X*-chromosomes in races *A* and *B* of *D. obscura* are different can be explained by the assumption that the translocated segment of the *X*'s has a different origin in the two races. This assumption would give a simple explanation for the crossing-over reduction in the terminal parts of the *X*-chromosome in the *A/B* hybrids, since it has been shown by Dobzhansky (1930-1) that translocation reduces crossing-over. There is also the possibility that the end of the terminal segment of the *X*-chromosome of race *A* has no corresponding part in race *B*.

The above facts may be summarised thus:

- (1) The sex-linked Pointed gene is homologous with the autosomal Beaded.
- (2) The *X*-chromosomes in related species of *Drosophila* differ in size and shape.
- (3) Genetical observations: (a) the yellow-scutelike series differs in position in different *X*-chromosomes according to their shape, (b) the changes in homology in the end segments of the *X*-chromosomes of *D. obscura* race *A* and *B* are inferred from the genetical behaviour.

These facts taken together support the hypothesis of translocation, which has been put forward to explain the various cytological and genetical differences in the *X*-chromosomes of the *Drosophilidae*.

This suggestion, if correct, affords some insight into the phylogeny of the *X*-chromosomes of the species of *Drosophila*. Nevertheless the facts which support it are at present few in number, and there are certain important observations yet to be explained, e.g. the relatively inverted order of some genes such as white, vermilion, miniature, glazed or lozenge in related species, and the genetical locus of the fibre attachment. Further investigation on the lines of the present paper would confirm or disprove the above tentative hypothesis, and would certainly enable us to follow to a greater extent, the relationships, cytological, genetical and phylogenetical, between the chromosome complements of the species of *Drosophila*.

SUMMARY.

1. The behaviour of two modifiers in *Drosophila obscura*, m_1 , located in the *X*-chromosome at 13.7 units from *P^I* and m_2 , linked with orange in the third linkage group and located at 9.2 units from orange, is described.
2. *P^{II}*, an allelomorph of the previously described Pointed (*P^I*)

mutant, gives a similar but weaker effect upon the wing character to Pointed.

3. The gene m_1 , which has the effect of intensifying the character, gives a weaker effect with P^{II} than with P^I . The gene m_2 , which reduces the variability of the character, similarly affects P^{II} less than P^I .

4. It is suggested that P^I and P^{II} in *D. obscura* are homologous with *Bd* (Beaded) in *D. melanogaster* because of (a) the great similarity of the morphological expression of the two genes, and (b) the similarity of their behaviour in the presence of modifying factors.

5. A tentative suggestion is put forward to explain the autosomal position of Beaded as compared with the sex-linked nature of P^I and P^{II} . It is suggested that as the result of translocation the X-chromosome in *D. obscura* has one arm, or part of one arm, corresponding to part of the third chromosome in *D. melanogaster*. This hypothesis is supported by (a) the cytological differences in size and shape of the X-chromosomes in *D. obscura* and *D. melanogaster*, (b) by the position of the yellow-scutel loci in the two species, (c) by the evidence from the hybrids between race *A* and *B* of *D. obscura*, and (d) the cytological observations of similar rearrangement of chromosome parts in many plants and in *Drosophila melanogaster*.

The author desires to thank Prof. F. A. E. Crew for criticism and advice.

REFERENCES.

- BELLING, J. and BLAKESLEE, A. P. (1926). "On the attachment of non-homologous chromosomes at the reduction division in certain 25-chromosome *Daturas*." *Proc. Nat. Acad. Sci.* **12**, 7-11.
- BRIDGES, C. and MORGAN, T. H. (1923). "The third chromosome group of mutant *D. melanogaster*." *Carn. Inst. Publ.* **327**, 37-44.
- BURNHAM, C. R. (1930). "Genetical and cytological studies of semi-sterility and related phenomena in Maize." *Proc. Nat. Acad. Sci.* **16**, 269-71.
- DARLINGTON, C. D. (1929). "Ring-formation in *Oenothera* and other genera." *Journ. Gen.* **20**, 345-63.
- DEXTER, J. S. (1914). "The analysis of a case of continuous variation in *Drosophila* by a study of its linkage relations." *Amer. Natur.* **48**, 712-58.
- DOBZHANSKY, T. (1930). "Translocations involving the third and fourth chromosomes of *Drosophila melanogaster*." *Genetics*, **15**, 347-400.
- DOBZHANSKY, T. and STURTEVANT, A. H. (1931). "Translocations between the second and third chromosomes of *Drosophila* and their bearing on *Oenothera* problems." *Carn. Inst. Publ.* **421**, 31-59.
- HÅKANSSON, A. (1925). "Zur Zytologie der Gattung *Godetia*." *Hereditas*, **6**, 257-74.
- (1931). "Über Chromosomerverkettung in *Pisum*." *Ibid.* **15**, 17-61.

- KOLLER, P. CH. (1931). "Genetic studies of the crosses of two races of *Drosophila obscura*." *Magyar Biol. Kut. Int. Közl.* **4**, 165-91.
- (1932). "The relation of fertility factors to crossing-over in the *Drosophila obscura* hybrid." *Zeits. f. ind. Abst. und Vererbungsl.* **60**, 137-51.
- LANCEFIELD, D. E. (1922). "Linkage relation of the sex-linked characters in *Drosophila obscura*." *Genetics*, **7**, 335-84.
- (1929). "A genetic study of crosses of two races or physiological species of *Drosophila obscura*." *Zeits. f. ind. Abst. und Vererbungsl.* **52**, 287-317.
- LANCEFIELD, R. and METZ, CH. (1922). "The sex-linked group of mutant characters in *Drosophila willistoni*." *Amer. Natur.* **56**, 211-41.
- METZ, CH. (1916). "Chromosome studies on the *Diptera*. II. The paired association of chromosomes in the *Diptera* and its significance." *Journ. Exp. Zool.* **21**, 213-62.
- MCCLEINTOCK, B. (1930). "A cytological demonstration of the location of an interchange between two non-homologous chromosomes in *Zea Mays*." *Proc. Nat. Acad. Sci.* **16**, 791-6.
- MORGAN, T. H., STURTEVANT, A. H. and BRIDGES, C. (1925). "The genetics of *Drosophila*." *Bibl. Gen.* **2**.
- MULLER, H. J. (1918). "Genetic variability, twin-hybrids and constant hybrids, in a case of balanced lethal factors." *Genetics*, **3**, 422-99.
- SANSOME, R. E. (1931). "Chromosome association in *Pisum*." *Journ. Gen.* **25**, 1, 35-54.
- (1932). "Segmental interchange in *Pisum sativum*." *Cytol.* **3**, 200-219.

EXPLANATION OF PLATES XV—XVIII.

PLATE XV.

- Figs. 1, 2, 3, 4. Pointed^I wings in female (Figs. 3, 4) and male (Figs. 1, 2).
Figs. 5, 6, 7. Beaded wing in *D. melanogaster* (after Bridges-Morgan).

PLATE XVI.

- Fig. 8. Pointed^I and modifier m_1 .
Figs. 9, 10. Pointed^I and modifier m_2 , female (Fig. 9) and male (Fig. 10).
Fig. 11. Heterozygous P^{II} with homozygous m_1 .
Fig. 12. Homozygous P^{II} and m_1 .
Fig. 13. Homozygous P^{II} and beaded.

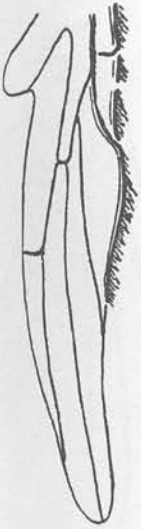
PLATE XVII.

- Fig. 14. Pointed^I male.
Fig. 15. Pointed^{II} female.
Fig. 16. Homozygous Beaded in *D. obscura*.
Fig. 17. Pointed^I and m_1 female.
Fig. 18. Pointed^I and m_1 male.
Fig. 19. Heterozygous Pointed^I and homozygous Beaded.

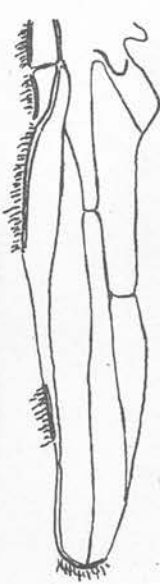
PLATE XVIII.

- Fig. 20. Homozygous P^{II} .
Fig. 21. Heterozygous Pointed^I.
Fig. 22. Pointed and P^{II} .
Fig. 23. P^{II} male.

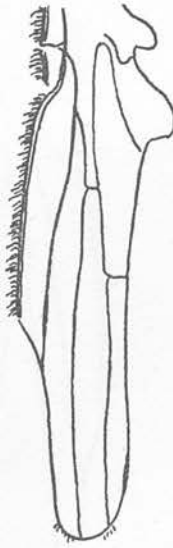
[Figs. 1-13 are drawings traced from photographs, Figs. 14-23 are photographs.]



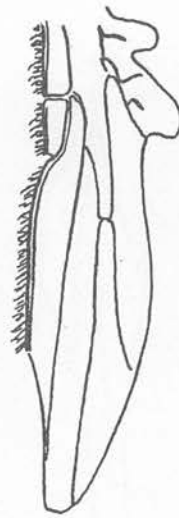
1



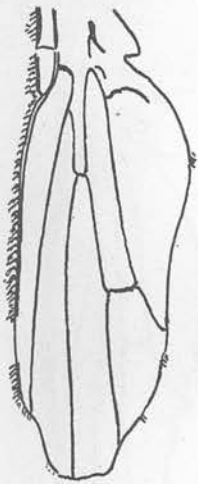
2



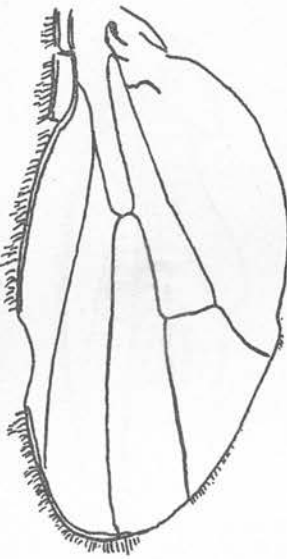
3



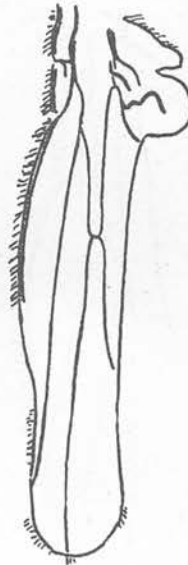
4



5



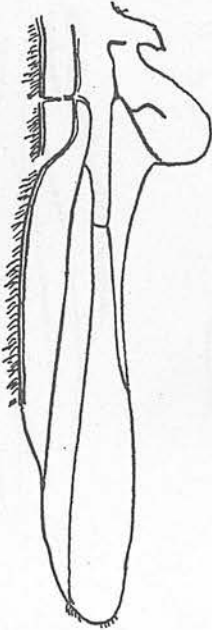
6



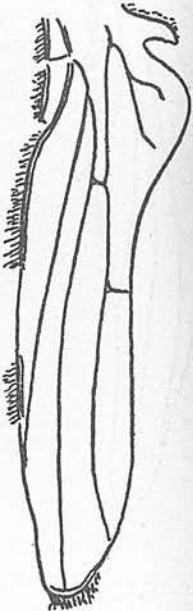
7



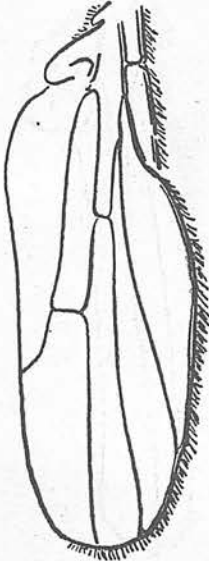
8



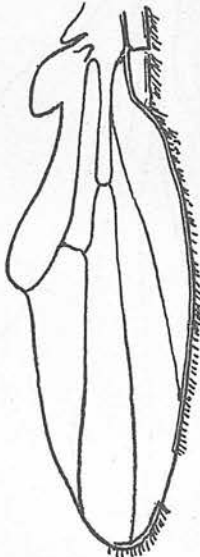
9



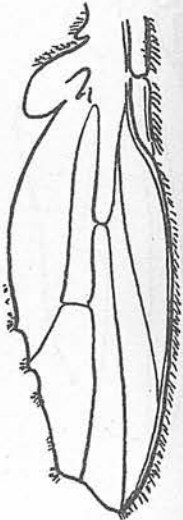
10



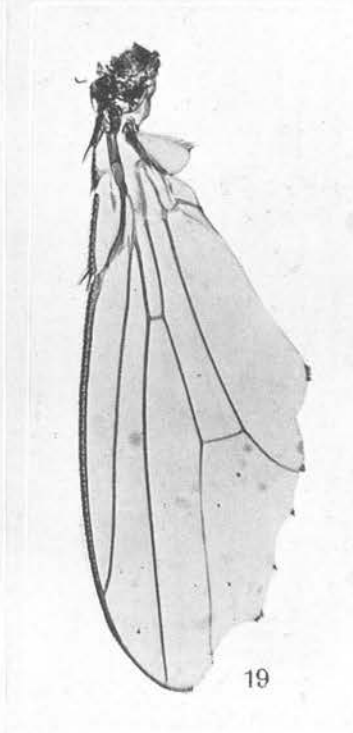
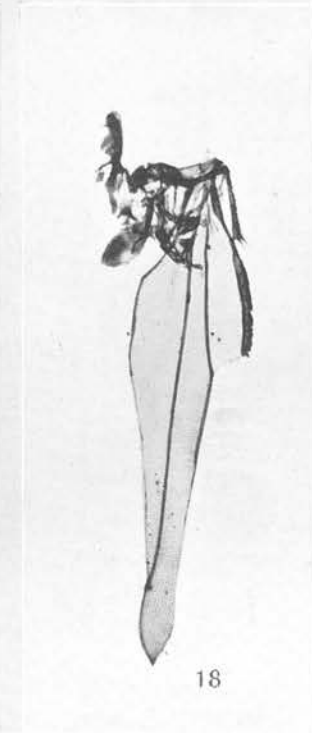
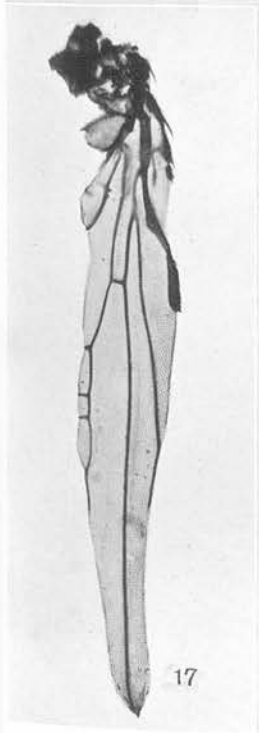
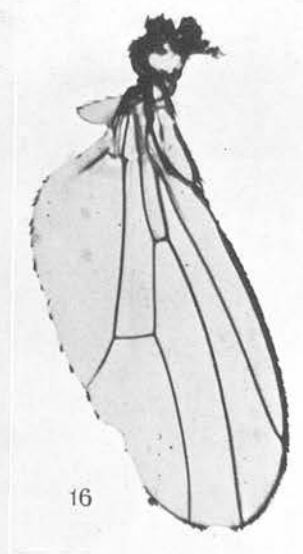
11



12



13



The Journal of Genetics is a periodical for the publication of records of original research in Heredity, Variation and allied subjects. The Journal will also, from time to time, contain articles summarising the existing state of knowledge in the various branches of Genetics, but reviews and abstracts of work published elsewhere will not, as a rule, be included. It will be issued in parts as material accumulates, and a volume will consist of three such parts.

Volumes I—XXV (1910—32). Quotations can be given for such of the back volumes and parts as are still in print, as well as for supplying binding cases and for binding subscribers' sets.

Papers for publication may be sent to Professor PUNNETT, Whittingehame Lodge, Cambridge. Other communications should be addressed to the University Press, Cambridge.

Papers forwarded to the Editors for publication are understood to be offered to *The Journal of Genetics* alone, unless the contrary is stated.

Contributors will receive 50 separate copies of their papers free. A further 50 may be had at cost price: these should be ordered when the final proof is returned.

The Subscription price for a volume is 42s. net (post free) payable in advance; separate parts 15s. net each. Subscriptions may be sent to any bookseller, or to The Cambridge University Press, Fetter Lane, London, E.C. 4.

The Cambridge University Press has appointed the University of Chicago Press agents for the sale of the *Journal of Genetics* in the United States of America, and has authorised them to charge the following prices:—Annual subscription, \$10.00 net; single copies, \$3.50 net each.

8

**A MAGYAR BIOLOGIAI KUTATÓ INTÉZET
II. OSZTÁLYÁNAK MUNKÁI**

SZERKESZTI:
DR. VERZÁR FRIGYES
EGYET. NY. R. TANÁR,
A BIOLOGIAI KUTATÓ INTÉZET IGAZGATÓJA

**ARBEITEN DER II. ABTEILUNG
DES UNGARISCHEN BIOLOGISCHEN FORSCHUNGSINSTITUTES**

REDIGIERT VON:
PROF. DR. FRIEDRICH VERZÁR
DIREKTOR
DES BIOLOGISCHEN FORSCHUNGSINSTITUTES

DR. KOLLER PIUS:

SZÖVETTENYÉSZTÉS AZ EMYS ORBICULARIS
SZÍVÉNEK SINUS VENOSUSÁBÓL

DR. PIUS KOLLER:

GEWEBEZÜCHTUNG AUS DEN SINUS VENOSUS
DES HERZENS VON EMYS ORBICULARIS

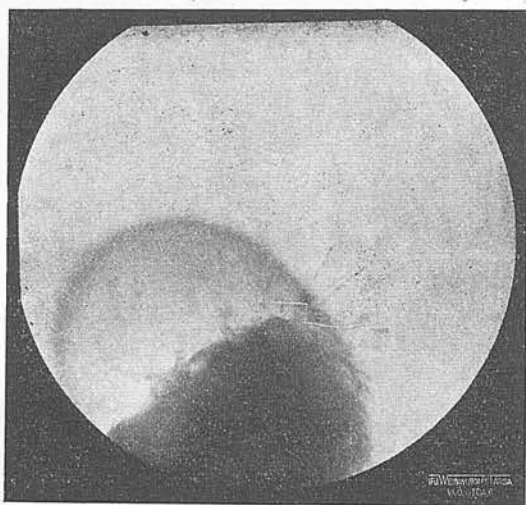


TIHANY, 1929.

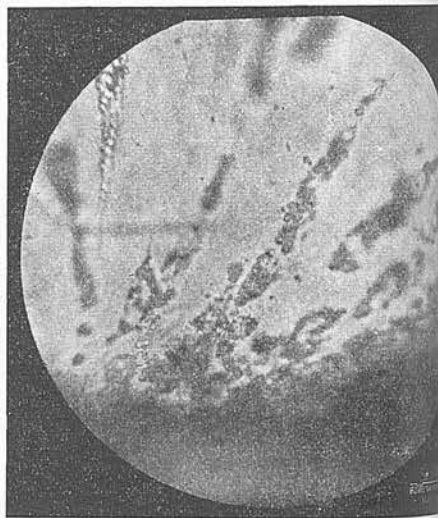
SZÖVETTENYÉSZTÉS AZ EMYS ORBICULARIS SZÍVÉNEK SINUS VENOSUSÁBÓL.

Írta: DR. KOLLER PIUS.

Alacsonyabbrendű gerinceseken végzett szövettani kísérletek eddig is érdekes eredményt tártak fel. *Harrison*,¹ a szövettani megalapítója, békaemléken végezte alapvető kísérleteit. *Erdmann*, *Champy*, *Carrel*, *Burrows*² szintén alacsonyabbrendűeken dolgoztak. *Chlopin*³ csak nemrég közölt igen érdekes eredményeket az Axolotl-nak veseexplantátumairól, a Teleosteusok szív-, izom-, lép-, ves-



1. kép.



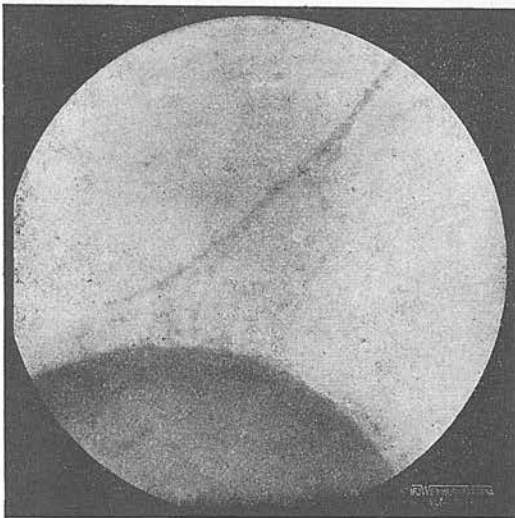
2. kép.

tenyészteteiről. Ezek az eredmények indítottak arra, hogy az *Emys orbicularis* mocsári teknőst, válasszam kísérleti médiumnak, midőn erre megfelelő anyagot kap-

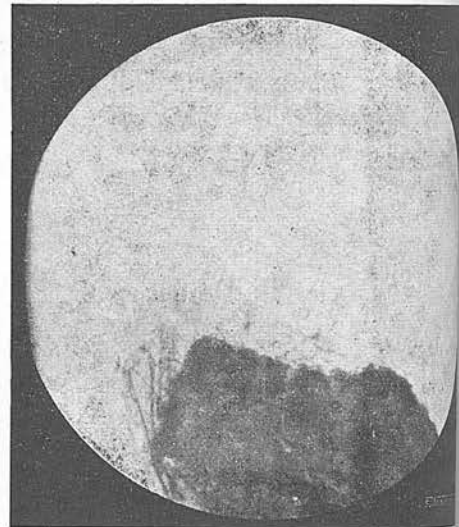
Kísérleteimet a szív sinus venosusán végeztem. Amint tudjuk, a szív kontrakciós ingerei innen indulnak ki *Haberlandt*⁴ és *Demoorn*nak az utóbbi években közölt munkái szerint ezen szívrészből olyan anyagot is lehet kivonni, amely az álló is összehúzódásra bírja és amelyet ezért szívhormonnak neveztek. Anélkül, a kérdés élettani részéhez itt hozzászólni kívánnék, csak megemlítem, hogy kultúrában a szív ritmikus működését *Burrows*,² *Carrel*, *M. Lewis* és *Olivo*⁵ vizsgálta. Különösen érdekesek az utóbbi kísérletei: közös kultúrába helyezett heterogén fragmentumokat és akkor kitűnt, hogy az egyik szívdarabka a másikat vele szintén ritmikus összehúzódásokra bírta.

A 2. képen jól látható immerziós nagyítással, hogy a kinövő sejtek sugárszerűen indulnak ki az anyaszövetből és szinte arra látszanak mutatni, hogy a növekedés előidéző tényező egy szorosan meghatározott gócpontban van lokalizálva. Ezek kinövő sejtek fibroblastok. Azonban nem illik rájuk *Fischer* azon leírása, hogy fibroblastok már a kinövés kezdetén sűrű hálózatot alkotnak és szoros összefüggésben maradnak egymással. Itt a sejtek egészen önállóan nőnek tovább. Magvuk ovális, némely esetben félholdalakúan görbül. A protoplasmában, mint élénk anyagcserejelét, sok vakuolát találunk.

A 3. képen egy, a harmadik passageban lévő kultúrát látunk 48 óras tenyésztés után. Szigetszerű sejtszaporulás és növekedés látható az anyaszövet egyik részén. Már az implantálás 24. órájában élénk sejtkinövés volt észlelhető. Ezek a sejtek



4. kép.



5. kép.

összenőttek és maguk mögött szabad mezőt hagytak, amelyet a kinövő sejtek azonnal elfoglaltak. Az 5. passage után a kultúra már egyöntetű növekedést mutatott.

A 4. kép a 3. passageból 48 óras tenyészet után, az 5. kép pedig az 5. passageból 3 napos tenyészetből származik.

Kísérleteim arra az eredményre vezettek, hogy a szívnek egy bizonyos részén a sinus venosus, oly specifikus anyagot termel, hogy az innen vett szövetkultúra szaporodása és növekedése lényegesen gyorsul. Tudjuk, hogy ilyen serkentő anyagok az embriooextractum, valamint különböző szervek kivonatai is (máj, vese) tartalmazzák. Kísérleteim nem döntik el azt a kérdést, hogy a szívmozgást megindító anyagokhoz hasonló-e a sinus venosus növekedést gyorsító anyaga; egyelőre csak rámutatni kívántam arra, hogy itt ilyen anyagot kell feltételeznünk.

GEWEBEZÜCHTUNG AUS DEM SINUS VENOSUS DES HERZENS VON EMYS ORBICULARIS.

VON DR. PIUS KOLLER.

Gewebezüchtungen, die an niederen Wirbeltieren durchgeführt wurden, haben schon bisher zu vielen interessanten Resultaten geführt. *Harrison*,¹ der Begründer der Gewebezüchtung begann seine grundlegenden Versuche an Kaulquappen. *Erdmann*, *Champy*, *Carrel*, *Burrows*² beschäftigten sich auch mit niederen Wirbeltieren. *Chlopin*³ publizierte erst vor kurzer Zeit seine interessanten Resultate von den Nierenexplantaten des Axolotls und den Herz-, Muskel-, Milz- und Nieren-Züchtungen der Teleostier.

Diese Ergebnisse veranlassten mich, die Sumpfschildkröte (*Emys orbicularis*) zu meinen Experimenten zu benützen. Meine Versuche habe ich an dem Sinus venosus des Herzens durchgeführt. Wie wir wissen, gehen die Kontraktionsreize des Herzens von hier aus. Nach den, in den letzten Jahren veröffentlichten Arbeiten von *Hoferlandt*⁴ und *Demoor*, kann aus diesem Herzteil ein Stoff extrahiert werden, welcher das ruhende Herz in Bewegung setzt und welcher deshalb Herzormon genannt wurde. Ohne mich mit der physiologischen Seite der Frage zu beschäftigen, erwähne ich nur, dass der rhythmische Betrieb des Herzens in Gewebezüchtungen von *Burrows*,² *Carrel* und *M. Lewis* und *Olivo*⁵ studiert wurde. Besonders Interesse erregend sind die Versuche des Letzteren. Er legte heterogene Herzfragmente in eine gemeinsame Kultur und es zeigte sich, dass ein Herzteilchen imstande ist das andere in synchron-rhythmische Bewegungen zu bringen.

Ich nahm die Gewebeteile für meine Untersuchungen aus dem Sinus venosus einer entwickelten Sumpfschildkröte. Die langsame Gerinnung des Schildkrötenplasmas erleichtert die Züchtung sehr. Ein vier Wochen altes, zentrifugiertes Plasma war noch immer ein taugliches Medium zu den Züchtungen. Mit Frosch-Ringer verdünnt, kann es gut als Nährmedium verwendet werden. Zu den Kulturen nahm ich aus der präparierten Carotis 6—8 cm³ Blut.

Einen Teil der Kulturen hielt ich bei Zimmertemperatur, den anderen in einem Thermostat bei 38 C°. Der Temperaturunterschied machte sich in dem Grade des Wachstums nicht geltend, nur in der Dauer der Incubation nach der Implantation zeigte sich eine Differenz. Ich kann die Beobachtungen *Gassul's*⁶ bestätigen, dass im Sonnenlicht gehaltene Kulturen eine intensivere Lebenstätigkeit, als die im Dunkeln gehaltenen zeigen, aber auch schneller zugrunde gehen.

Die Gewebestücke wusch ich in Ringer-Lösung aus und legte sie in Schildkrötenplasma. Nach 16 Stunden zeigten sich schon die Zeichen des Auswuchses. Besonders rasch zeigte sich ein Auswuchs an den, aus dem Sinus venosus entnommenen Stücken. Aus 45 Kulturen, die aus dem Sinus venosus entnommen wurden, sah ich bei 40 die Zeichen eines Auswuchses nach einer Zeit, wo bei 20 anderen Stücken, die aus anderen Herzteilen stammten, überhaupt noch kein Zeichen des Wachstums zu bemerken war.

Vierundzwanzig Stunden nach der Einimpfung zeigte sich das Bild, das Fig. 1 darstellt. Die Fibroblasten dringen strahlenförmig in das Nährmedium. Sie sind,

wie bei allen niederen Tieren charakteristisch lang und mit dem Muttergewebe verbunden. Das Wachstum ist so rasch, dass die die einzelnen Zellen verbindenden Plasmamenbrücken sich nicht entwickeln. An ein Syncytium erinnerndes Gewebe, wie es z. B. aus dem Herzen des Hühnerembryos entsteht, finden wir hier nicht, obwohl *Laser* eine solche Verbindung der Zellen ein wichtiger Faktor des Wachstums ist. Meine Versuche zeigen, dass im Sinus venosus eine Substanz enthalten sein muss, welche das Wachstum der Zellen fördert. Es ist besonders hervorzuheben, dass bei dem aus dem entwickelten Organismus gezüchtete Zellen sich im Allgemeinen langsamer entwickeln, als das embryonale Gewebe, wie in dieser Reihe auch solche Kulturen fanden, die mit den Kulturen aus dem Epithel des Hühnerembryos vergleichbar waren.

Jedenfalls ist es interessant, dass der Ort im Herzen, der einesteils der Ausgangspunkt der Reizbildung und die Bildungsstelle des Herz hormons ist, gleichzeitig auch der Ort des stärksten Wachstums in der Gewebekultur ist. Es wurde schon von *Carrel*, *Burrows*, u. a. bemerkt, dass nicht alle Teile des Herzens gleiches Wachstum in Gewebekulturen zeigen. Natürlich können wir nichts darüber sagen, ob die verschiedenen Erscheinungen dieselbe Ursache haben.

Fig. 2 zeigt bei Immersionsvergrößerung strahlenförmig aus dem Muttergewebe auswachsende Zellen. Man gewinnt den Eindruck, dass der wachstumfördernde Faktor an einen streng definierten Platz lokalisiert ist. Diese auswachsenden Zellen sind Fibroblasten, jedoch passt auf sie *Fischers* Beschreibung nicht, dass Fibroblasten schon beim Beginnen des Wachstums ein dichtes, miteinander eng verbundenes Netz bilden. Hier wachsen die Zellen ganz selbständig weiter. Ihr Kern ist oval, in manchen Fällen halbmondförmig gekrümmt. Das Protoplasma enthält zum Zeichen eines intensiven Stoffwechsels viele Vacuolen.

Fig. 3 zeigt eine, sich in der dritten Passage befindende Kultur, nach 48-tägiger Züchtung. An einer Stelle des Muttergewebes ist inselartige Zellvermehrung und Wachstum bemerkbar, was sich schon in der 24-ten Stunde der Implantation zeigte. Diese Zellen sind zusammengewachsen und liessen hinter sich ein freies Plasmagel, was die später auswachsenden Zellen ausfüllten. Nach der 5-ten Passage zeigt die Kultur schon einheitliches Wachstum.

Fig. 4 zeigt eine Kultur aus der 3-ten Passage nach 2-tägiger, Fig. 5 aus der 5-ten Passage nach 3-tägiger Züchtung.

Zusammenfassend können wir also sagen, dass aus einem speziellen Teil des Herzens, dem Sinus venosus, entnommene Kulturen ein stark erhöhtes Wachstum zeigen, welches eventuell durch eine hier gebildete fördernde Substanz zustande kommt. Ähnliche fördernde Stoffe sind auch in Embryoextrakten, sowie in den Auszügen einzelner Organe, z. B. Leber, Niere enthalten. Die Frage über die Identität dieser Wirkungsstoffe ist noch nicht entschieden. Vorläufig sollte nur auf die Tatsache selbst hingewiesen werden.

DES

DE

9

**A MAGYAR BIOLOGIAI KUTATÓ INTÉZET
II. OSZTÁLYÁNAK MUNKÁI**

SZERKESZTI:
DR. VERZÁR FRIGYES
EGYET. NY. R. TANÁR,
A BIOLOGIAI KUTATÓ INTÉZET IGAZGATÓJA

**ARBEITEN DER II. ABTEILUNG
DES UNGARISCHEN BIOLOGISCHEN FORSCHUNGSINSTITUTES**

REDIGIERT VON:
PROF. DR. FRIEDRICH VERZÁR
DIREKTOR
DES BIOLOGISCHEN FORSCHUNGSINSTITUTES

DR. KOLLER PIUS:

DEGENERÁCIÓS ÉS INVOLUCIÓS SEJTTÍPUSOK
SZÖVETKULTÚRÁKBAN

DR. PIUS KOLLER:

DEGENERATIONS- UND INVOLUTIONSZELLENTYPEN
IN GEWEBEKULTUREN



TIHANY, 1929.

DEGENERÁCIÓS ÉS INVOLUCIÓS SEJTTÍPUSOK SZÖVETKULTURÁKBAN.

Irta. DR. KOLLER PIUS.

Ha szövetkultúrákat magukra hagyunk, azok elhalnak. Néha már 36 óra, — máskor csak 4—5 nap múlva észlelhetők a pusztulás jelei. Ezeket a degenerációs elváltozásokat különösen *Romanese*¹ és *Krontowsky* és *Koleff*² vizsgálta alaposan. Szerinte az elváltozások azzal kezdődnek, hogy erősen fénytörő, lipid szemcsék jelennek meg, melyek lassan gyarapodnak és végül is nagyobb cseppekké olvadnak össze. A sejtnyúlványok elvékonyodnak, visszahúzódnak és a sejtek gyakran gömbalakot vesznek fel. A sejt kerületében ilyenkor időszakonként hyalincseppek jelennek meg. Végül autolytikus folyamatok a sejteket teljesen eltüntetik és csak fénytörő szemcsék maradnak meg.

Alacsonyabb rendű gerinceseken végzett kísérletek azt mutatják, hogy ott a regresszív elváltozások egészen más természetűek, mint a magasabb rendűeknél. Ezek sokkal nagyobb mértékben képesek a megváltozott körülményekhez alkalmazkodni. Ezért tartottam érdemesnek, hogy midőn sikerült teknősbékasejteket tenyésztenem, ezeken a sejtek elhalása közben keletkező formákat tanulmány tárgyává tegyem.

Kísérleteimet a mocsári teknősbéka (*Emys orbicularis*) szívéből tenyésztett fibroblast-kultúrákon végeztem. A magukra hagyott, új tápláló médiummal el nem látott kultúrák sejteim csak az 5.—7. napon láttam az első rendellenességeket. Feltehető, hogy mily sokáig tudnak ezek a sejtek alkalmazkodni a megváltozott körülményekhez.

A fibroblastok morfológiai dezorganizációja az egész sejt alakjának megváltozásával kezdődik. A tipikus fibroblastok teljesen átváltoznak, a sejtest megnyúlik, a protoplazma-nyúlványok vagy visszafejlődnek, vagy megduzzadnak. A sejtmag és plazma közötti viszony egyik vagy másik rovására eltolódik; a magvak alakja megváltozik, intenzív festődő képességük hiányzik, a mag folyadékot veszít, ezáltal összezsugorodik, a kromatinhálózat nem ismerhető fel; tehát a pyknosis tüneteit látjuk. A sejtmag desorganizációja még tovább is folytatódik és apró rögökre hull szét: karyorhexis.

A legfeltűnőbb jelenség a sejtmagok számának megszaporodása anélkül, hogy még mitotikus úton történő magoszlást követné a plazma osztódása is. Néha hatalmas protoplazmatestek jönnek létre 5—7 maggal, valóságos syncytiumok.

Más esetben úgynevezett gombaalakú degenerációs formákat látunk. A megnyúlt protoplazma-rész még normális, míg a felső, süvegszerű részben megindult már a pusztulási folyamat, a plazma megduzzadt és a sejtmag oldalra nyomódott.

A sejt belsejében gyakori a plazma vakuolás degenerációja. Néha már csak a

sejt kontúrjai látszanak és a magvak élesen elválnak a plazmatesttől. Az ép plazma vital festékekkel nem festődik. Több hosszú nyúlványokkal ellátott, ép, csillag alakú fibroblast is volt látható. Ha ilyen sejteket vitálisan festünk, jól kiválasztjuk, hogy az ép fibroblast milyen intenzíven festődött. Sokszor a sejttest nagy sphaerium, számos sejtmaggal. A protoplazmában nagy vakuolák és zavaros, szemcsés anyag látszik. Más helyen a sejt belsejében pathológiás zsírlarakódást látunk. A sejt alakja tojásdad, a mag az egyik oldalhoz szorul, mellette nagy vakuola is látható. A protoplazma belseje osmiummal feketére festődő zsírszemcsékkel van tele. Sokszor a nekrobiózisnak egy, már előrehaladott fázisát mutatja. A súlyzóalakú sejttest is látható. A plazma autolytikus folyamatokon ment keresztül és közvetlenül a szérum előtt áll. A sejt belsejében sokszor 5 sejtmag is látható, de körvonalai határozatlanok.

Az itt leírt formái az elhaló sejteknek még távolról sem érthetők meg mindegyik részletükben és azért ezen regresszív folyamatokról minden újabb adat szükséges egyelőre ahhoz, hogy ezekről egységes képet alkossunk magunknak.

DEGENERATIONS- UND INVOLUTIONSZELLENTYPEN IN GEWEBEKULTUREN.

VON DR. PIUS KOLLER.

Ueberlassen wir Gewebekulturen sich selbst, so werden sie manchmal schon nach 36 Stunden, in anderen Fällen erst in 4—5 Tagen zugrunde gehen. Die Degenerations- und Involutionen wurden besonders von *Romanese*¹ sowie *Krontowsky* und *Koleff* eingehend untersucht. Nach ihrer Beschreibung beginnen die Veränderungen mit dem Erscheinen von stark lichtbrechenden Lipoidkörnchen, welche langsam wachsend, endlich zu grösseren vereinigen. Die Zellfortsätze werden verdünnt, ziehen sich zurück und die Zellen nehmen oft eine Kugelform an.

In der Peripherie der Zelle treten zeitweise hyaline Tröpfchen auf. Endlich verschwinden die Zellen unter der Wirkung autolytischer Vorgänge; nur die lichtbrechenden Tröpfchen bleiben zurück.

Versuche an niedrigen Wirbeltieren haben gezeigt, dass bei ihnen die regressiven Veränderungen eine ganz andere Natur haben, wie bei höheren. Im allgemeinen können diese sich besser den veränderten Verhältnissen fügen. Das gab mir Anlass, abgesehen von mir gelang Schildkrötenzellen zu züchten, die beim Absterben dieser Zellen eintretenden Veränderungsformen zu studieren.

Meine Versuche habe ich an Fibroblastkulturen aus dem Herzen der Sumpfkriechkröte (*Emys orbicularis*) durchgeführt. Die Zellkulturen wurden, ohne sie mit einem Nährmedium zu versehen, sich selbst überlassen. Die ersten Unregelmäßigkeiten traten erst am fünften, resp. siebenten Tage auf. Es ist auffallend, wie leicht sich diese Zellen den veränderten Verhältnissen fügen können.

Die morphologische Desorganisation der Fibroblasten beginnt mit der Veränderung der Zellform. Die typischen Fibroblasten verändern sich gänzlich. Der Zellkörper verlängert sich, die Protoplasmfortsätze verschwinden, oder schwellen an. Das Verhältnis zwischen Plasma und Zellkern verändert sich auf Kosten des einen, oder

10

KÜLÖNLENYOMAT

**A MAGYAR BIOLOGIAI KUTATÓ INTÉZET
II. OSZTÁLYÁNAK MUNKAIBÓL.**

IV. KÖTET. 1931.

SZERKESZTI:

DR. VERZÁR FRIGYES
EGYET. NY. R. TANÁR
A BIOLOGIAI KUTATÓ INTÉZET IGAZGATÓJA.

SONDERABDRUCK AUS DEN

**ARBEITEN DER II. ABTEILUNG
DES UNGARISCHEN BIOLOGISCHEN FORSCHUNGSINSTITUTES**

IV. BAND. 1931.

REDIGIERT VON:

PROF. DR. FRIEDRICH VERZÁR
DIREKTOR
DES BIOLOGISCHEN FORSCHUNGSINSTITUTES

**AZ 'INHIBITOR' FAKTOROK ÉS MORGAN
FAKTOR-HYPOTHESISE.**

Írta: DR. KOLLER K. PIUS adjunktus.

**DIE HEMMUNGSFAKTOREN UND MORGAN'S
FAKTOR-HYPOTHESE.**

Von: DR. P. CH. KOLLER.



TIHANY, 1931

mér.

chloroformmal öltük meg és a bőrt eltávolítottuk. Nagyon gondosan megtisztítottuk minden kötőszövet és vérér résztől, mert ez utóbbiak jelenléte zavarta a reakciók jellegzetes megjelenését. A bőrt a megtisztítás után darabokra vagdaltuk, tisztá homokkal szétdörzsöltük. Az így kapott pépet vászonba tettük és 3-atmoszféra nyomás alatt kipréseltük. Ezután 10—15 peccig centrifugáltuk, préselés után nyert sűrű folyadékot.

A nyert kivonatokat négy egyenlő részre osztottuk el és kínai porcellán lemez vájulataiba helyeztük. Ugyanazon kivonat első adagjához nem adtunk semmit, ez szolgált kontroll gyanánt kísérleteink folyamán. A második adaghoz Bloch Dopa-ját, vagyis a dioxyphenylalanin-t adtuk hozzá nagyon finom por alakjában. A Dopa mennyisége 2—4 gramm volt. A harmadik adaghoz a Dopa-kívül még 2—3 csepp vizet is öntöttünk. A negyedik adaghoz adtunk Dopa-t 2—3 cseppet abból az extraktumból, melyet vagy a domináns fehér, vagy pedig az agouti színű nyúl szintelen hasi tájékáról nyertünk a fentebbi módszerrel. Ez utóbbi kivonat természetesen világosabb, mint a színes bőrrészekből egyikéből készült kivonat s ezekhez hozzáadva kissé világosabbá is teszi a reakció bőr extraktumait. Ezért vezettük be a harmadik sorozatot, ahol a domináns fehér színű bőrből, vagy agouti nyúl hasi részéből készítettünk az „inhibitor“ anyagot tartalmazó kivonat helyett, csak vizet adtunk a Dopa-val kezelt kivonathoz.

A kínai porcellán lapot nagy Petri-csészébe helyeztük, melybe előzőleg nedvesített vattát tettünk. Az edényt 4 órán keresztül 37° C-on tartottuk, utána 1 óráig szobahőmérsékleten hagytuk s ekkor jegyeztük fel a reakciókat.

A) Kísérletek nyulakon.

Nyúl bőréből készült kivonataink elkészítéséhez a következő fajtákat használtunk fel:

- | | |
|-------------------------------------|--------------------------------------|
| (1) agouti, | (5) recesszív, vagy albino fehér, |
| (2) recesszív vagy normális fekete, | (6) csokoládé, vagy hígított fekete, |
| (3) domináns, vagy D-fekete, | (7) agouti-holland. |
| (4) domináns fehér, | |

1. Az agouti színű bőr kivonata.

Az agouti színű nyúl színes bőréből készítettük az extractumot s az „inhibitor“, ugyancsak az agouti nyúl hasi tájékáról nyert kivonatot használtuk. E tájék színe fehéres, erősen elüt a jellegzetes agouti színtől.

Kivonat ¹	Reakció:
E	—
E+Dopa	+++
E+Dopa+H ₂ O	++
E+Dopa+inhibitor	++

¹ E = kivonat a bőr színes részéből.

+ = pozitív reakció, fekete színű csapadék keletkezett.

— = negatív reakció, a színben nem történt változás.

A Dopa-val és vízzel vegyített kivonatnál a reakció pozitív, de nem olyan sötét, mint víz nélkül; valószínűen a víz felhígította a csapadék színét. A kapott eredmény mutatja, hogy az agouti színben jelen van az összes pigmentképző tényező, míg a hasi rész inhibitor anyagot tartalmazhat, mely azon a tájékon nem engedi a szín kialakulását.

2. A recesszív, vagy normális fekete színű bőr kivonata.

Kivonat :	Reakció :
E	—
E+Dopa	+++
E+Dopa+H ₂ O	+++
E+Dopa+inhibitor	—

Kétféle inhibitorot használtam: egyiket az agoutiból, a másikat a domináns fehér nyúlból. Mind a kettő negatív reakciót adott. Ha agoutit recesszív feketével kereszteztem az F₁ nemzedékben minden utód hasi tájéka, az agouti színtelenségét örökli. Hasonlóan, ha domináns fehérrel keresztezzük ezt a feketét, minden első nemzedékbeli utód fehér színű lesz. Az agouti s a domináns fehér az inhibitor bejuttatja az utódokba.

3. A domináns, vagy D-fekete színű bőr kivonata.

Kivonat :	Reakció :
E	—
E+Dopa	+++
E+Dopa+H ₂ O	++
E+Dopa+inhibitor	++

A fenti eredmény mutatja, hogy az inhibitor nem tudja megakadályozni a szín keletkezését. *Punnett* (1915) felveszi annak a lehetőségét, hogy a D-fekete nyúlban olyan enzima van jelen, mely megakadályozza a színt gátló másik inhibitor hatását. *Punnett* ezt a faktort az inhibitor inhibitorának nevezte el. Újabbban (1930) azonban ama nézet felé hajlik, hogy vagy a chromogen, vagy az oxidase hatása eliminálja az inhibitor. Mikor agoutit ilyen D-fekete nyúllal keresztezett, az F₁ nemzedékben nem jelent meg a fehérszínű hasi tájék s az utódok egészen feketék lettek. Amint látjuk, a kémiai eredmények teljesen igazolják a genetikus konstitúcióra vonatkozó magyarázatunk helyességét.

4. A domináns fehér színű bőr kivonata.

Kivonat :	Reakció :
E	—
E+Dopa	—
E+Dopa+H ₂ O	—
E+Dopa+inhibitor	—

A reakció Dopa hozzáadásával negatív volt, kivéve azt az esetet, amikor a kivonatot nagyon rövid ideig forraltuk s utána adtuk hozzá a Dopát. Feltételezem, hogy ebben az esetben az inhibitor aktivitását elpusztította a hő s így a kivonat többi összetevője Dopa kombinálásával pigmentet tudott létrehozni.

5. A recesszív, vagy albino fehér bőr kivonata.

Kivonat :	Reakció :
E	—
E + Dopa	—
E + Dopa + H ₂ O	—
E + Dopa + inhibitor	—

Evvel a kivonattal Dopa nem tudott melanint képezni, még akkor sem ha az extraktumot felfőztük. De ha a kivonathoz utólag fekete bőr kivonatot adtam, pozitív reakció jelent meg. Ez azt bizonyítja, hogy a recesszív fehér bőrből a pigmentet létrehozó kémiai sorozat egy, vagy több tagja hiányzik, amelyet pótolunk a „fekete“ extractum hozzáadásával. Ha albino nyulat normális fekete színűvel keresztezzük, az F₁ nemzedék minden tagja fekete lesz, mert a fekete szülő a pigmentképzőket beleviszi a keresztezésbe.

6. A csokoládé-barnás színű bőr kivonata.

Kivonat :	Reakció :
E	—
E + Dopa	++
E + Dopa + H ₂ O	+
E + Dopa + inhibitor	—

A csokoládé szín valóságban nem más, mint fekete, mely szint azonos valamilyen faktor felhígítja. Keresztezésben s a kémiai vizsgálatnál éppen úgy viselkedik, mint a normális, vagy recesszív fekete.

7. Az agouti-holland nyúl bőrének kivonata.

Háromféle kivonatot készítettem : E₁-et az agouti színű részekből, E₂-et a gerezna fehér tájékaikról s E₃-at a szintelen hasi részből.

E₂ éppen úgy viselkedett, mint az agouti : Dopával pozitív reakciót adott, E₂ nem adott ugyan melanin csapadékot, de nem is tudta megakadályozni a melanin keletkezést, vagyis úgy viselkedett, mint az albino. E₃ olyan volt, mint az albino agouti hasi részből nyert kivonat, inhibitorként tudtam alkalmazni.

B) Kísérletek tengeri malacon.

A tengeri malac négy fajtáját használtam fel kísérleteimhez :

- (1) normális fekete,
- (2) domináns fehér,
- (3) albino, recesszív fehér,
- (4) fekete-fehér tarka.

1. A fekete színű bőr kivonata.

Kivonat :	Reakció :
E	—
E+Dopa	++
E+Dopa+H ₂ O	++
E+Dopa+inhibitor	— —

A domináns fehér tengeri malac bőrből készült kivonatot használtam fel, mint inhibitor faktort. A kémiai eredmény teljesen összhangban van a keresztezési eredményekkel ; a fekete recesszívként viselkedik a domináns fehérrel szemben s az ilyen keresztezésnél az F₁ minden egyéne fehér.

2. A domináns fehér bőr kivonata.

Kivonat :	Reakció :
E	—
E+Dopa	—
E+Dopa+H ₂ O	—
E+Dopa+inhibitor	—

Az extraktum kémiai viselkedése megmagyarázza a genetikai dominanciát. Feltételezhetjük, hogy a pigmentképzők jelenléte mellett még ezek működését megakadályozó inhibitor is van. Ez az inhibitor anyag ellenállóbbnak bizonyult, mint a nyúlnál, mert felfőzvé az extraktumot, nem kaptunk melanin csapadékot.

3. Az albino bőr kivonata.

Kivonat :	Reakció :
E	—
E+Dopa	—
E+Dopa+H ₂ O	—
E+Dopa+inhibitor	—

Csak „fekete“ kivonat hozzáadásával produkált Dopával együtt melanin csapadékot. A keresztezési eredményeink azt sejtetik, hogy a szintelen chromogen hiányzik a pigmentképző rendszerből.

4. A fehér-fekete tarka bőr kivonata.

Kétféle kivonatot készítettem : E₁ a fehér színű részekből, E₂ a fekete színű részekről. Az első úgy viselkedett, mint a domináns fehér, vagyis a feltételezett inhibitor lépett akcióba s megakadályozta a pigment képződését. E₂ nem volt más, mint a fentebb említett fekete bőr kivonata.

Az inhibitor faktort *Bateson* (1913) vezette be az örökléstanba. Ennek tényezőnek felvétele szükséges volt, ha a tőle körvonalozott „*Presence and Absence*“ elméletet a genetika újabb eredményeivel összhangba akarta hozni. *Bateson* szerint ugyanis „evidently simpler to imagine that the dominant character is due to the presence of something which in the case of the recessive is absent.“ Az ő gondolatát *Punnett* (1918) építette tovább. A *Presence and Absence* theoria értelmében valamely bélyegpár két tagja közül a domináns dominanciáját olyan faktornak köszöni, mely benne megvan, de nincs meg a recesszívben. Ily módon nem szükséges, hogy valamely bélyegpár tagjainak elterjedéses jellegét, két különböző tényezőnek tulajdonítsuk, hanem a különbséget csupán egy ugyanazon faktor két lehetséges állapotából magyarázhatjuk, abból, hogy jelen van-e az a faktor vagy nem. *Bateson* s *Punnett* az adott faktorok jelenlétét nagybetűkkel, míg hiányukat a megfelelő kis betűkkel jelöli. Az ugyanazon állat s növényfajoknál fellépő azonos jellegek különböző módon és fokban való öröklésnek nehézségét az elmélet azzal igyekezett kiküszöbölni, hogy felvette a faktorok kvantitatív szétdarabolódását s bevezette az inhibitor faktorok fogalmát. Pl. a „*picotee*“ variáció abban különbözik a *Lathyrus odoratus* rendes virágjától, hogy a *picotee* virágnak csak a szegélye piros. Ez úgy történhetett az elmélet szerint, hogy az egész virág piros színét okozó faktor, mennyiségileg megfogyatkozott. A holland nyúl forma gazdagsága úgy jöhetett létre, hogy vagy a chromogen, vagy pedig az oxidase fermentum mennyisége csökkent. Ha pl. a chromogen teljesen eltűnik, akkor teljesen színtelen, illetve fehérszínű formá-
kapunk. Vagyis a fehérszín a megfelelő tarka szint okozó faktorok elvesztéséből jönne létre.

Amde a keresztezési kísérletek azt bizonyítják, hogy a fehér szín egyszerűen recesszív, máskor pedig, mint domináns jelleg öröklődik. Sőt recesszív s domináns fehérek egymásközött történő keresztezéséből színes utódokat is kaphatunk.

E látszólagos zavar eliminálása végett hozta be *Bateson* és *Punnett* az öröklésmechanismusába az inhibitorok szerepét. A fentebb adott eredményeinket már az inhibitor faktor felvételével fejtettük ki, mert ezáltal könnyen s egyszerűen értelmes tökké válnak. Ugyancsak a *Presence and Absence* elmélet segítségével a következő módon tudjuk szemléltetni az öröklődő színek alap konstitúcióját.

A színes pl. fekete nyúl genetikai összetétele: $AABBii$, vagy $AaBBii$ esetleg $AaBbii$. A -val jelezzük a színtelen chromogen jelenlétét, a -val annak hiányát, B -vel az oxidase, vagyis a pigmentképződés másik fontos tényezőjének jelenlétét, b -vel annak hiányát. Az i jelenti az A és B együttes működését akadályozó „inhibitor“ hiányát. Persze meg kell jegyeznünk, hogy ez az adott formula csak általános konstitúció feltüntetésére szolgál, mert a valóságban még sok más tényező is járulhat hozzá pl. szint mélyebb árnyalatúvá tevő faktor, foltokat lokálisan létrehozó faktor etc.

Az albino, azaz recesszíven öröklő fehér szín összetétele: $aabbi$, $AaBbii$ esetleg $Aabbi$, $aabbi$ lehet. Vagyis hiányzik a pigment képző faktorok egyike vagy mindkettője. Az ilyen összetételű egyének csirasejtjei: abi , Abi , aBi faktorokat fogják tartalmazni. Ha abi csirasejtek találkoznak: csak albino utódokat kapunk; ha azonban Abi csirasejt aBi -vel termékenyítetik meg, akkor

annak ellenére, hogy mindkét szülő albino fehér volt, utódaik között színes alakok is megjelennek, mert a két szín-faktor: az A és B ismét összekeverül az $AaBbii$ konstitúciójú egyénben. Ez utóbbi eredmény amellett bizonyít, hogy az albinóban nincs ok feltételezni inhibitor faktor jelenlétét. A kémiai kísérletek is bizonyítják ezt, mert hiszen amikor „fekete” bőr kivonat hozzáadásával a pigment képző A és B faktorokat bejuttattuk: szín keletkezett, ami nem történt volna, ha még az albino extractum inhibitorát is tartalmazott volna.

A dominánsan öröklődő fehér szín genetikus konstitúciója: $AABBII$, $AaBBII$, $AaBbII$ vagy $AaBbIi$ lehet. Megjegyezzük, a keresztezések azt mutatják, hogy az I faktor a három első formánál nemcsak homozygota, de heterozygota módon is jelen lehet. Ha az I faktort, mely az inhibitor jelzi, bevisszük egy fekete nyúllal való keresztezésbe, akkor a keletkezett hybrid összetétele ($ABI \times ABi$) $AABBII$, vagyis az F_1 phaenotypusa a fehér szín lesz. A kémiai analízis azt mutatta, hogy domináns fehér bőrök kivonata fekete bőr extraktumával nem adott színes csapadékot.

A Punnett kísérleteiben feltűnt D , vagy domináns fekete, genetikus konstitúciója: $AABBiiI'P'$; amikor az I' az I -nek inhibitorja, vagy pedig $A'A'BBii$ esetleg $AAB'B'ii$, ahol az A , illetve B faktorok quantitativ differenciát mutatnak az előbbi formák e két tényezőjével szemben. Annyi bizonyos, hogy $AABBII$ fehérrel való keresztezésből kapott hybridék az F_1 nemzedékben feketék lesznek mindannak ellenére, hogy az I jelen van bennük. A kémiai viselkedés, melyet a D -fekete bőr kivonat mutatott, azt tanúsítja, hogy az I hatálytalanított, akár egy másik inhibitorral: I' ; vagy pedig az A , illetve B faktorok quantitativ változásával.

A Presence and Absence elmélet inhibitor faktorok felvételével a fentebbi módon magyarázza meg az egyes színre vonatkozó öröklési jelenségeket. Maga Bateson se lát azonban ebben az elméletben mást, mint egy segítő eszközt, mely a komplikáltnak látszó esetekben eligazít bennünket. S valóban úgy látszik, hogy kémiai eredményeinket egyszerűen s érthetően tudjuk megmagyarázni ennek az elméletnek segítségével. Vannak azonban olyan esetek, amikor a Presence and Absence theoria nem alkalmazható. Sőt az is lehetséges, hogy ezzel az elmélettel magyarázott tényeket, Morgan faktor-hypothesis is elfogadhatóan magyarázza.

Morgan (1923) szerint fontos a faktorok s a hozzájuk kapcsolt jellegek közötti helyes viszonyoknak szem előtt tartása. Vannak faktorok, melyek ugyanarra a bélyegre vonatkoznak, annak a létrejövéséhez mind szükségesek. A *Drosophila melanogaster*-nél pl. a rendes hosszú szárnyat létrehozó faktorok száma legalább is 12, ugyanis ennyi szárny mutáció ismeretes. Mindegyik faktor specifikus hatást idéz elő, a rendes szárnyat az összes, azaz a 12 faktor normális allelomorphjainak együttes hatása okozza. Másik fontos sarkköve a faktoriális hypothesisnek, hogy vannak faktorok, melyek nem egy bélyeget érintenek, hanem azok egész sorozatára kihatnak. Ilyen pl. ugyancsak a *Drosophilánál* a club faktor. Ennek hatása látható a szárnyakon, sertéken, fejen, szemén, thoraxon és potrohon is. Éppen ezért De Vries a mutációról adott meghatározásában feltételezi, hogy az elemi-faktor (unit-factor) változása kihat az egész szervezetre. A faktori-

hypothézis szerint az elemi bélyeg sok esetben csak egyik hatás a sok közül, mely az elemi faktor előidézhethet.

Morgan hypothesis nem ugyanazon faktor vagy faktorok kvantitatív csökkenésével magyarázza pl. az albino szín keletkezését, hanem egyszerűen felveszi, hogy itt egy, esetleg a többi színformáló faktortól független tényezőben változás történt. A *Drosophilánál* a fehér szemszín nem azért jött létre, mert a piros színt okozó faktor elveszett, vagy ha több volt, számbelileg megkevesbedett volna, hanem azért, mert a normális szemszínt előidéző 25 faktor közül egy változott meg.

A faktor-hypothesis-sel is kielégítően tudjuk magyarázni a színek öröklődését, s ugyancsak okát tudjuk adni kémiai analízisünk eredményeinek is. Nem szükséges feltételeznünk, hogy az albino, vagyis a recesszíven öröklődő fehér szín a pigmentképző faktorok egyikének vagy esetleg mindkettőjének elvesztésével jött volna létre. Az a felfogás, hogy minden recesszív bélyeg a megfelelő domináns bélyeg faktorának hiánya lenne, ma már úgyszemint vallható fenntartás nélkül, éppen ezért feltételezhetjük, hogy az albino szín képződésénél nem valaminek a hiánya a lényeges ok, hanem ezt valamelyik, esetleg mindegyik színeképző faktorban történt ilyen elemi fundamentális elváltozásban kell keresnünk. Nagyon is lehetséges, hogy mondjuk az *A* faktor mutál, átváltozik biológiai és biochemiai összetételében és már nem is egyszerűen *a*-val jelölhetjük, hanem *C*-vel; s tulajdonképpen ez a *C* idézné az albino tulajdonságának megjelenését. Az ilyen albino bőrből készített kivonat természetesen negatív Dopa reakciót ad, mert hiszen az egyik színeképző faktor alapján változott meg. Ha pedig olyan albinokat keresztezünk, ahol az egyikben *A*, másikkban *B* faktor mutált, akkor meg is magyaráztuk az ilyen keresztezésből származó tarka formák keletkezésének a lehetőségét.

A domináns fehér szín, öröklésnél tanúsított viselkedésének megértéséhez sem szükséges felvenni az *A* és *B* faktorok mellett még egy *I* tényező létezését. Keresztezéseink eredményeit megmagyarázza, ha a *B* faktor mutációját tételezzük fel. Ez a változás természetesen más irányú hatású, mint az albinonál az *A* faktorra vonatkozó változás. Az ilyen domináns fehér bőrkivonat negatív reakciót ad Dopával, de nem azért, mert az *A* és *B* színeképző faktorok közé egy harmadik tényező az *I* lépett volna be gátló hatással, hanem mivel a *B*-ben a mutáció lényeges változást idézett elő. Ha az ilyen kivonathoz a normális fekete bőr extraktumát adjuk, ez utóbbinak *B* faktora a másik kivonat alapján megváltozott *B* tényezőjének hatását nem tudja kiegyensúlyozni, s így melanin képződés nem jelenhet meg. Az a tény, hogy a hő lerombolta a megváltozott *B* faktor hatását, azt sejteti, hogy a mutáció esetleg egy reversibilis kémiai folyamat lenne.

A domináns vagy D-fekete szín keresztezésekben tanúsított viselkedés sem bizonyítja, hogy a bőrben egy, az *I* faktor hatását elimináló „inhibitor” enzim jelenne. Még *Punnett* is inkább hajlik ama felfogás felé, hogy a pigmentképző faktorokban történt változás, melyek kompensálni képesek a domináns fehérrel való keresztezésnél a fehér színt okozó, esetleg negatív irányú elváltozásokat. A második inhibitor felvétele túlságba vinné az öröklési jelenségek mechanizálását.

Amint a fent adott fejtegetés bizonyítja, mind a szín öröklődés jelensége, mind pedig a genetikai konstitúció kémiai analízisének eredményei világosan magyarázhatók.

magyarázhatók *Morgan* faktor-hypothesisével is. Igaz, hogy a *Presence and Absence* theoria követelte inhibitor faktor bevezetésével szemléltetőbbé s könnyebben érthetővé tehetjük magyarázatunkat, de vannak jelenségeink, melyek az előbbi hypothesis alkalmazását sürgetik.

Legelső sorban is ki kell emelnünk, hogy kémiai analízisünk nem bizonyítja inhibitor enzimának a létezését, hanem csak azt, hogy a pigmentképző faktorok egymásközötti viszonya a kémiai viselkedésükből visszakövetkeztetve, nagyon megváltozott. A reláció differenciákat okozhatta az egyes faktorokban történt konstitúciós eltolódás is.

Transplantációs kísérletek, melyeket *Danforth* (1927) csirkéken, én pedig tengeri malacokon végeztem, azt bizonyítja, hogy a bőr nem tartalmaz ilyen sajátos inhibitor enzimát. *Danforth* domináns fehér tollú baromfira, feketetollúnak bőrdarabkáját plantálta át s amikor az insertálódott, fekete tollakat produkált. Ha a bőrben inhibitor lett volna jelen, ez a vér áram útján feltétlenül éreztette volna hatását. A fekete tengeri malacok bőre hasonlóan fekete maradt a domináns fehér környezetben. Szövettenyésztési kísérletekkel igyekeztem (1930) kimutatni ilyen enzima létezését, de negatív eredménnyel. A barna Leghorn baromfi kötőszövetében keletkező pigmentsejteket tenyésztettem, s ezek fejlődését igyekeztem meggátolni a fehér Leghorn extractumával. Míg a keresztezés alkalmával a pigmentképződés kimaradt, addig az *in vitro* végzett kísérlet alatt a pigment megjelent a tenyészkultúrákban.

Ezek az eredmények azt mutatják, hogy az inhibitor helyett megfelelőbb, ha a színképző faktorokban történő mutációs változásokban keressük a színek genetikai s kémiai analízissel kimutatott különbségeinek okát.

ÖSSZEFOGLALÁS.

1. Az agouti, agouti-holland, recesszív fekete és csokoládé színű nyúl színes bőrrészből készített kivonatok Dopa-val csapadékot adtak, ami bizonyítja, hogy bennük jelen vannak a pigmentképződéshez szükséges alkotóelemek.
2. Az albino s az agouti-holland nyúl fehér részéből készített kivonat Dopa-val nem adott színes csapadékot, ezekben a színképző tényezők egyike, esetleg mindegyike hiányzik, vagy annyira megváltozott, hogy pigmentet nem tud létrehozni.
3. A domináns fehérszínű bőrkivonat Dopa-val negatív reakciót adott, s az alatt jelzett kivonatokhoz adva, a pigment kicsapódást megakadályozta. Feltekinthetjük egy inhibitornak jelenlétét, de elfogadhatjuk azt is, hogy a színképző tényezőkben történt fundamentális változás. Az agouti hasi tájékaról készített kivonat hasonlóan viselkedett.
4. A domináns fekete bőr kivonata Dopával színes csapadékot képezett a 3. pontban említett kivonatok nem tudták megakadályozni a melanin keletkezését. Valószínű, hogy a pigmentképző tényezők változása okozza ennek a színnek dominanciáját.
5. Tengeri malac megfelelő fajtájának bőrből készített kivonat éppen úgy viselkedett, mint a hasonló genetikai összetételt tanúsító nyúl bőr extraktuma.

6. A kémiai analízis világosságot derít a különböző színű nyúlak s tege
malacok belső öröklési összetételére s ugyanazon színek különböző viselkedés
kémiai okára.

7. A kémiai analízis nem bizonyítja inhibitor enzimának a létezését, csak
hogy a pigment létrehozó tényezők között levő viszonyban változás történt.
Morgan faktor-hypothese alapján is magyarázhatjuk eredményeinket.

(Aus der genetischen Abteilung des National Institute of Poultry and der School
of Biochemistry von Cambridge und der II. Abt. des Ungarischen Biologischen
Forschungs-Institutes.)

DIE HEMMUNGSFAKTOREN UND MORGAN'S FAKTOR-HYPOTHESE.

Von DR. P. CH. KOLLER.

Bertrand (1908), und *Chodat* (1912) haben den Mechanismus der Pigment
dung erläutert und dabei bewiesen, dass die Farbe der Pflanzen und Tiere dabei
ausgelöst wird, dass ein oxydierendes Ferment oder Enzym auf das farbige
Chromogen einwirkt. *Gortner* (1911), *Przibram*, *Dembowsky-Breecher* (1915),
Schultz (1925) zeigten, dass die Gegenwart der Oxydase zur Bildung des Pigment
unbedingt nötig ist. *L. Kaufmann* (1923) ist es gelungen durch Tyrosinase-Injektion
Melanin-Pigment zu erhalten.

Die Kenntnis der chemischen Grundlage der Pigmentbildung ermöglicht
uns die Farben-Vererbungsanalyse von diesem Standpunkte aus durchzuführen.
Onslow (1915) hat bewiesen, dass zwischen den beiden weissen Varianten
Kaninchen, Mäusen und Ratten chemische Unterschiede bestehen, ferner dass diese
chemischen Unterschiede auch den genetischen Unterschieden vollkommen
entsprechen. Er hat sogar die beiden pigmentbildenden Substanzen in den Formen
die die weisse Farbe dominant vererben, nachgewiesen, doch nimmt er noch
Mitwirkung eines „inhibitor“ (hemmenden) Enzyms an. Bei der recessiven
albino-weissen Farbe wirkt nach seiner Auffassung kein „Inhibitor“ mit, sondern
ist hier das pigmentbildende System mangelhaft.

Die in der Vererbungs-Literatur mitgeteilten neueren Ergebnisse eines
der in die Pigmentbildung gewonnene tiefere Einblick andererseits, wie auch
Ergebnisse der Untersuchungen von *Bloch* ermöglichten uns nun, eine noch weiter
vervollkommnete Analyse vorzunehmen.

METHODIK.

Als Versuchstiere dienten uns 2—3 Tage alte Kaninchen und Meerschweinchen,
deren genetische Konstitution bekannt war. Das Tier wird mit Chloroform
getötet und die Haut sorgfältigst entfernt, wobei man Sorge dafür trägt,
kein Bindegewebe noch Blutgefässe haften bleiben. Dann wurde die Haut in
kleine Stücke zerschnitten und mit feinem Sand in einem Mörser verrieben.

Der auf diese Weise gewonnene Brei wurde in ein Leinentüchlein gebunden und in einer Presse scharf abgepresst. Die gewonnene dicke Flüssigkeit wurde 10—15 Minuten lang zentrifugiert.

Als Inhibitor diente ein Extrakt, der aus der weissfarbigen Bauchgegend der agoutifarbenen und aus den weissen Hautteilen der dominant vererblichen holländischen Rasse hergestellt wurde. Der Extrakt wurde in vier Teile geteilt und in die Vertiefungen einer zweckentsprechenden Porzellanplatte gegossen, zu drei Extrakten gleichen Ursprungs wurde feingepulvertes Dopa (1—3, 4 Dioxyphenylalanin) zugesetzt. Eines von diesen wurde ausserdem noch mit ein paar Tropfen des Inhibitor-Extraktes vermischt. Zur Kontrolle der farbenverdünnenden Wirkung des Inhibitor-Extrakts wurde zu dem verbleibenden vierten Hautextrakt die gleiche Menge Wasser und Dopa zugesetzt.

Die erwähnte Porzellanplatte wurde in eine Petri-Schale gebracht und feuchte Baumwolle zugelegt, dann das Gefäss 4 Stunden lang zunächst bei 37° C, nacher 8 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und dann erst die Reaktion ermittelt.

Zur Herstellung der Extrakte aus Kaninchenhaut wurden folgende Rassen

benutzt :

1. agouti,
2. recessiv oder normal-schwarz,
3. dominant oder D-schwarz,
4. dominant weiss,
5. recessiv oder albino-weiss,
6. schokolade oder verdünnt schwarz,
7. agouti-holländische.

No	Rassen	Kreuzungen				Gekreuzt mit	Farbe der Nachkommen	Bemerkungen
		F ¹	E + D	F ¹ D ¹	F ¹ D			
1	agouti	—	++	++	—	dominant weiss	weiss	I = Extrakt aus der Haut der Bauchgegend des Agouti.
2	recessiv schwarz	—	++	++	—	dominant weiss	weiss	
3	dominant schwarz	—	+++	+++	+++	dominant weiss	schwarz	Faktor I aufgehoben.
4	dominant weiss	—	—	—	—	recessiv schwarz	weiss	Nach Erhitzen, mit Dopa Niederschlag, I. aufgehoben.
5	rec. oder albino	—	—	—	—	recessiv schwarz	schwarz	Auch nach Erhitzen kein Niederschlag.
6	schokolade schwarz	—	++	+	—	dominant weiss	weiss	Schokolade schwarz ist verdünnte schwarz.
7	Agouti-holländisch	E ¹	++	++	—			Extrakt aus der Haut des Agouti-teilen.
		E ²	—	—	—		rec. oder albino	Extrakt aus den weissen Teilen.
		E ³	—	—	—		dom. weiss	Extrakt aus der Bauchgegend.
8	normal schwarz	—	++	++	—	dominant weiss	weiss	
9	dominant weiss	—	—	—	—	normal schwarz	weiss	
10	rec. oder albino	—	—	—	—	normal schwarz	schwarz	Kein Niederschlag, wirkte aber auch auf die Pigmentbildung nicht hemmend.
11	schwarz fleckige	E ¹	++	+	—			Extrakt aus der farbigen Haut.
		E ²	—	—	—		= enthält I	Extrakt aus den weissen Teilen.

I^E = Extrakt aus der Haut.

+ = positive Reaktion mit Niederschlag.

— = negative Reaktion ohne Niederschlag.

BESPRECHUNG.

Den Inhibitor-faktor hat *Bateson* (1913) in die Vererbungslehre eingeführt. Die Annahme dieses Faktors ist nötig gewesen um seine „Presence-Absence“-Theorie mit neueren Ergebnissen der Genetik in Einklang zu bringen. *Bateson* sagt nämlich, dass „evidently simpler to imagine that the dominant character is due to the presence of something which in the case of recessive is absent“. Sein Gedanke wurde von *Punnett* weiter ausgebaut. Im Sinne der „Presence-Absence“-Theorie verdankt das Dominant zweier antagonistischer Merkmale einem Faktor seine Dominanz, der im recessiven fehlen soll. *Bateson* und *Punnett* bezeichnen die Gegenwart der gegebenen Faktoren mit grossen und ihr Fehlen mit kleinen Buchstaben. Die Schwierigkeiten der Deutung der verschiedenen auftretenden Vererbungen bei einer und derselben Tier- und Pflanzenart versucht diese Theorie durch die quantitative Zerstückelung des Faktors und Einführung von sog. Inhibitor-Faktoren zu beseitigen. Das Formenreichtum bei dem holländischen Kaninchen könnte so erklärt werden, dass entweder die Menge des Chromogens oder die des Oxydasefermentes abnahm. Wenn z. B. das Chromogen vollständig verschwindet, so erscheint eine farblose bzw. ganz weisse Form, d. h. die weisse Farbe kommt durch den Verlust der die entsprechende bunte Farbe bewirkenden Faktoren zustande. Die Einführung des Inhibitor-Faktors würde die Erklärung der Erfahrung geben, dass die weisse Farbe bald die dominante bald die recessive Rolle übernimmt. Unsere obigen Resultate wurden bereits mit Berücksichtigung dieser Theorie erklärt. Mit Hilfe der „Presence-Absence“-Theorie sind wir in der Lage die Grundkonstitution der vererblichen Farben folgenderweise zu veranschaulichen.

Die genetische Konstitution des farbigen, z. B. schwarzen Kaninchens wäre: $AABBi$, oder $AaBBi$ eventuell $AaBbi$. Mit „ A “ wird die Gegenwart des farbigen Chromogens bezeichnet, mit „ a “ das Fehlen desselben; „ B “ dient zur Bezeichnung der Oxydase, d. h. zur Bezeichnung der Gegenwart des anderen wichtigen Faktors der Pigmentbildung, „ b “ bedeutet seine Abwesenheit. „ i “ soll das Fehlen der Gesamtwirkung von A und B hemmenden Inhibitors ausdrücken. Wir müssen selbstverständlich erwähnen, dass die gegebene Formel nur zur Veranschaulichung der allgemeinen Konstitution dient, da in Wirklichkeit noch viele andere Faktoren dazukommen können, z. B. Faktoren, die der Farbe eine tiefere Nuance verleihen oder solche, die die Flecken lokalisieren. (S. Tabelle. No. 2.)

Die Zusammensetzung der albino-weissen Farbe wäre: $aabbii$, $Aabbii$, $aABBi$ oder $Aabbii$, $aABbi$; d. h. es fehlt einer oder beide der pigmentbildenden Faktoren. Die Keimzellen von Individuen dieser Konstitution enthalten die Faktoren: abi , Abi , aBi . Wenn sich abi Gameten kreuzen, so erhalten wir nur albino Nachkommen, falls aber Abi Gameten mit aBi befruchtet werden, erscheinen unter den Nachkommen auch farbige, da die beiden Farbfaktoren A und B bei dem Individuum $AaBbi$ wieder zusammentreffen. Dieses letztere Resultat deutet dahin, dass kein Grund vorliegt im Albino die Gegenwart des Inhibitor-Faktors vor auszusetzen. Dies lässt sich auch experimentell beweisen indem man durch Zufügen von schwarzem Hautextrakt die pigmentbildenden Faktoren A und B mitwirken lässt. Die Folge ist, dass ein Farbstoff entsteht, was nicht gesche-

henwäre, wenn der Albinoextrakt auch Inhibitor enthalten hätte. (S. Tabelle No. 5.)

Die genetische Konstitution der dominant vererblichen weissen Farbe war $AABBII$, $AaBbII$, oder $AaBbIi$. Wir bemerken, dass, wie die Kreuzungen zeigen, der Faktor I bei den drei ersten Formen nicht nur als Homozygot, sondern auch als Heterozygot auftreten kann. Wenn wir ein Kaninchen mit dem Faktor I (der Inhibitor bezeichnen soll) mit einem schwarzen Tier kreuzen, so ist die Konstitution des entstandenen Bastards: $(ABI \times ABi) : AABBi$, d. h. der Phänotyp von F_1 wird die weisse Farbe sein. Auch die chemische Analyse zeigte, dass der Extrakt der dominant weissen Haut mit dem Extrakt der schwarzen Haut keinen Niederschlag ergab. (S. Tabelle. No. 4.)

Die im Laufe der Versuche von *Punnett* entstandenen D- oder dominant schwarzen Tiere zeigten folgende genetische Konstitution: $AABBiI'I'$, wo I' der Inhibitor von I , oder $A'A'BBii$ eventuell $AAB'B'ii$, wo die Faktoren A und B sich quantitative veränderten. Es steht fest, dass die aus der Kreuzung mit weissen erhaltenen Bastarde in der Nachkommenschaft F_1 schwarz sein werden, trotzdem I in ihnen vorhanden ist. Die chemische Eigenschaft, welche der D-schwarze Hautextrakt zeigte, beweist, dass I ausser Wirkung gesetzt wurde und zwar entweder durch einen Inhibitor I' oder durch die quantitative Veränderung der Faktoren A bzw. B . (S. Tabelle. No. 3.)

Die „Presence-Absence“-Theorie erklärt durch Annahme des Inhibitors den Faktor die Farben-vererbungs-Erscheinungen. *Bateson* selbst sieht jedoch in dieser Theorie nichts anderes als ein Hilfsmittel, welches uns in den komplizierten erscheinenden Fällen den Weg weist. Und es scheint wahrscheinlich auch zu sein, dass wir unsere chemischen Resultate mit Hilfe dieser Theorie einfach verständlich erklären können. Es gibt jedoch Fälle, wo die „Presence-Absence“-Theorie nicht anwendbar ist. Es ist sogar möglich die mit dieser Theorie erklärten Tatsachen auch mit der Faktor-Hypothese von *Morgan* hinreichend zu erklären. *Morgan* (1923) macht darauf aufmerksam, dass es ratsam ist das richtige Verhältnis zwischen den Faktoren und den anknüpfenden Merkmalen zu Augen zu halten. Es gibt Faktoren, die sich auf ein und dasselbe Merkmal beziehen und um dies hervorzurufen unbedingt nötig sind. Bei *Drosophila melanogaster* ist die Anzahl der die normalen langen Flügel hervorufenden Faktoren mindestens 12, es sind nämlich so viel Flügelmutationen bekannt. Jeder Faktor ruft eine spezifische Wirkung hervor und der normale Flügel entsteht durch die Gesamtwirkung der normalen Allele von sämtlichen 12 Faktoren. Ein anderer wichtiger Standpunkt der Faktor-Hypothese ist es, dass manche Faktoren nicht bloss ein Merkmal betreffen, sondern eine ganze Reihenfolge von Faktoren betreffen, so z. B. bei *Drosophila* der *club*-Faktor. Dessen Wirkung ist an den Flügeln, Borsten, Kopf, Augen, Thorax und Abdomen wahrzunehmen. *De Vries* nimmt in seiner Definition über Mutation demzufolge an, dass die Aenderung des Einheits-Faktors (*unit-factor*) den ganzen Organismus beeinflusst. Im Sinne der Faktor-Hypothese repräsentiert das Einheits-Merkmal (*unit-character*) bloss eine der mannigfachen Wirkungen, welche durch den Einheits-Faktor hervorgerufen werden können.

Die Hypothese von *Morgan* erklärt die Entstehung der Albino-Farbe nicht, nur die quantitative Abnahme dieses Faktors oder dieser Faktoren, sondern sie nimmt einfach an, dass hier in einem von den übrigen Farb-Faktoren wahrscheinlich unabhängigen Faktor, eine Mutation zustande gekommen ist. Bei dem *Drosophila melanogaster* wäre die weisse Augenfarbe nicht durch das Ausfallen oder Verminderung des die rote Farbe bewirkenden Faktors entstanden, sondern durch die Mutation einer der 25 Faktoren, welche die normale Augenfarbe bewirken.

Die Vererbung der Farben ist auch mit der Faktor-Hypothese genügend erklärlich, und damit die Ergebnisse unserer chemischen Analysen begründbar. Wir brauchen nicht anzunehmen, dass die albino- oder recessive weisse Farbe durch den Ausfall von einem oder beiden pigmentbewirkenden Faktoren zustande gekommen ist. Die Auffassung, dass sämtliche recessive Merkmale den Mangel des Faktors des entsprechenden dominanten Merkmals darstellen würden, kann heute bedingungslos schon nicht mehr behauptet werden. Wir können ebendeshalb annehmen, dass bei Entstehung der Albinofarbe nicht ein Mangel den wesentlichen Grund darstellt, sondern dass dieser in irgend einer grundlegenden Mutation zustande gekommen ist, welche in einem oder vielleicht in sämtlichen Farben-Faktoren sich in seiner biologischen und biochemischen Zusammensetzung umgestaltet, und wir ihn deshalb gar nicht mehr mit „a“ sondern mit „C“ bezeichnen müssten. Die Erscheinung der Albinoeigenschaften wäre dann eigentlich durch C hervorgerufen. Aus solcher Albino-Haut hergestellte Extrakte geben natürlich nur negative Dopa-Reaktion, nachdem ja der eine Farben-Faktor eine grundlegende Umgestaltung erlitt. Wenn wir aber Albinoformen kreuzen, wo in der einen ausschliesslich Faktor A, in der anderen dagegen nur B mutierte, so haben wir bereits die Möglichkeit die Entstehung der aus dieser Kreuzung resultierenden bunten Formen zu erklären zu können.

Zur Erklärung des Verhaltens der dominant-weissen Farbe bei der Vererbung ist es unnötig ausser den Faktoren A und B auch noch die Gegenwart des Faktors I anzunehmen. Die Resultate unserer Kreuzungen werden durch Voraussetzung der Mutation des Faktors B erläutert. Diese Mutation ist selbstverständlich eine andere als es bei dem Albino betreffs des Faktors A der Fall ist. Dieser Hautextrakt aus dominantweiss ergibt mit Dopa eine negative Reaktion, aber nicht deshalb, weil zwischen den farbenbildenden Faktoren A und B ein dritter Faktor mit hemmender Wirkung auftritt, sondern, weil im Faktor B die Mutation eine wesentliche Aenderung hervorruft. Wenn wir diesem Extrakt das Extrakt von normal-schwarzer Haut zusetzen, wird dessen B Faktor nicht imstande sein die Wirkung des von grundauss umgestalteten B Faktors in dem ersteren Extrakte auszugleichen und so kann eine Melaninbildung auch nicht erfolgen. Die Tatsache, dass die Hitze die Wirkung des mutierten B Faktors eliminierte, lässt uns vermuten, dass die Mutation vielleicht ein reversibler chemischer Vorgang sein dürfte.

Das Verhalten der dominanten oder D-schwarzen Farbe in den Kreuzungen weist nicht, dass in der Haut ein Inhibitor-Enzym zugegen sei, welches die

Wirkung des *I* Faktors aufheben soll. Sogar *Punnett* neigt zur Auffassung, in diese oder in :
 in den pigmentbildenden Faktoren eine Aenderung stattgefunden hat, welche
 weisse Farbe hervorrufenden eventuell negativ gerichteten Mutationen bei
 zu prod 3.
 Kreuzung mit dem dominant-weiss kompensieren konnte. Die Annahme
 Hauttext
 zweiten Inhibitors würde die Mechanisierung der Vererbungserscheinungen
 1. erwä

treiben.
 Wie obige Erläuterung beweist, sind sowohl die Erscheinungen der Farb
 zwar so
 vererbung, als auch die Resultate der chemischen Analyse der genetischen
 sommer
 stitution, auch mit *Morgan's* Faktor-Hypothese gut erklärlich. Es ist wohl
 4.
 dass wir mit Einführung des durch die „Presence-Absence“-Theorie erford
 und die
 chen Inhibitor-Faktors unsere Erklärung anschaulicher und leichter verständ
 zu verh
 machen können, einige Erscheinungen verlangen aber die Anwendung der Hy
 5.
 these von *Morgan*.
 der ver

Wir müssen in erster Linie hervorheben, dass unsere chemische An
 chemisc
 nicht für das Vorhandensein eines Inhibitor-Enzyms spricht ; sie zeigt bloss,
 6.
 das Verhältnis der pigmentbildenden Faktoren untereinander nach ihrem chem
 nicht, s
 schen Verhalten verändert ist. Die Verhältnisdifferenzen dürften auch auf
 Aender
 stitutionelle Verschiebung einzelner Faktoren zurückzuführen sein.
 Hypoth

Die Transplantationsversuche, welche *Danforth* (1927) an Hühnern und
 7.
 an Meerschweichen ausführten, beweisen, dass die Haut ein Inhibitor-Enzym
 Extrakt
 enthält. *Danforth* hat Hühnern mit dominant-weißen Federn Hautstückchen
 völlig g
 schwarzgefiederten Hühnern eingesetzt und konstatiert, dass diese Hautstü
 chen sodann nach erfolgtem Verwachsen schwarze Feder produzierte. Wenn in
 1
 Haut ein Inhibitor zugegen gewesen wäre, hätte derselbe durch den Blutkreis
 2
 seine Wirkung unbegingt zur Geltung bringen können. Die Haut der schwar
 3
 Meerschweichen blieb in der dominant-weißen Umgebung gleichfalls schwarz.
 4
 Ich war bestrebt das Vorhandensein eines solchen Enzyms auf dem Wege
 5
 Gewebezüchtung (1930) zu beweisen, konnte jedoch nur negative Erfolge erzi
 6-77.
 Ich züchtete die in dem Bindegewebe des Braunleghorns entstehenden Pigment
 6
 und suchte die Entwicklung dieser durch den Extract von Weissleghorn
 7
 hemmen. Indem bei den Kreuzungen die Pigmentbildung ausblieb, erschien
 8
 den in vitro geführten Versuchen das Pigment in der ganzen Gewebezücht
 9
 10

Diese Ergebnisse beweisen, dass man statt Einführung des Inhibitor-Fakt
 11
 den Grund der chemisch und genetisch nachgewiesenen Unterschiede der Farb
 12
 eher in einer Mutations-Veränderung zu suchen hat die in den farbenbild
 13
 Faktoren vor sich geht.
 14
 15

ZUSAMMENFASSUNG.

1. Die aus den farbigen Hautteilen von Agouti, Agouti-Holland, Reas
 Schwarz und Schokolade-Schwarzen Kaninchen hergestellten Extrakte ergab
 mit Dopa einen Niederschlag, zum Zeichen, dass in ihnen die zur Bildung
 Pigments nötigen Elemente vorhanden sind.

2. Das Extrakt, welches aus dem Albino und den weissen Hautteilen
 Agouti-Holland Kaninchen, hergestellt wurde, ergab keinen farbigen Niederschlag.

DES U

POSIT
HATÁ

THE
DROS

A

KÜLÖNLENYOMAT
A MAGYAR BIOLOGIAI KUTATÓ INTÉZET
II. OSZTÁLYÁNAK MUNKÁIBÓL.

IV. KÖTET. 1931.

SZERKESZTI:

DR. VERZÁR FRIGYES
EGYET. NY. R. TANÁR
A BIOLOGIAI KUTATÓ INTÉZET IGAZGATÓJA.

SONDERABDRUCK AUS DEN

ARBEITEN DER II. ABTEILUNG
DES UNGARISCHEN BIOLOGISCHEN FORSCHUNGSINSTITUTES

IV. BAND. 1931.

REDIGIERT VON:

PROF. DR. FRIEDRICH VERZÁR
DIREKTOR
DES BIOLOGISCHEN FORSCHUNGSINSTITUTES

POSITIO ELTOLÓDÁSOK, DUPLICATIO ÉS „ANALOG“ GÉNEK
HATÁSA A DROSOPHILA MELANOGASTER BAR LOCUSA-ÁBAN.

Írta: DR. KOLLER K. PIUS adjunktus.

THE EFFECT OF 'ANALOGOUS' GENES UPON THE BAR OF
DROSOPHILA MELANOGASTER COMBINED WITH THE POSITION
EFFECT AND DUPLICATION.

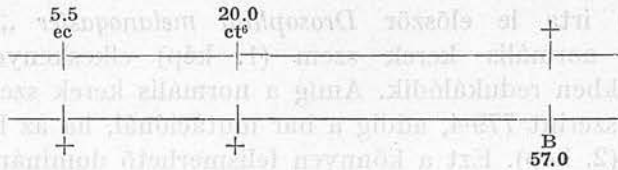
by P. CH. KOLLER PH. D.



TIHANY, 1931.

Amíg a bar bizonyos értelemben a normális alaktól negatív irányban való eltérés, addig az echinus pozitív irányban való elváltozást jelent. Ezt a belyegvittem bele homozygóta bar törzsbe, melyet a módosító faktorok eliminálás végett 9 generáción keresztül „belső tenyésztéssel” szaporítottam. Mivel Kröner (1920, 1924) megfigyelései azt bizonyítják, hogy a hőmérsékleti ingadozások befolyásolják a bar jellegét, azért a temperaturát igyekeztem mindig 25°—26° C-tartani. A kísérletnél használt echinus *Drosophilák* még a *cut*⁶ mutációt is hordozták. A *cut*⁶ (*ct*⁶) recesszív, nemhez kötött jelleg, szárny mutáció. A helye 20 Morgan-egység. A *ct*⁶ bevezetése a crossing over alaposabb megfigyelését teszi lehetővé.

A $\frac{B}{B}$ homozygóta nőstényeket *ec ct*⁶ hímekekkel keresztezve, heterozygóta nőstényeket kaptam, melyeknek genetikus konstitúcióját a következőképpen jelölhetjük :



A heterozygóta bar alakja s facettáinak száma nem változott, noha az *ec ct*⁶ is jelen volt, de ez recesszív lévén, nem tudta befolyásolni a domináns bar jellegét (5. kép). Az $\frac{ec\ ct^6}{++} \frac{+}{B}$ nőstényeket visszakeresztettem bar hímekekkel s az *F*₂-generációban sajátságos a normális megjelenésű bar-tól eltérő alakok léptek fel. A legyek szárnyai *ct*⁶ volt, vagyis a *cut* s bar között crossing over történt, melyben valószínűleg részben az echinus gént tartalmazó chromoszóma rész is szerepelt. A bar hímek facettáinak száma 84·4, de ezeknél a facetták száma 110—115 volt. Jogosan feltehetjük, hogy az echinus gén jelenléte növelte a szem-facetták számát. A szem alakja azonban nem változott.

Az $\frac{ec\ ct^6}{++} \frac{+}{B}$ legyeket párosítottam a crossing over által kapott *ec ct*⁶ hímekekkel. E keresztezésből nyert utódok között homozygóta *ec ct*⁶ *B* forma is volt. Ezeket alaposabb vizsgálattal jól meg lehetett különböztetni a csak *cut*⁶ és *B* jellegben homozygóta alakoktól. Az előbbieknél a facetták száma nem a jellemző 68·1 volt, hanem 84—95 között ingadozott s a szem alakja is megváltozott kissé (6. rajz). Utólagosan végzett keresztezések kimutatták, hogy ezek a nőstény *Drosophilák* csakugyan hordozták az *ec ct*⁶ s *B* géneket mindkét homológ chromoszómájukban.

Az $\frac{ec}{ec} \frac{+}{B}$ *Drosophiláknál* a szem nagysága s alakja megváltozott. (Lásd a 6. rajzot.) A facetták száma 400—410 volt, eltért a heterozygóta bar 358·1 facetták számától.

2. A második mutáció, mely a szem nagyságát s alakját módosítja a 2. chromoszóma 72·0 Morgan-egységénél lokalizált *lobe*² volt. Jele *L*², domináns jellegű homozygóta állapotban teljes szem-nélküliséget okozhat (8—9. rajz). Rendkívül hatékony a *curly*-vel, egy másik szintén domináns, homozygóta állapotban azonban letartózkodó hatású génnel kombinálva használjuk. A *curly* (jele : *Cy*, helye II. Chromoszóma 45—48) a jellegzetes erősen felfelé görbülő szárny mutációt okozza. Mivel homozygóta szem

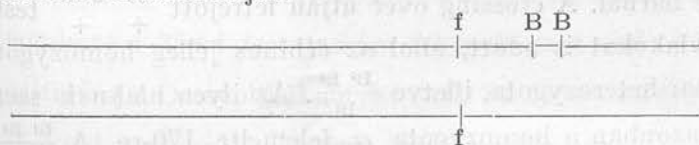
gótának letalis hatása van, ezért alkalmas arra, hogy kiegyensúlyozó faktor gyanánt használhassuk.

A $\frac{L^2}{Cy}$ Drosophilákat bar alakokkal s az F_1 utódokat egymással keresztezve, a második nemzedékben sajátságos szem alakot s facetta számot mutató formák jelentek meg. Ezek utólagos keresztezési kísérletek alapján részben homozygota bar s lobe-nak, vagy homozygota bar s heterozygota lobe-nak bizonyultak. A szem alakja nagy variációt mutatott, a legjellegzetesebb formákat a 10., 11. kép szemlélteti. Homozygota bar s lobe kombinációban a facetták száma 18—24 volt.

3. A III. chromosoma baloldali végén lokalizált *roughoid* mutáció génje volt a harmadik analóg gén, amit barral kombinációba hoztam. A *roughoid* (jele: *ru*) recesszív bélyeg; a szem keskenyebb, kevesebb a facetták száma, mint a normálisnál s a szem felülete durva. Hasonló módon, mint a *lobe*² és bar keresztezéseknél, homozygota bar s *roughoid* formákat kaptam az F_2 -ben. Ezeknél a típusoknál a facetták száma 60·0 volt. A *ru* csökkentette a facetták számát. A variáció nem volt nagy; a szám rendszeren 57—65 között ingadozott. Az ilyen facetta számú legyek utólagos keresztezéssel mindig *ru*-nak is bizonyultak.

Összegezve eddigi megfigyeléseinket, azt látjuk, hogy az *ec* felemelte, a L^2 és *ru* csökkentette a facetták számát.

A 37/b jelzésű kultúrában *Sturtevant* double-bar mutációjára hasonlító szemformák jelentek meg. Valószínűnek látszott, hogy itt egyenlőtlen crossing over történt. A törzs homozygota bar s *forked* volt. Ez utóbbi bélyeg génje csak 40·2 egységnyi távolságban van *Sturtevant* szerint a bar-tól. Jele: *f* s jellemzi a hímek villaszerű deformálódása. A 'keskenyebb' szemű legyek egyúttal a *forked* jellegét is mutatják, vagyis a recesszív *f* mindkét homológ chromosomában jelen volt. Az *fB* hímekekkel való keresztezés azonban olyan hím utódokat adott, ahogyan csak a *forked*, vagy csak a nagyon is keskeny bar mutáció jelent meg. Ez az eredmény kétségen felül eldöntötte, hogy itt egyenlőtlen crossing over történt s a két bar gén egymás mellé került. Az alábbi rajz mutatja a fentebb említett állományok genetikus konstitúcióját.



Az ilyen összetételű Drosophilákból sikerült a következő formákat kombinálni:

$$\frac{BB}{++}, \frac{BB}{B}, \frac{BB}{BB}$$

4. A double-bar Drosophilákat *ec ct*³ hímekekkel kereszteztem s az F_1 nőstényeket visszapárosítottam *ec ct*⁶ B; illetve *ec ct*⁶ hímekekkel. Ilyen módon kaptam $\frac{ec ct}{ec ct} \frac{+++}{f B B}$ és $\frac{ec ct}{ec ct} \frac{+ B}{f B B}$ összetételű Drosophilákat.

A $\frac{BB}{+++}$ -nál a facetták száma: 45-ről felemelkedett 52-re, a $\frac{BB}{B}$ -nál 35-ről 40-re, a $\frac{BB}{BB}$ -nél változás nem volt észlelhető.

5. A *Lobe*² és a double bar kombinációk a szem alakját és a facettáknak a számát erősen befolyásolták. Nagyon gyakran csak néhány facetta maradt meg a szem helyzete is nagyon eltolódott a fej oldalának felső részére.

6. A *ru* és *double bar* csoportosítás nem a facetták számát, mint inkább alakját változtatta meg (12. kép). A nagyszámú leolvasás mutatta, hogy a facetták száma 45·4-ről 40—41-re csökkent; a $\frac{B B}{B}$ -nál 36·4-ről 33-ra a $\frac{B B}{B B}$ -nál nem volt változás.

Hasonló kombinációkat hoztam össze a *bar* allelomorph *infra-bar* (*B*) mutációjával is. Az *infra-bar* crossing over értékei azonosak a *bar* értékeivel. Ennek megjelenik az egyenlőtlen crossing over jelenség épügy, mint a *bar*-nál. A homozygota *Drosophilák* szemfacettáinak a száma *Sturtevant* szerint a homozygotáknál: 320, heterozygotáknál: 716. A *Bⁱ* alakja kissé hasonlít a heterozygota barra, bár ez utóbbi facettáinak száma sokkal kevesebb. (4. kép.)

1. *Echinus* és *infra-bar* kombinációban az *ec* előidézte a facetták számának a növekedését. A $\frac{B^i}{+}$ -nál a szem egészen normális nagy lett. Alakja is megegyezik a rendes kerek szemalakkal. Első látszatra úgy tűnt fel, hogy itt a normális alakhoz visszamenő *reversio* jelenséggel állunk szemben, azonban az utólagos keresztezés kimutatta az *infra-bar* gén jelenlétét az egyik X chromosomában. Ebből a joggal következtethetjük, hogy a változást csakis a keresztezés alkalmával bevezetett *ec* gén okozta. A homozygota *infra-bar*: $\frac{B^i}{+}$ -nál az eltolódás 30—40 között volt. A szemeknek az alakja megmaradt.

2. A *lobe²* jelleg az *infra-bar* mutáció-nál igen nagy variációt okozott a facetták számában s alakjában. Nagyon változatos formák léptek fel úgy, hogy hasonló alakok megjelenése szinte ritka volt.

3. A *ru* gén is éreztette hatását a *Bⁱ* legyek facetta számára, a heterozygota alaknál 716-ről 640—650-re s a homozygotánál 320-ról 280—290-re csökkentette a szem formájában azonban nem történt változás.

A *double infra-bar* (l. 13. kép) az említett mutációkkal csoportosítva, többnyire kevésbé hasonló elváltozáson ment keresztül, mint ezt a *double bar*-nál tapasztaltuk.

4. Az *echinus* karakter ugyanolyan mértékű facetta szám eltolódást okozott, mint a *double bar*-nál. A crossing over útján létrejött $\frac{ec}{+} \frac{B^i B^i}{+}$ testvérek keresztezése olyan alakokat is adott, ahol az *echinus* jelleg homozygota volt, míg a *double infra-bar* heterozygota, illetve $\frac{B^i B^i}{B^i}$. Az ilyen alaknak szeme 140 facettából áll, ezt azonban a homozygota *ec* felemelte 170-re. A $\frac{B^i B^i}{B^i B^i}$ s *ec* kombináció-nál a gyarapodás 12 facetta volt, 38·2-ről 50-re emelkedett. Az *ec BB* *Drosophilák* *echinus* hímekkel való keresztezéséből $\frac{ec}{ec} \frac{B^i B^i}{+ +}$ legyeket is kaptunk. Ezek az alakoknál inkább csak a szem formája változott, a facetták száma 200-ra emelkedett (14. kép).

2. A *lobe²* és *double infra-bar* nagy variációt okozott a szem alakjában a szem nagyságában is. Voltak alakok teljesen szemnélkül. Voltak olyanok, amelyeknél csak a *lobe²*-ra emlékeztető köralakú, de nagyon kevés facettából a szem maradt meg. Míg a $\frac{B^i B^i}{+ +}$ -nál a fentebbi elváltozás volt észlelhető, a $\frac{B^i B^i}{B^i}$ -nél inkább csak a szem helyzete tolodott el, deformálta sokszor az

struktúráját s a fej oldalsó tájékát. A facetták száma nagyon kevéssel csökkent. Az elég nagyszámú leolvasás mindössze 10—15 maximális eltolódást mutatott fel (15. kép).

3. A *ru* génnek s az infra-bar kettőzött génjének kombinációja szintén a facetta csökkenést idézett elő. A homozygota roughoid s a $\frac{B^i B^i}{+ +}$ formáknál 400-ról 184-re; a $\frac{B^i B^i}{B^i}$ Drosophiláknál 140-ről 135-re csökkent míg a $\frac{B^i B^i}{B^i B^i}$ -nél a redukció nem volt megfigyelhető.

Ha összehasonlítjuk a bar s az infra-bar egyszerű, illetve kettős kombinációinak facetta számait; tekintetbe véve a velük kapcsolatos echinus, lobe² roughoid mutációkat, érdekes megállapítást tehetünk. *Sturtevant* szerint a facetta számok a következők:

$$\frac{B}{+} : 358.4, \quad \frac{B}{B} : 68.1, \quad \frac{B B}{+ +} : 45.4, \quad \frac{B B}{B} : 36.4, \quad \frac{B B}{B B} : 25.0$$

Az infra-bar allelomorphnak kombinációinál a facetta szám:

$$\frac{B^i}{+} : 716.4, \quad \frac{B^i}{B^i} : 320.4, \quad \frac{B^i B^i}{+ +} : 200.2, \quad \frac{B^i B^i}{B^i} : 38.3, \quad \frac{B^i B^i}{B^i B^i} : 27.9$$

Ezek az adatok azt mutatják, hogy itt a bar gének bizonyos helyzeti, azaz *positio* hatását is tekintetbe kell vennünk. A fentebbi Drosophiláknál a szem facetta számait illetőleg nagy eltérést találunk, amit semmiesetre sem az illető gének számbeli, hanem azok helyzeti változása okozott. Így a $\frac{B}{B}$ -nél 68.1, a $\frac{B B}{+ +}$ -nél 45.4; mind a két esetben csak két bar gén van jelen, azonban a második Drosophilában a két gén a homológ chromosomának egyikében egymás mellett helyezkedik.

A kísérleteinkben használt mutációknak a bar s allelomorph-jára gyakorolt hatása amellett bizonyít, hogy a *Sturtevant*-tól feltételezett *positio* változás okozza a differenciákat. Ha összehasonlítjuk a megfigyelt kombinációkat, azonnal kiemelkedik, hogy a double-typusok aránylagosan kisebb mértékben módosultak az analóg gének hatására, mint a normális géncsoportosítás formái.

$\frac{ec}{ec}$ és $\frac{ec}{ec}$ alakoknál a 358.4 facettaszám felemelkedett 400—410-re.

$\frac{ec}{ec}$ s $\frac{ec}{ec}$ konstitúció-jú Drosophiláknál 68.1-ről 84—95-re változott.

$\frac{ec}{+ +}$ és $\frac{ec}{ec}$ alakoknál a szám 45-ről csak 52-re emelkedett.

Drosophiláknál a $\frac{ec}{ec}$ s $\frac{ec}{ec}$ legyeknél az eltolódás még kisebb volt: 35-ről 39—40-re csökkent a facettaszám.

ma 200-ról $\frac{ec}{B}$ s $\frac{ec}{ec}$ Drosophiláknál változás nem volt észlelhető.

Az infra-bar s echinus mutációk csoportosítása hasonló jelenséget mutat. Az $\frac{B^i}{+}$ s $\frac{ec}{ec}$ Drosophiláknak facetta száma 716.4-ről a normális kerek szem 779.4-ára emelkedett.

hető, $\frac{B^i}{B^i}$ s $\frac{ec}{ec}$ kombinációnál 320.4-ről 350—360-ra emelkedett.

or az $\frac{B^i B^i}{+ +}$ s $\frac{ec}{ec}$ alakoknál a facettaszám 200.2-ről 220-ra változott.

A $\frac{Bi\ Bi}{B}$ és $\frac{ec}{ec}$ legyeknél 140-ről 170-re emelkedett.

A $\frac{Bi\ Bi}{Bi\ Bi}$ s $\frac{ec}{ec}$ homozygota alakok facetta száma 38·2-ről 50-re emelkedett.

Az echinus gén a bar s infra-bar mutációra pozitív irányban hatott, emellett a facetták számát. A double típusoknál az elváltozás aránya nagyon is függ a bar s az infra-bar gének helyzetétől. Vannak formáink két bar, illetve infra-bar génnel. Egyik típusnál e két gén külön van a homolog apai s anyai eredetű chromosomákban, a másikon azonban az egyenlőtlen crossing over következtében a két gén ugyanabba a homolog chromosomába került. Nem quantitativ csökkenés, illetve gyarapodás történt, hanem csakis helyzetbeli változás. A leolvastott facettaszámok azt bizonyítják, hogy az egymás mellett levő két gén sokkal erősebb volt analóg gének módosító hatásának, mintha normális helyzetben maradt volna.

A Lobe² s bar, továbbá infra-bar kombinációkat quantitativ összehasonlításra nem tudjuk felhasználni, mert nagy variációs különbségek lépnek fel, ugyan a Lobe² olyan bélyeg, amely maga is elég erősen variál.

Annál inkább alkalmas quantitativ összehasonlításra a ruohoid character mely negatív irányba változtatja meg a facetta számokat.

A homozygota-bar s homozygota ruohoid legyeknél a 68·1-es facettaszám 60·0 csökkent. A heterozygota bar s homozygota ruohoidnál a facetta veszteség 57—65 között ingadozott.

A double bar formák $\frac{B\ B}{+ +}$ típusai s a homozygota ru Drosophiláknál a facettaszám 45·4-ről 40—41-re csökkent. A $\frac{B\ B}{B\ B}$ s $\frac{ru}{ru}$ kombinációnál nem volt semmi változás a facetták számában.

Az infra-bar s ru mutáció egyszerű s double alakjainak csoportosítása mutatja, hogy ez utóbbi formák, vagy egyáltalában nem, vagy legalább is kisebb mértékben változtak meg a ru gén hatására, mint az egyszeri infra-bar típusok. Homozygota egyszerű infra-bar s ruohoid szem facetta száma 280—290 volt az eredeti 320-ból 30—40 facettát veszített. A double infra-bar s homozygota Drosophiláknál 200-ről 184-re csökkent, a veszteség csak 16 facetta volt.

Az I. és II. táblázat részben a bar s az infra-bar gének minden lehetséges kombinációjának facetta számát mutatja, ahogyan ezt Sturtevant megállapította részben pedig a fentebbi kísérleteink eredményeit szemlélteti.

Már Zeleny (1921) rámutatott arra, hogy a szem facettáinak számát meghatározó factorok okozzák. Ezeket a factorokat azonban módosíthatják más gének is, úgy hogy végső eredményben egy factor komplexum egységesített hatása van meg a facettaszámot. A több generáción keresztül belső tenyésztéssel homogén lett törzsekkel végzett kísérleteknél Zeleny feltételezett módosító faktorait ki lehet szöbölhetjük. Kísérleteinkben használt Drosophila kultúrák ilyen „homogén” törzsek voltak, éppen ezért eredményeinket nem lehet a módosító factorok kivételével magyaráznunk.

Érdekesebb Hersch (1919, 1927) megfigyelése, aki kimutatta, hogy egyes chromosoma sectióknak negatív vagy pozitív irányban hatásuk van a bar mutáció facetta számára. A minusz és plusz módosulások összegeződhetnek is. Ez az

az X chromosoma echinus s cut⁶ sectiójával. Az echinus növeli a facetta számokat, amit a mi kísérletünk is megerősített, a cut⁶ sectió pedig negatív irányban változtatja a facetták számát. *Hersch* eredménye fontos abból a szempontból, hogy a facetták száma a bar mutációnál befolyásolható s mi ezt a jelenséget használtuk fel a „positio“ hatás bizonyítására.

A kísérletek kimutatták, hogy a „positio“ változás differenciákat hoz létre az egynemű, vagy helyesebben az egy irányba történő facettaszám eltolódásában. Csakis a gének helyzetében történt változással tudjuk megfelelően okát adni fentebb kapott eredményeinknek, melyek ilymódon a *Sturtevant*-tól feltételezett „positio effect“ létezése mellett bizonyítanak.

II. EGYENLŐTLEN CROSSING OVER ÉS REVERSIO.

A 37/b kulturában jelentek meg a double-bar *Drosophilák*. A törzs homozygota bar s forked volt. A double bar legyek egyenlőtlen crossing over által keletkeztek és a kulturában feltűnő kerek szemű hímek megjelenése hívta fel erre a rendellenes fellépett crossing overre a figyelmet. A hímek a forked mutációt hordozták, de nem mutatták a bar bélyeget. Az ilyen hímek X chromosomája természetesen nélkülözi is ezt a gént, melyet a szülőinek mindegyike kétségen felül hordozott. *Sturtevant* s *Morgan* szerint a bar gén „elveszett“ az egyik X chromosomából s a másikba jutott bele. Az előbbi chromosomát tartalmazó hímek a kerek szeműek.

Az ilyen módon létrejött kerek szemű alakok azonban különböznek a normális „kerek szeműektől“. Amazokat reversio-s alakoknak hívjuk, s az őket létrehozó folyamatot *reversio*-nak nevezzük. Ez valószínűen bizonyos mértékű *deficiencia*, azaz a chromosoma megfelelő részének az elvesztése, mely darabka kétségen felül tartalmazta a bar gént is. Ennek a sectiónak nagyon kicsikének kell lenni, mert nem hat letálasan s odatapadt a másik homolog chromosomához. Míg tehát a normális kerek szeműeknél a bar megfelelő normális allelomorphja okozza a kerek alakot, addig a reversio-s alakoknál a bar gén helyén keletkezett „hiány“ váltja ezt ki. Tehát keletkezésüket tekintve mélyreható alapos különbséget kell feltételeznünk.

Annak ellenére, hogy belső különbség van a normális és a reversio-s formák között, ennek a kimutatása nagy nehézségbe ütközik s kísérleteink nem bizonyítják, hogy az egyenlőtlen crossing overen kívül a belső eltérésnek látható más különbség megnyilatkozása is volna. A szem facettáinak a száma és a szem alakja semmi különbséget sem tüntet fel. *Sturtevant* szerint sincs eltérés a normális és a reversio-s kerek szem között.

Abból a sejtésből indulva ki, hogy a reversio-s legyek X chromosomája a bar deficiencia miatt megrövidült s a double bar jelenléte miatt a forked s a bar gén közötti távolság csökkent ; a reversio-s és egyenlőtlen crossing over mutató legyeknél crossing over reduciónak kell jelentkezni.

A 37/b kultura homozygota *fB* legyeknél a forked s bar gén közötti crossing over érték 0.3 volt. Az eddigi adataink szerint a következő értékeket kaptam :

	crossing overes legyek	vizsgált legyek száma	%
Morgan s Bridges 1916.	8	1706	0.5
Bridges, 1917.	5	980	0.5
Sturtevant, 1925.	82	34,369	0.2
Koller, 1931	3	792	0.3

Az egyenlőtlen crossing overtól előidézett reversio-s chromosoma között a következő crossing over értékeket kaptam :

crossing overes legyek	vizsgált legyek száma	%
2	652	0.3
4	1266	0.3
2	853	0.2

A fentebbi eredmények mutatják, hogy a reversio-s chromosoma s normális chromosoma között, a forked s bar távolságban az egyenlőtlen crossing over nem okozott észlelhető kvantitatív eltolódást. *Valószínű az elveszett chromosoma darabjai csak magára a bar génre van korlátozva s ez észrevehető módon nem okoz egyéb elváltozást a crossing over jelenségekben.* Bridges (1917—19) s Mohr (1923) kimutatták, hogy a crossing over értékben nem történik változás, ha a heterozygóta nőstényekben a deficiencia, chromosomahiány, nem okoz letalis hatást.

A reversio tulajdonképpen feltételezi a bar normális allelomorphjának távollétét. Azt hinnők, hogy ennek következtében épen az ellenkező fog történt a reversios alakoknál, mint történt a bar gént tartalmazó legyeknél. A bar recesszív alakja a facetták számát, következőleg a reversio-s typusnál a szám emelkedni fog. Ez a várt gyarapodás azonban nem következett be. Ami kis változást tapasztaltunk Sturtevant, az részben a ki nem küszöbölt módosító factorok, részben a környezeti behatásának tulajdonítható, amint ezt ő maga is elismeri.

III. „TRIPLE BAR“ ÉS POSITIOHATÁS.

A keresztezések folyamán a forked s bar legyek között feltűnt néhány, melynek sertéi normálisak voltak, de a szem alakja s nagysága sajátos módon elütött az ismert typusoktól. (16. ábra.). A kultúra úgy keletkezett, hogy az *fB* nőstények s bar hímek keresztezéséből származott heterozygóta forked s homozygóta utódokat forked és bar hímekekkel kereszteztük vissza. A „keskenyszemű“ bar legyek forked nélküli nőstények voltak.

Első gondolat az volt, hogy itt egyenlőtlen crossing over történt, s így a legyek $\frac{f B}{+ B}$ konstitúcióval rendelkeznének. A facetták száma a három „keskenyszemű“ nősténynél 49 volt. Amikor ezeket *fB* hímekekkel kereszteztük; ketten közülük csakis *fB* hímekeket és nőstényeket adott, ami bizonyította, hogy az egyik mindkét X chromosomája tartalmazta a forked gént, annak ellenére, hogy az is jelent még láthatóan ez a jelleg. Ez mutatta, hogy a feltételezett konstitúció nem felel meg a valóságnak.

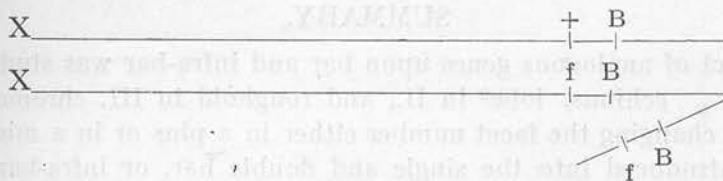
A harmadik nőstény keresztezéséből kapott utódok meglepő jelenséget mutatottak. Összesen kaptunk 87 nőstényt s 56 hímeket. A nőstények közül 81 *fB* volt.

az utóbbiaknál 47 volt fB . 6 nőtény és 9 him azonban nem volt forked, a szem pedig épen olyan volt, mint a fentebb említett „keskenyszemű“ három nőtény szeme. A fecetták száma a nőtényeknél 51 s a hímeknél 39.

A hat „keskenyszemű“ nőtény légy közül négyet kereszteztünk fB Drosophilával s kettőt „keskenyszemű“ fitestvérrel. Az utóbbi keresztezés eredménytelen volt, utódokat nem kaptunk. A négy előbbi keresztezés közül kettő csak fB hímeket s nőtényeket adott, a másik két keresztezés elpusztult.

A keresztezés eredményei azt mutatják, hogy a „keskenyszemű“ bar legyek genetikus konstitúciója más, mint az eddig ismert bar kombinációké. A facettaszám nagyobb, mint a $\frac{B}{B}$ -nál, de kisebb, mint a $\frac{B}{+} \frac{B}{+}$ legyeknél. Azonkívül a forked jelleg, noha homozygóta, de ennek ellenére se jut kifejezésre.

A „keskenyszemű“ legyek összetételét megmagyarázzuk, ha felvesszük, hogy itt *duplicatio* történt. Ebben részt vett az X chromosoma jobboldali része, amely tartalmazta a normális forked allelomorphot s a bar gént. Ilyen módon a nőtényeknek három bar génje volt, ezért „triple bar“-nak nevezzük, azonban a bar gének mind más chromosomában, vagyis nem egymás mellett helyezkedtek el. Ezért a facettaszám a fentebb említett két típus között van. Felvázolhatjuk a triple bar (három bar) legyek X chromosomáját s azonnal érthető lesz ez a látszólagos rendszeres megjelenés.



Ha ezt a feltevést elfogadjuk, akkor egyúttal ismét van egy bizonyítékunk, amely megerősíti a *Sturtevanttól* megállapított positio-s hatást. A három bar gén elhelyezkedése erősebb mértékben redukálja a facetta számot, mint a homolog chromosomában egymás mellett fekvő 2 bar, de viszont kevesebb az ereje, mint a bar s double bar kombináció 3 bar génjénél.

EREDMÉNYEK.

1. Az echinus, $lobe^2$ s a roughoid mutációk módosítják a bar s infra-bar bélyegeket. Az echinus növeli a facetták számát, a $lobe^2$ s a roughoid pedig csökkenti. A $lobe^2$ s bar, illetve infra-bar egyszerű s kettős kombinációi olyan nagyfokú variációt mutatnak, hogy quantitativ összehasonlításra a $lobe^2$ bélyeget ezért nem használhatjuk.

2. Az echinus ném egyformán növeli a bar s infra-bar Drosophilák facettaszámát, ez függ attól, vajjon az utóbbiak mint homozygota vagy heterozygota bélyegek vannak-e jelen, s függ attól, vajjon egyszerű vagy double formákkal kombinálódott-e az echinus? Ugyanezen feltételektől függ, hogy a roughoid milyen mértékben csökkenti a bar s infra-bar facetták számát.

3. A double bar s double infra-bar aránylagosan kisebb fokban módosul, mint az egyszerű típusok. Ez a tény a *Sturtevanttól* feltételezett positio-hatás létezését mellett bizonyítja.

4. A reversio révén kapott kerek szemű *Drosophilák* teljesen hasonlóak normálisakhoz annak ellenére, hogy bizonyos értelemben a bar deficienciájából jöttek létre, vagyis nagy genetikai különbség van közöttük.

5. Bar gént tartalmazó chromosoma rész duplicatioja folytán három bar génnek jelenléte erősebb mértékben befolyásolja a facetta redukciót, mint a $\frac{B}{+} \frac{B}{+}$; de nem úgy, mint a $\frac{B}{B} \frac{B}{B}$, ahol a három bar közül kettő ugyanabban a homolog chromosomában van. A „triple-bar“ viselkedése szintén megerősíti a „positio“ hatás létezését.

(From the Hungarian Biological Research Institute, Department of Physiology, Tihany)

THE EFFECT OF 'ANALOGOUS' GENES UPON THE BAR OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* COMBINED WITH THE POSITION EFFECT AND DUPLICATION.

BY P. CH. KOLLER PH. D.

SUMMARY.

The effect of analogous genes upon bar and infra-bar was studied. The sex-linked recessive echinus, lobe² in II., and roughoid in III. chromosome, affecting the eyeshape, changing the facet number either in a plus or in a minus direction. They were introduced into the single and double bar, or infra-bar *Drosophila*. The following tables I. and II. show the data obtained from the experiments.

RESULTS.

1. Echinus, lobe² and roughoid modified bar and infra-bar. Echinus increased lobe² and roughoid diminished the facet number of bar or infra-bar. Lobe², in connection with single or double types of bar and infra-bar entirely changed the form and shape of the eyes, therefore it was impossible to use the lobe² for quantitative comparison.

2. Homozygous echinus and roughoid do not alter the facet number of bar and infra-bar in the same degree: it depends upon the homo- or heterozygous and single or double condition of bar and infra-bar.

3. Homozygous echinus and roughoid altered the facet number of double bar and infra-bar in a less degree than that of the single types. The observation proves that the „position effect“ suggested by Sturtevant exists at the locus.

4. Reversions were found more often than double types, the latter being probably much less easily detected. The reverted types are not different from single types, in spite of the difference in their origin.

5. „Triple bar“ found its origin in the reduplication of the right end of the X chromosome, which contained the bar gene. Its effect upon the facet number was between double bar over round and double bar over bar.

Table I. Táblázat.

Bar és infra-bar kombinációk facetta számai. — The facet numbers of bar and infra-bar combinations.

		BB	BB ⁱ	B ⁱ B ⁱ	B	B ⁱ	+
Double bar	$\frac{B B}{+ +}$	25.0	24.0	26.7	36.4	41.8	45.4
Bar-infra-bar	$\frac{B^i B}{+ +}$	24.1	26.7	27.9	37.0	37.8	50.5
Double infra-bar	$\frac{B^i B^i}{+ +}$	26.7	27.9	38.2	38.3	138+	200
Bak	$\frac{B}{+}$	36.4	37.6	38.3	68.1	73.5	358.4
Infra-bar	$\frac{B^i}{+}$	41.8	37.8	138+	73.5	320.4	716.4
Normális kerek	$\frac{+}{+}$	45.4	50.5	200.2	358.4	714.4	779.4
Hímek		29.6	29.7	46.6	84.4	478.1	738.6

Table II. Táblázat.

Bar és infra-bar gének kombinációja „analog” génekkel. — The facet numbers of bar and infra-bar combined with analogous genes.

		$\frac{ec}{ec}$	diffe- rency	$\frac{ru}{ru}$	differen- cy	
Heterozygóta bar	$\frac{B}{+}$	358.4	400—410	41.6—51.6	—	—
Homozygóta bar	$\frac{B}{B}$	68.1	84—95	15.9—26.9	60	—8.1
Heterozygóta double bar	$\frac{B B}{+ +}$	45.4	52	6.6	40—41	—5.4
Double bar és bar	$\frac{B B}{B}$	36.4	39—40	2.6—3.6	33	—3.4
Kettős double bar	$\frac{B B}{B B}$	25.0	—	—	—	—
Heterozygóta infra-bar	$\frac{B^i}{+}$	716.4	779.4	63.0	640—50	75.6—65.4
Homozygóta infra-bar	$\frac{B^i}{B^i}$	320.4	350—300	29.6—39.6	280—290	—59.6—69.4
Double infra-bar	$\frac{B^i B^i}{+ +}$	200	220	20	184	—16
Double infra-bar és infra-bar	$\frac{B^i B^i}{B^i}$	138+	170	32	135	—3
Kettős double infra-bar	$\frac{B^i B^i}{B^i B^i}$	38.2	50	11.8	—	—

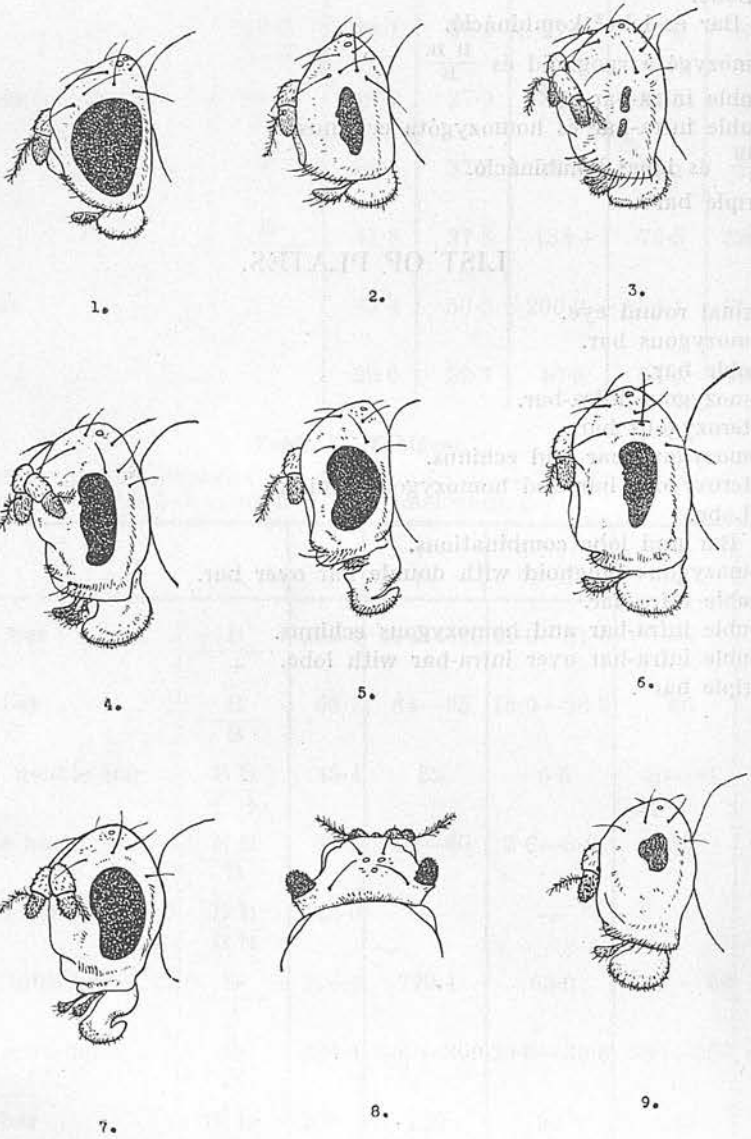
A KÉPEK MAGYARÁZATA.

1. Normális kerek szem.
2. Homozygóta bar.
3. Double bar.
4. Homozygóta infra-bar.
6. Homozygóta bar és echinus.
7. Heterozygóta bar és homozygóta echinus.
8. 9. Lobe.²
10. 11. Bar és lobe² kombináció.
12. Homozygóta ruoghoid és $\frac{B B.}{B}$.
13. Double infra-bar.
14. Double infra-bar és homozygóta echinus.
15. $\frac{Bi Bi}{B}$ és lobe² kombináció.
16. „Triple bar“.

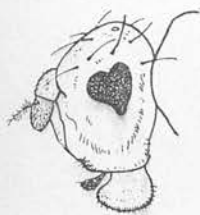
LIST OF PLATES.

1. Normal round eye.
2. Homozygous bar.
3. Double bar.
4. Homozygous infra-bar.
5. Heterozygous bar.
6. Homozygous bar and echinus.
7. Heterozygous bar and homozygous echinus.
8. 9. Lobe.
10. 11. Bar and lobe combinations.
12. Homozygous roughoid with double bar over bar.
13. Double infra-bar.
14. Double infra-bar and homozygous echinus.
15. Double infra-bar over infra-bar with lobe.
16. „Triple bar“.

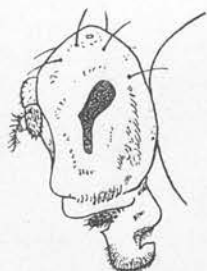
I. tábla. Table I.



II. tábla. Table II.



10.



11.



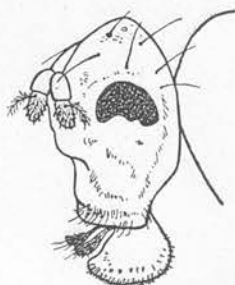
12.



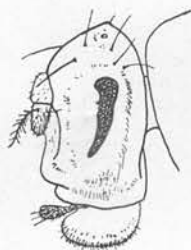
13.



14.



15.



16.

DES

ÜR

GEI

12

KÜLÖNLENYOMAT

**A MAGYAR BIOLOGIAI KUTATÓ INTÉZET
II. OSZTÁLYÁNAK MUNKAIBÓL.**

IV. KÖTET. 1931.

SZERKESZTI:

DR. VERZÁR FRIGYES
EGYET. NY. R. TANÁR
A BIOLOGIAI KUTATÓ INTÉZET IGAZGATÓJA.

SONDERABDRUCK AUS DEN

**ARBEITEN DER II. ABTEILUNG
DES UNGARISCHEN BIOLOGISCHEN FORSCHUNGSINSTITUTES**

IV. BAND. 1931.

REDIGIERT VON:

PROF. DR. FRIEDRICH VERZÁR
DIREKTOR
DES BIOLOGISCHEN FORSCHUNGSINSTITUTES

**ÖRÖKLÉSTANI VIZSGÁLATOK A DROSOPHILA OBSCURA
KÉT RASSZÁN.**

Írta: DR. KOLLER K. PIUS adjunktus.

**GENETIC STUDIES OF THE CROSSES OF TWO RACES OF
DROSOPHILA OBSCURA.**

by P. CH. KOLLER PH. D.



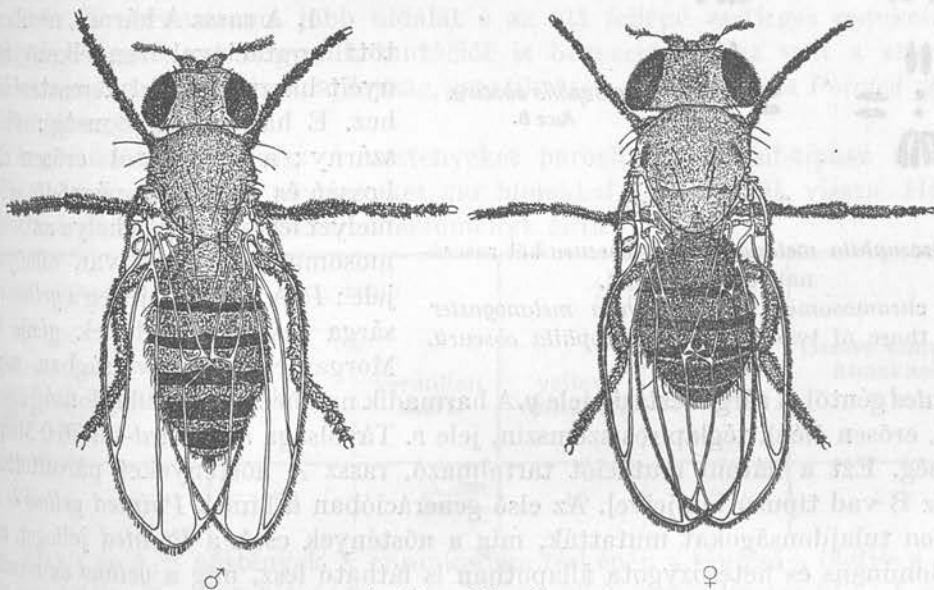
T I H A N Y, 1931

(A Magyar Biológiai Kutató Intézet II. osztályának közleménye.)

ÖRÖKLÉSTANI VIZSGÁLATOK A DROSOPHILA OBSCURA KÉT RASSZÁN.

Írta : DR. KOLLER K. PIUS adjunktus.

A *Drosophila obscura* Fallén (1. ábra) örökléstanával *D. E. Lancefield* foglalkozott részletesen. Ebben a *Drosophila* fajban két rasszt (A és B) talált, amelyeket a szisztematikus nem tud megkülönböztetni egymástól. A két rassz



1. ábra. Fig. 1.

A *Drosophila obscura* Fallén himje és nőténye.
The male and female of *Drosophila. obscura* Fallén.

közötti különbség csak örökléstanai és sejttani (2. ábra). Amíg az A-nak nevezett rassznál az Y chromosoma pálcika alakú, addig a B-nél ennek alakja teljesen hasonló az X chromosomához, azaz v-alakú. *Lancefield* kimutatta, hogy egymással, ha bizonyos nehézséggel is, de lehet keresztezni a két rasszt. A kapott hibridek nőtényei termülisek, himjei azonban terméketlenek. Ugyancsak *Lancefield* hívta fel a figyelmet arra a tényre, hogy az X chromosoma bizonyos génjei közötti crossing over hibridek igen nagy mértékben redukálódnak az A/B hibridek nőtényeiben. Való-

Ezekből a kapott adatokból a következő crossing over értékeket nyertük :

P/y	2·7
P/v	12·7
y/v	10·0

Lancefield a következő adatokat kapta kísérletei folyamán :

P/y	3·0	(2·3)
P/v	12·7	(11·5)
y/v	9·7	(11·4)

Zárójelben jelezzük *Lancefield* legelső adatait, melyeket később javított.

A tiszta rassz A, X chromosoma térképén megállapított távolságokat a következő adatok mutatják :

P/y	62·0
P/v	76·0
v/y	14·0

Látható ebből az, hogy az X chromosoma középső régiója, mely a *yellow* és *vermilion* között van, nem nagyon változott. Azonban igen nagy redukció történt a P és y gének közötti távolságban.

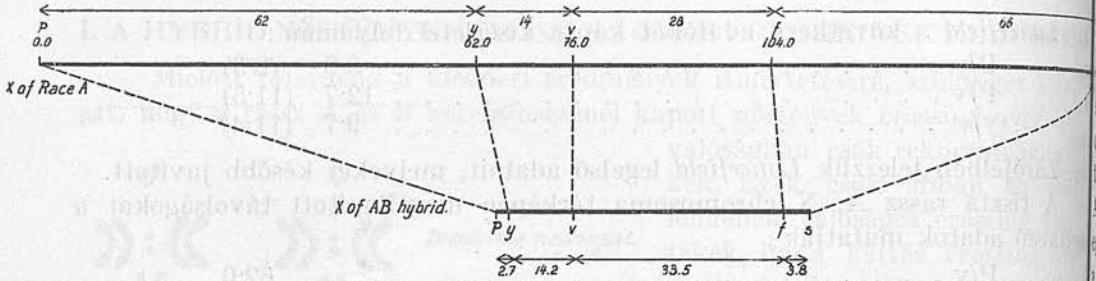
2. Az X chromosoma jobb oldalát s az ott fellépő esetleges redukciónak megfigyelése végett egy negyedik mutációt is bevezettünk, ez volt a *short* : a *Pointed* rövid szárnyvéna. Recesszív tulajdonság, genetikai jele s, távolsága a *Pointed* Morgan-egység.

A *yvs* összetételű rassz A nőstényeket párosítottunk vad-típusú rassz B hímekkel s a kapott A/B nőstényeket *yvs* hímekkel kereszteztük vissza. Háromszor ismételtük meg a kísérletet, az X chromosomán történt párosítás a következő eredményt adta :

Nem crossoveres		1. regio		2. regio		Összes száma a hímeknek
yellow	vad-típus	yellow	vermilion short	yellow vermilion	short	
76	56	52	42	15	21	252

Vagyis az A/B nőstények X chromosoma térképén a távolság, illetve a crossing over érték y és v között 14·2, v és s között 37·3, y és s között 51·5. A y/v és v/s értékekhez hozzáadva 2·7, vagyis a *Pointed* és *yellow* közötti távolságot, megkaptuk a P és s közötti távolságot, mely 54·2 Morgan-egység. *Lancefield* adatai szerint a P/s távolság 48·7, ugyanis nála a crossing over érték v/s-ra vonatkozóan 40·0, y/s-ra vonatkozóan 45·7. Valószínű, hogy a kapott különbségnek oka egyszerűen abban keresendő, hogy *Lancefield* a mi gén-kombinációnktól eltérő csoportosítást használt. *Lancefield* többi adatait is tekintetbe véve, azonnal szembetűnik, hogy a crossing over redukció csakis az X chromosoma jobb végén következett : a *fused* és *short* mutációk génjei között. A *fused* mutációra jellemző, hogy a negyedik szárnyvéna meg van törve ; genetikai jele fu, s a gén 28·0 Morgan-egység távolságra van a *vermilion*-tól.

Az eddig kapott eredményeinket legjobban szemlélteti az alábbi kép, mely Lancefield adatainknak megfelelően módosított térképe az A/B-nőtényező X chromosomájának.



3. ábra. Fig. 3.

Rassz A chromosoma-térképe összehasonlítva az A/B hybrid X chromosomájával.
The chromosome map of a pure race A and of the A/B hybrid.

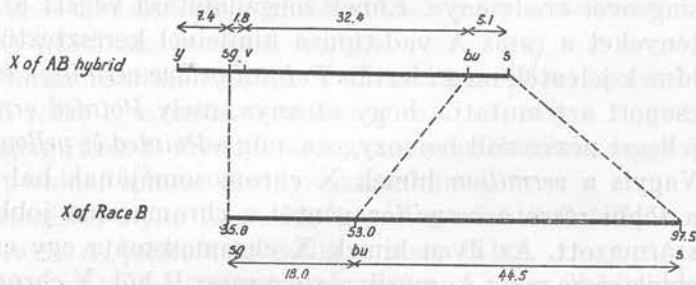
3. A crossing over redukció helyének még pontosabb megjelölése végeztünk két másik nemhez kötötten öröklődő, de rassz B-ben található mutációt vezetettünk be további keresztezéseinkhez. Az egyik a *singed*, recesszív jelleg: a scutellum és thorax szőrei csavarszerűen deformálódtak. Ez a jelleg mind a két rasszban megvan, de rassz A-ban 74.0, a rassz B-ben pedig 35.0 Morgan-egységben állapított meg ennek a génnek a helye. Genetikai jele e tulajdonságnak: *sg*. A másik jelleg a *bubble*, a szárny felülete nem mereven kifeszített, hanem fodrozott. Ez a jelleg recesszív nemhez kötött mutáció, de eddig csak a rassz B-ben találtuk meg, *bu* s távolsága 53.0 Morgan-egység.

Különböző párosítások a következő eredményeket adták:

Regio	A keresztezés	Összes légy	Crossovers légy	Crossover %-ban	Crossover %-ban Lancefield szerint
y/sg	$\frac{Pyv}{sg bu} (A) \text{♀} \times (B) \text{♂}$	432	32	7.4	8.0
sg/bu	$\frac{Pyv}{bu sg} (A) \text{♀} \times (B) \text{♂}$	284	83	34.2	32.6
v/bu	$\frac{Pyv}{sg bu} (A) \text{♀} \times (B) \text{♂}$	432	148	32.4	30.6

A könnyebb összehasonlítás miatt nagyon alkalmas, ha a crossing over értékeket a *singed* mutációval hozzuk relációba. Ezen az alapon a következő chromosoma térképet készíthetjük el (4. ábra).

Világosan látható, hogy a crossing over redukció a *bubble* és *short* gének között vagyis az X chromosoma végén lépett fel, ezzel ellentétben a *singed* és *bubble* közötti távolság megnagyobbodott, a crossing over érték közöttük csökkent.



4. ábra. Fig. 4.

Rassz B chromosoma térképe összehasonlítva az A/B hybrid X chromosomájával.

The chromosome map of a pure race B and of the A/B hybrid.

A genetikai kutatás felidett már több tényezőt, melyek megváltoztatják a crossing over értékeit. Vannak gének, melyek csökkentik a crossing over-t a chromosoma deficienciák pedig nagyon sokszor majeseen kiküszöbölik. — Azonban e két tényező egyike se játszhat szerepet a fenntebb leirt crossing over redukcióban. Ha ilyen gének akadályoznak meg az X chromosoma két vé-

gét a crossing over-t, akkor nemcsak a két rassz hybridjében, hanem az egyes rasszokban is meg kellene találni ezeket a géneket. Hasonlóan ugyanez áll a deficienciára is. Lancefield szerint az egyik rassz X chromosomájának az *inversio*-ja tiltaná ki a crossing over redukciót. Mivel ez utóbbi azonban rendszeres jelenlég gyanánt de mindig megtalálható a hybrid nőstényekben, az *inversio* pedig ellentelenes genetikai jelenség, éppen ezért más okot kell keresni, amivel kielégítően magyarázhatjuk a crossing over redukciót.

II. A HYBRID HÍMEK TERMÉKETLENSÉGÉNEK PROBLÉMÁJA.

Az F_1 nemzedék hybrid hímjei minden esetben terméketlenek. Ha az F_1 nemzedék nőstényeit visszakeresztezzük a két rassz bármelyikének hímjével, akkor az esetben kétféle hímütódokat kapunk: olyanokat, melyek fertilisek s olyanokat, melyek nem termékenyek, hanem hasonlóak az első nemzedék hímjeihez. A fertilitas és sterilitas az *ivarchromosomák* összetételétől függ. Ha a két rassz keresztezéséből kapott nőstények is sterilisek lennének, akkor az *ivarchromosomák*on kívül a többi, vagyis a *somaticus chromosomáknak* is lenne szerepe. Az a tény, hogy csakis a hímek sterilisek, azt bizonyítja, hogy az *ivarchromosomák*ban kell keresni a sterilitas okát.

A nemi chromosomákban levő mutált gének ismerete még azt is lehetővé teszi számunkra, hogy megállapítsuk, melyik chromosoma s ennek is melyik része játszik döntő szerepet a sterilitas, illetve a fertilitas problémájában. Ezért a következő kísérleteket végeztük el, melyekkel az egyes rasszok chromosomáinak sorsát és szerepét követni tudtuk.

1. *Pointed yellow* és *vermilion* rassz A-nőstényeket párosítottunk rassz B hím-típusú hímjeivel s az így kapott F_1 nőstényeket visszakereszteztük a rassz A *Pointed yellow* és *vermilion* hímjeivel. A második nemzedék nőstényei négy csoportba voltak oszthatók: (1) *Pointed*, (2) *Pointed yellow*, (3) *Pointed yellow vermilion*, (4) *Pointed vermilion*. Az első és harmadik csoportba crossoveres és nem crossoveres legyek is tartoznak. A negyedik csoport lehetséges, hogy kettős cros-

sing over eredménye. Ennek megállapítása végett az ilyen *Pointed vermilion* nőstényeket a rassz A vad-típusú hímjeivel kereszteztük. Az utódok között kétféle hímek jelentek meg: fertilis *Pointed yellow vermilion* és sterilis *vermilion*. Ez utóbbi csoport azt mutatja, hogy az anya, mely *Pointed vermilion* volt, csak a *vermilion* jellegre nézve volt homozygota, míg a *Pointed* és *yellow* gének heterozygoták voltak. Vagyis a *vermilion* hímek X chromosomájának bal oldala rassz B eredetű, míg a többi része a *vermilion* géntől a chromosoma jobb oldali végéig a rassz A-ból származott. Az ilyen hímek X chromosomája egy crossoveres chromosoma volt, melynek egyik része rassz A, másik része a rassz B-ből, Y chromosomája pedig a rassz A-ból származott.

2. A *Pointed s yellow* jellegre nézve heterozygota s a *vermilion* tulajdonságban homozygota hybrid nőstényeket vad-típusú rassz B-hímekkel kereszteztük. Az utódok eloszlását a következő tábla mutatja:

Nőstények			Hímek				
összes légy	vad-típus	Pointed	összes légy	Pointed yell. verm. sterilis	vermilion sterilis	Pointed vermilion sterilis	yellow vermilion sterilis
172	97	75	157	95	59	2	1

Az 59 vermilion hím közül 9-nek a testis-e teljesen normális nagy volt, azonban amikor párosítani akartuk hybrid nőstényekkel, steriliseknek bizonyultak. A többi hím testis-e rendellenes kicsiny volt s ezek természetesen terméketlenek is voltak.



5. ábra. Fig. 5.

Az F_3 nemzedék ivarchromosomáinak összetétele.

The sex chromosomes of F_3 generation. (Black rods indicate the chromosomes of race B, the white of race A. The rods with hooks indicate the Y chromosome.)

zású. Ezek a kombinációk azonban mind sterilitást eredményeztek.

3. A fentebbi F_3 nemzedéknek a vad-típusú nőstényeit rassz B ugyanazon vad-típusú hímjeivel kereszteztük. Az utódok nőstényei mind vad-típusúak.

¹ A fehér chromosomák a rassz A, a feketék a rassz B chromosomáit jelzik. A horoggal vannak jelezve az Y chromosomák.

hímek kétfélék: (1) vad-típusúak hasonlóak a nőstényekhez s (2) *vermilionok*, de ött kétféle nagyon kicsike testis-sel. Ez utóbbiak sterilisek voltak.

Bizonyos az, hogy a sterilis *vermilion* hímek Y chromosomája a rassz B-ből származott, az X jobboldali része egészen a *vermilionig* rassz A, míg a *v* géntől a chromosoma bal oldali végéig rassz B eredetű volt. Arra vonatkozóan, hogy itt kettős crossing over történt volna, semmi bizonyítékunk nincs.

4. A következő keresztezéssel olyan X chromosomát igyekeztünk felépíteni, melynek baloldala lenne a rassz A, jobboldala pedig a rassz B-ből.

Yellow vermilion és *short* rassz A-nőstényeket vad-típusú rassz B-hímekkel párosítottunk s az F_1 nőstényeit *yellow vermilion short* rassz A-hímekkel kereszteztük vissza. E nemzedék *yellow vermilion* nőstényeit *yellow vermilion short* rassz A-hímekkel kereszteztük. A párosításból kétféle hímeket kaptunk: (1) *yellow vermilion short* fertilis s (2) *yellow vermilion*, de sterilis hímeket. A kapott kétféle hímek azt mutatják, hogy anyjuk homozygota volt a *yellow* és *vermilion* jellegekben s heterozygota a *short* tulajdonságban. Vagyis az egyik X chromosomájuk baloldala rassz A, jobboldala rassz B eredetű volt. A sterilis *yellow vermilion* hímek X chromosomája az említett crossoveres chromosoma volt.

Ebből a párosításból azt látjuk, hogy a rassz A Y chromosomája s olyan X, melynek bal fele rassz A, jobb fele rassz B eredetű: sterilis hybrid hímeket hoz létre.

5. A következő lépés az volt, hogy kombináljunk olyan X chromosomát, melynek mind a két vége hasonló eredetű, míg a középső tájéka a másik rasszból való, azaz legyen az X chromosoma A-B-A, vagy B-A-B felépítésű.

A fentebb említett F_2 nemzedék *yellow vermilion* nőstényeit vad-típusú rassz B-hímekkel párosítottuk. A megkísérelt 21 párosításból kettő adott utódokat:

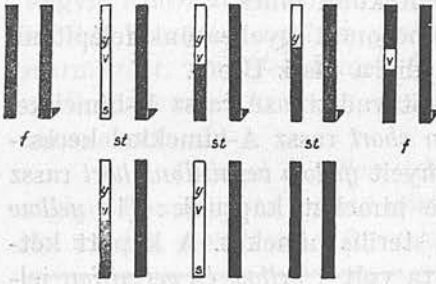
Nőstények	Hímek	
	yellow-vermilion	vermilion-short
vad-típus		
168	84	76

A kétféle hímeket jellemezte az, hogy egyiknek X chromosomája teljesen rassz A, míg a másiknak X chromosomája részben rassz B eredetű volt. Megkíséreltük a testvérek keresztezését: azonban minden fáradozás hiábavalónak bizonyult, utódokat nem kaptunk.

6. Az F_3 vad-típusú nőstényeit a rassz B vad-típusú hímjeivel kereszteztük. Három kultúra a következő öt fajta hím s egyféle nőstényt eredményezett.

Nőstények	Hímek				
	yellow vermilion short sterilis	yellow vermilion sterilis	yellow sterilis	vermilion fertilis	vad-típus fertilis
vad-típus					
194	45	41	9	13	67

A *yellow* és *vermilion* hímeknek jelenléte azt bizonyítja, hogy az F_3 nőstényekben crossing over lépett fel a *yellow* és *vermilion* gének között. Az ily módon kapott F_4 nemzedék ivarchromosomáinak összetételét a 6. ábrán láthatjuk. Az F_4 testvéreket keresztezve csakis a vad és *vermilion* hímek bizonyultak fertilitásuknak.



6. ábra. Fig. 6.

Az F_4 nemzedék ivarchromosoma összetétele.

The sex chromosome composition of F_4 generation.

Látjuk tehát, hogy olyan hím is, melynek ivarchromosómája nem azonos rasszból származik, lehet fertilis, ha az X chromosoma két vége azonos eredetű, mint az Y chromosoma.

7. Az F_4 *vermilion* hímeket vad-típusú nővérekkel párosítottuk s csak vad-típusú utódokat kaptunk. Ez viszont amellett bizonyítja, hogy a keresztezésben használt nőstények mindkét X chromosomája rassz B eredetű volt. Az is lehetséges, hogy a *yellow* és *vermilion* jellegekben heterozygota nőstényekkel a párosodás nem vezetett sikerre, az utódok elpusztultak. Számunkra azonban az a legfontosabb, hogy az F_4 nemzedékben kapott *vermilion* hímek párosodtak s utódokat is hoztak létre.

8. Megkíséreltük a rassz B-ből átvinni rassz A-ba a *bubble* gént tartalmazó X chromosoma részt.

A rassz B *sg* és *bu* hímeket *yellow vermilion* rassz A-nőstényekkel kereszteztük s az utódokat visszakeresztettük *single* és *bubble* rassz B-nőstényekkel. Az F_2 *bubble* nőstényeit *yellow vermilion* rassz A-hímekkel párosítottuk és a következő legyeket kaptuk :

Nőstények			Hímek		
vad-típus	yellow vermilion	összesen	yellow-vermilion bubble sterilis	singed bubble sterilis	összesen
67	56	123	45	56	101

A *yellow vermilion bubble* hímek azt mutatják, hogy az F_2 *bubble* nősténynek volt egy X chromosomája, melynek baloldala rassz A-ból való volt s vitte a *y* és *v* géneket ; a jobboldala pedig rassz B-eredetű s tartalmazta a *bubble* gént. Az utóbbi jellegben homozygota, az előbbieken pedig heterozygota volt.

9. A *yellow vermilion* nőstényeket a rassz A vad-típusú hímjeivel kereszteztük s a következő eredményt kaptuk :

Nőstények	Hímek		összesen
	sterilisek	fertilisek	
vad-típus	yellow vermilion bubble	yellow vermilion	
135	48	65	113

A *yellow vermilion* hímeknek testise rendes nagyságú volt s a párosítás alkalomával a következő F_2 legyeket kaptuk: fertilis vad-típusú és *yellow vermilion* nőtényeket, sterilis *yellow vermilion bubble*, fertilis *yellow vermilion* és vad-típusú hímekeket. Kísérletünk, mely arra irányult, hogy a *bubble* X chromosoma régiót átvigyük rassz B-ből rassz A-ba, mint a fentebbiekből kiténik, eredménytelennek bizonyult, mert a *bubble* gént magában foglaló chromosoma rész egyúttal sterilitást is okozott.

* * *

A fentebbi kísérleteink azt mutatják, hogy az egyetlen fertilis hybrid hím *vermilion* volt, melyet a 6. és 7. pontban írtunk le. Ennek a *vermilion* hímnek volt egy X-chromosomája, melynek baloldala rassz B-eredetű, a közepe rassz A, a jobboldala pedig rassz B-eredetű volt. Úgy látszik, hogy a hímek fertilitása valami módon összefüggésben van az Y-chromosoma s az X-chromosoma azonos származásával, legalább is az X két oldalsó régióját tekintve. A középső rész lehet különböző eredetű, nem szükséges, hogy ugyanolyan rasszból származzon, mint az Y megfelelő része.

Ezért teljesen logikus feltételezni, hogy a *Drosophila obscurában* vannak genetikai tényezők, melyek a fertilitás létrehozói; s ezek a faktorok az X chromosomában vannak elhelyezve, még pedig ennek a két végén; továbbá feltehetjük, hogy e tényezők különböznek a rassz A és a rassz B-ben.

Négy jelenséget kell megvitatnunk s magyaráznunk:

1. A hybrid nőtények fertilitása.
2. A hybrid hímek sterilitása.
3. A *vermilion* hímek fertilitása.
4. A crossing over-ben fellépő redukció.

Amikor az X chromosoma fertilitás-faktorairól beszélünk, nem szabad szem elől téveszteni az Y-ban levő hasonló természetű tényezőket sem. Az Y is szükséges a fertilitáshoz, *Bridges* (1916) és *C. Stern* (1929) kimutatta, hogy Y nélküli hímek sterilisek, sőt az utóbbi szerző bebizonyította, hogy a *Drosophila melanogaster*-ban az Y chromosoma végei különösen is fontosak a fertilitás kérdésében. *C. Stern* adta először az Y-chromosoma térképét és mutatta ki a chromosoma egyes részeinek kvalitatív különértékűségét.

Kísérleteink alapján azt mondhatjuk, hogy a *Drosophila obscura* fertilitásához szükséges, a hímekben az Y és legalább is az X-chromosoma két végének azonos eredete; amint ez az eset a *vermilion* hímeknél. Feltételezhetjük, hogy az X-chromosoma fertilitás faktorai csakis az Y chromosomán keresztül, illetve ennek közreműködésével tudnak csak termékenységet előidézni, vagyis az a viszony van a kettő között, mint a kulcs és a zár között.

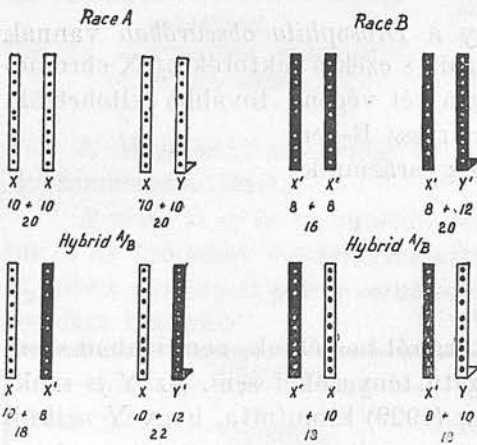
Meg kell említeni, hogy *Lancefield* kapott pár *Pointed vermilion* fertilis hybrid hímet is. Lehetséges, hogy ezekben az esetekben kettős crossing over lépett fel s így a *Pointed* és *vermilion* között levő fertilitás faktorok valóságban nem változtak.

Más az eset a nőtényekben. Itt, ha egyik chromosoma rassz A, a másik rassz B-eredetű is, azért a legyek fertilisek. Sőt, ha crossing over következében az

X-chromosomák többféle részből is vannak összetéve, ennek ellenére is fertilitás maradnak. Eredményeink alapján jogosan feltehetjük, hogy az egyes X-chromosomák faktorai közvetlenül hatnak, míg a hímekben ezek működését ellenőrzi az Y-chromosoma.

A hybrid nőstények s hímek közötti ily módon magyarázott különbség természetesen gyengíti az előbb adott magyarázatunkat. Ezért más úton is megpróbálkozhatunk valami módon értelmezni eredményeinket. *Goldschmidt* hypothesisének alkalmazása bizonyos értelemben érthetően s világosan megmagyarázza nehézségeinket.

Feltételezhetjük, hogy a fertilitás faktorainak számában történt változás idézi elő a sterilitást. Könnyebb érthetőség kedvéért vegyük fel, hogy a rassz A X és Y chromosomájában ezek összege 10—10, (4 a végeken s 2 a közepén); a rassz B X-chromosomájában csak 8, (3 a végén s 2 a közepén); az Y-ban ellenben 12, (5 egyik-egyik végén s 2 a közepén). Vagyis a hímeknél a fertilitás faktorainak a száma mind a két rassznál 20, a rassz A-nőstényeinél 20, a rassz B-nél pedig 16. (7. ábra.)



7. ábra. Fig. 7.

A hybrid hímek sterilitásának és a nőstények fertilitásának magyarázata.

The schematic explanation of sterility and fertility in the hybrids.

magyarázni, s nem terjeszkedik ki a tiszta rasszokra. A sterilitás kérdése nagyon is komplikált, amint ezt *C. Stern* eddigi eredményei is bizonyítják. *C. Stern* kimutatta, hogy az Y-chromosoma fertilitás faktorai qualitative is különböznek egymástól s a chromosoma részei külön értékűek. Az általunk adott elmélet, ha nem is teljesen, de bizonyos mértékig megmagyarázza a fertilitás és sterilitás mechanizmusában fellépő nehézségeket.

Arra vonatkozóan, mi okozza a crossing over redukciót, nem vehetünk fel semmi más magyarázatot, minthogy ez szoros kapcsolatban van a fertilitás problémájával. A crossing over „redukáló“ faktorok az X-chromosoma végén vannak lokalizálva: *Pointed-yellow, fused-short, bubble-short, beaded-singed* kó-

Az F₁ hybrid nőstényénél a faktorok összege 18, a hímeknél vagy 22 vagy 18, aszerint, melyik rassz adja az X-chromosomát. A nőstények fertilesek minden esetben, mert 18 : a 16 és 20 között van. Az utóbbi számok az egyes rasszok fertilitás faktorainak mennyiségei.

A fertilis *vermilion* hímeknek az esetében az X-chromosoma középső része crossoveres darabka volt, ahol feltevésszerűen szerint mind a két rasszban a fertilitás faktorainak a száma 2. Ily módon a crossing over nem változtatott a faktorok mennyiségén, az a crossing over ellenére is a régi maradt. Ezzel megmagyarázhatjuk, miért is a fertilesek a *vermilion* hímek?

Hangsúlyoznunk kell azonban, hogy a fentebbi hypothesis csakis a hybrid nőstények s hímek fertilitásának okát akarja

ötti régi
ötti cross
ött 66-ró
módosulá
nknek, I
hiszen az
A r
testise no
nyult. A
zattuk, k
mindig st
parosítási
A többsz
a normáli
máknak i
Ere
nygota cyt
hímek, m
val, míg v
Lan
abban va
ezek ok
lért jelen
Legl
betekintés
szerint az
meghatáro
zt, hogy
isek. Ugy
tisain.

s fertilitás régiókban. Az A/B nőtények X-chromosomájában a *Pointed* és *yellow* kötött crossing over redukció igen nagy: 62-ről 2·7-re csökkent, *used* és *short* között 66-ról 3·8-re; *bubble* és *short* között 44·5-ről 5·1-re. A crossing overben fellépő kapcsolást avval a feltevessel lehet magyaráznunk, hogy ugyanazoknak a tényezőknél, melyek a sterilitást okozzák, kell okozni ezeket a redukciókat is, mert hiszen az X-chromosoma ugyanazon részében vannak elhelyezve.

A rassz A-nőtény és rassz B-hímek keresztezéséből kapott hybrid hímek testise normális nagyságú volt, de ennek ellenére is a párosításnál sterilisnek bizonyult. A második nemzedékben, amikor az F_1 nőtényeket a hím szülővel kereszteltük, kétféle hímekeket kaptunk: normális és nagyon kis testissel. Ez utóbbiak mindig sterilisek voltak, azonban a rendes nagyságú testist mutató hímekeket, csak a párosítási kísérlet után lehetett fertilitaseknek vagy steriliseknek nyilvánítani. A többszörösen megismételt visszakeresztezesek alkalmával a testis nagysága a normálisshoz tér vissza. Ez azt mutatja, hogy e jelenségnél az autosom chromosomáknak is van szerepe.

Eredményeink azt bizonyítják, hogy nincsen összefüggés a sterilitás és a cytoplazma között. A keresztezesekből kapott utódok között voltak sterilis hímek, melyeknek sejtjében a cytoplazma azonos eredetű volt az Y-chromosomával, míg voltak fertilitasek, ahol a cytoplazma más rasszból származott, mint az Y.

Lancefield szerint a *Drosophila obscura* két rasszánál a lényeges különbség abban van, hogy az egyik X-chromosomájának megfelelő részei invertálódtak, melyek ezek okoznák a fertilitás faktoraiban azokat az eltéréseket, melyek a fentebb említett jelenségeket okozzák.

Legfontosabb azonban ama tény, hogy a *Drosophila obscura* e két rassza tekintetében nyújt új fajok keletkezésének a mikéntjébe. Lancefield és C. Stern szerint az első lépés új faj keletkezéséhez legnagyobb valószínűség szerint az ivar meghatározó mechanizmusban fellépő változásokban keresendő. Ez okozza azt, hogy olyan hímek keletkeznek, melyek a szülőkkel való keresztezesben sterilisek. Ugyanezt a jelenséget megfigyelte H. Harrison is a *Bistonidae*-faj variánsaiban.

ÖSSZEFOGLALÁS.

A *Drosophila obscura* rassz A és B keresztezeséből kapott F_1 hybrid hímek sterilisek, a nőtények fertilitasek. Az F_1 nőtények X-chromosomájának a végén nagy crossing over redukció történik, összehasonlítva a tiszta rasszokkal.

A nemhez kötötten öröklődő mutációk segítségével kimutattuk, hogy csakis a hybrid hím volt fertilitas, amelyiknek Y-chromosomája rassz B-ből, X-chromosomája szintén rassz B-ből származott, azonban a középső régiója crossing overrel a rassz A-ből helyettesített.

Elméletünk szerint az X-chromosoma végén vannak elhelyezve azok a faktorkok, melyek physiologiai hatásukban eltérően viselkednek s okozói a crossing over redukciónak és a sterilitásnak.

(From the Hungarian Biological Research Institute, Department of Physiology, Tihany)

GENETIC STUDIES OF THE CROSSES OF TWO RACES OF *DROSOPHILA OBSCURA*.

by P. CH. KOLLER PH. D.

D. E. Lancefield has discovered (1922) and described (1925, 1929) two distinct races (A and B) of *Drosophila obscura* Fallén (Fig. 1.) which, while they are not to be distinguished by the taxonomist, differ one from the other genetically and cytologically. (Fig. 2.) He has shown that the races themselves are mutually fertile, but that of the hybrid offsprings the males are sterile, the females partially fertile. *Lancefield* also has shown that the crossing over values between certain loci in the X-chromosome of race A are remarkably reduced in the case of Hybrid A/B female. The present writer was encouraged by Professor *Lancefield* to examine the nature of the chromosomal interchanges connected with fertility or sterility, and he wishes to express his sincere gratitude and thanks to Professor *Lancefield* for the material and for his help.

I. REDUCTION IN THE CROSSING OVER VALUES IN THE RACIAL HYBRID FEMALE.

Regarding the crossing over values, obtained from interracial matings, it has to be accentuated, that these values are really „recombination values” according to *Bridges* and *Oldbrycht* (1925), which could be transformed into real crossing over values only after a study of the frequency of double crossing over. Therefore when we are using the term : crossing over values in agreement with *Lancefield*, it means recombination values.

1. Females of race A with the dominant Pointed (0.0, wing mutation), yellow (62.0, body colour), and vermilion (76.0, eye colour) sex-linked characters, were mated with wild type males of race B, and Pointed yellow vermilion male and Pointed female offspring resulted. The males were all sterile, though their orange-coloured testes, to be seen through the abdominal wall, were of normal size.

The F¹ females (Pyv) and ($\frac{P}{+} \frac{y}{+} \frac{v}{+}$), showing Pointed only of the mutant characters involved, were then backcrossed to Pointed yellow vermilion males of race A and the following results were obtained. There were 292 females and 220 males. Of the males there were the following classes :

No crossovers		1. regio		2. regio	
Wild type	Pointed yellow vermilion	Pointed	yellow vermilion	Pointed yellow	vermilion
105	87	4	2	18	12

From these figures the following map distances were constructed :

P/y	2.7
P/v	12.7
y/v	10.0

Lancefield had previously obtained from different experiments the following distances :

P/y	3.0	} 2.3	
P/v	12.7 in his earlier experiment		11.5
v/y	9.7		11.4

Now the map distances based on crossing over values obtained from the use of pure race A females heterozygous for Pointed yellow vermilion were as follows (see *Lancefield*).

P/y	62.0
P/v	76.0
y/v	14.0

It is seen that the crossing over in the region of the middle of the X chromosome, i. e. in the region of *y* and *v* is not markedly different, whereas the crossing over at the left end of the chromosome i. e. between *P* and *y* is greatly reduced.

2. To follow the other end of the X chromosome another mutation was introduced. This is the recessive *short* wing-veins with a locus at the right end of the X of race A, 170 units from Pointed and 94.5 from vermilion.

yvs females of race A were mated with wild type males of race B and the resulting racial female hybrids backcrossed to *yvs* males of the original race A. Three successful matings yielded the following crossing over values :

	wild	1. regio		2. regio		total number of males
		yellow	vermilion short	yellow verm.	short	
76	56	52	42	15	21	252

Whereas the map distances are for *y/v* 14.2, between *v* and *s* 37.3, for *y/s* 51.5. To the value of *y/v* and *v/s* was added 2.7, the distance between *P* and *y* to obtain 54.2, the distance between Pointed and short. *Lancefield* located the same gene at 48.7 in the hybrid. For *v/s* *Lancefield* obtained the figure 36.0, for *y/s* 45.7. Possibly the difference between the results is to be explained either by the smallness of the numbers, or more probably by the fact, that *Lancefield* was using a different gene combination. Reference to the data obtained by *Lancefield* showed that the reduction has not affected the region between vermilion and fused, which is 100 units to the right of vermilion, but only that between fused and short. This point is illustrated best by the use of modification of *Lancefield's* figure. (Fig 3).

The locus of vermilion is taken to be fixed and the lineal relationship of this to the rest is shown.

It may be seen from the data thus displayed that the great reduction in crossing-over affected only the regions near to the right and left ends of the chromosome respectively, and that the middle region was relatively unaffected. In point of fact as proved by *Lancefield* the crossing over value between *v* and *fu* is actually increased, whilst that between *y* and *v* is only slightly reduced.

3. Two sex-linked mutations of race B were introduced into the interracial crossing to locate more accurately the region of reduction in crossing over values. One of them is singed (*sg*) the recessive mutant character common to both races, but whilst its locus in race A is at 74.0, in race B it is tentatively placed by *Lancefield* at 35.0 (i. e. the distance from beaded 0.0 of X chromosome of race B). The second one bubble (*bu*), another sex-linked recessive, is peculiar to race B only, its locus is at 53.0.

From different matings the following results were obtained :

Region	Nature of cross	Total	Number of crossovers	Percent of crossovers	Percent of crossovers by <i>Lancefield</i>
<i>y/sg</i>	$\frac{Pyv (A)}{sg bu (B)} \text{ } \text{♀} \times (B) \text{ } \text{♂}$	432	32	7.4	8.0
<i>sg/bu</i>	$\frac{Pyv (A)}{bu sg (B)} \text{ } \text{♀} \times (B) \text{ } \text{♂}$	284	83	34.2	32.6
<i>v/bu</i>	$\frac{Pyv (A)}{sg bu (B)} \text{ } \text{♀} \times (B) \text{ } \text{♂}$	432	148	32.4	30.6

For the purpose of the discussion it is convenient to refer all map distances to the fixed locus of singed. This being done, the above map was made. (Fig. 4)

It is to be seen that in the hybrid the crossing over between *sg* and *bu* is increased, whilst that between *bu* and *s* is greatly diminished.

Genetic factors affecting crossing over are known. There are genes which decrease the crossing over values, whilst deficiency sometimes entirely obliterates it. Neither of these can be responsible for the marked differences in map distances exhibited by the hybrid A/B female and by the racially pure heterozygous female respectively. If specific genes preventing crossing over were at work, then surely they must have operated in both races. The same argument applies to deficiency. *Lancefield* assumes that two *inverted sections*, one of each end of X chromosomes are concerned in the reduction of crossing over. Our explanation is different from that of *Lancefield*, it will be discussed when the problem of infertility has been dealt with.

B. THE PROBLEM OF INFERTILITY IN THE RACIAL HYBRID MALE

The racial hybrid male of F_1 generation is invariably infertile. The males produced by the mating of the F_1 females to P_1 males of either race fall into two groups: those that are fertile and those that are infertile. It will be shown that fertility and infertility in these stocks are definitely related to the constitution of the

sex chromosome as determined by racial origin. If F_1 females obtained from inter-racial crossing were infertile as the males, it would be certain, that not only the sex chromosomes but the somatic chromosomes were concerned with infertility. The constitution of the X chromosomes in terms of racial origin may easily be determined by the use of the mutant sex linked characters: Pointed, vermilion, yellow, short, singed and bubble, since all interchanges of racial chromatin can be followed by the distribution of these characters.

The following experiments were planned so, that by building up X chromosomes composed of different portions of the X-s of race A and of race B respectively, the genetic cause of infertility could be regionalised.

1. Pointed yellow vermilion females of race A were mated with wild males of race B, and the resulting F_1 females were then backcrossed to Pointed yellow vermilion males of race A. Of the females of this generation, four classes were to be distinguished: (1) Pointed, (2) Pointed yellow, (3) Pointed yellow vermilion, (4) Pointed vermilion. The third class includes both crossover and non-crossover flies, so does the first class, some of them being heterozygous for Pointed, as was seen, when they were mated with yellow vermilion males of race A. From these crossings appeared males with yellow and vermilion, but without Pointed.

The Pointed vermilion class might possibly have resulted from a double crossing over, and to test this, some of them were mated to wild type males of race A, when two kinds of son appeared: fertile Pointed yellow vermilion and infertile vermilion. The second class of males shows that the females used were homozygous for vermilion and heterozygous for Pointed and yellow; that is to say, that of one of their X' chromosomes the left half was of race B, the right half probably was of race A. The vermilion males received the crossovered X chromosome, its left half of race B, the right portion was of race A. The Y chromosome was of race A origin.

2. Certain specimens of these females heterozygous for Pointed and yellow and homozygous for vermilion were then mated to wild type males of race B. The resulting offsprings are shown in the following table:

Females			Males				
total	wild	Pointed	total	Pointed yellow vermilion infert.	vermilion infertile	Pointed vermilion infertile	yellow vermilion infert.
172	97	75	157	95	59	2	1

7 out of the 59 vermilion males had testes of normal size. The male with abnormally small testis is invariably sterile. These 7 males were tested for fertility, but all of them proved to be infecund.

As was found by *Lancefield*, the crossing over values were in such repeated backcrosses, distinctly variable.

The composition of the sex chromosome of the individuals of this generation

in respect of racial origin is observed by means of crossing over data. It is seen in figura 5. that a Y chromosome of race B, associated with (1) an X chromosome of race A, (2) an X with the left half of race A and the right of race B, (3) an X all of race A save for the region including yellow, or (4) an X all of race A save for the region including Pointed is associated with infertility.

3. Certain examples of the wild type females of F_3 were mated next with wild type males of race B, and the following offsprings were obtained : fertile wild type females and males, and also vermilion males with abnormally small testis. The latter were sterile. F_4 .

It is possible that in the X chromosome composition of the infertile vermilion male there was a race B, Y chromosome and an X the left half probably of which was of race B, the right half including the gene for vermilion of race A. There was no evidence that there had been crossing over involving the X chromosome of the female parent.

4. Next it was attempted to build up an X chromosome with its left half of race A and its right of race B.

Yellow vermilion short females of race A were mated with wild type males of race B and the F_1 females backcrossed to yellow vermilion short males of race A. From this F_2 yellow vermilion females were mated with yellow vermilion short males. The mating yielded in F_3 two kinds of males : yellow vermilion short fertile, and yellow vermilion infertile. This result shows that the female parents were homozygous for yellow vermilion and heterozygous for short and that one of their X-s had a left half of race A and a right of race B. The infertile yellow vermilion males were such as had received this latter X chromosome.

It is seen that a Y chromosome of race A in association with an X, the left half of which is race A, the right of race B yields an infertile male.

5. Next it was attempted to build up an X chromosome of which the two ends were of the same racial origin, whilst the middle portion was of a different origin, i. e. to build up a chromosome : A-B-A or B-A-B.

The same yellow vermilion females as those of the F_2 above, were backcrossed to wild type males of race B. Of the 21 matings two were successful and gave:

females	males	
wild types	yellow vermilion infertile	vermilion short infertile
168	84	76

The characterisation of the two kinds of males showed that one possessed an X completely of race A, while the other's X was composed of a left end of race A and a right end of race B. The Y of both kinds being of race B. The brothers and sisters of this F_3 were then mated ; in some vials a male and female were placed together, in other numerous males and females, but all the matings were fruitless.

6. T
were mat
types of

w

The
between t
The male
Brother a
the wild t
It is
of one rac
the middle
7. Th
wild type
two kinds
with one
race B, in
this one r
hybrid fer
males by :
realize is
pletely fer
8. N
of race B
Sing
of race A
B. The bu
A. Three

wild ty
67

6. The wild type female of F_3 , obtained from the above mentioned matings were mated to wild type males of race B. Three successful cultures gave five types of males and one type of female:

females	male				
	yellow verm. short infert.	yellow verm. infert.	yellow infert.	verm. fertile	wild fertile
wild type					
194	45	41	9	13	67

The presence of yellow and vermilion males showed that crossing over between the loci of yellow and vermilion in the case of the F_3 mother had occurred. The male sex chromosome composition of these types in the F_4 are shown in fig. 6. Brother and sister matings were then carried out, but of all of the males excluding the wild type, the vermilion alone proved to be fertile in mating.

It is seen therefore that a male whose sex chromosomes are not completely of one race, can be fertile, when the two ends are of one race, in this case of race B, the middle of the other, in this case of race A.

7. The vermilion males of F_4 were then mated with the wild type sisters. Only wild type offspring appeared. This shows that though it was known that there were two kinds of wild type females in F_4 , one with both X-s of race B, and the other with one X of A carrying yellow-vermilion-short and with one X chromosome of race B, in spite of this fact all of the male offsprings were only wild type. To explain this one may assume, that either no mating occurred between vermilion male and hybrid female heterozygous for yellow and vermilion, or the yellow vermilion males by some lethal effect were obliterated. The most important fact for us to realize is that the vermilion males of F_4 did produce offspring, i. e. they were completely fertile.

8. Next it was attempted to transfer that position of the X chromosome of race B carrying bubble (*bu*) to race A.

Singed bubble males of race B were mated with yellow vermilion females of race A and the hybrid females were backcrossed to singed bubble males of race B. The bubble females of F_2 were mated next with yellow vermilion males of race A. Three successful cultures gave:

females			males (infertile)		
wild type	yellow, vermilion	total	yellow vermil. bubble	singed bubble	total
67	56	123	45	56	101

The existence of the yellow vermilion bubble males showed that the bubble females of F_2 had a chromosome with its left end of race A, carrying yellow and vermilion, and its right end of race B, carrying bubble, being homozygous for the latter and heterozygous for yellow vermilion and singed.

9. The yellow vermilion females were then mated with wild type males of race A and the following classes were obtained :

females	males		
	infertile	fertile	total
wild type	yellow vermilion bubble	yellow vermilion	
135	48	65	113

The yellow vermilion males had testes of normal size and when mated with their wild sisters gave an F_2 as follows : fertile wild type and yellow vermilion females, infertile yellow vermilion bubble males, fertile yellow vermilion and wild type males. It is seen, that the attempt to transfer that portion of X of race B carrying bubble was unsuccessful for only an X with the right half and not merely the end piece, carrying bubble of race B was secured.

DISCUSSION.

The only hybrid male in the whole of the above experiments, which was fertile in mating, was the vermilion male described in 6 and 7 above. This vermilion male had an X of the following composition : left end of race B, middle of race A, right end of race B, in association with a Y chromosome of race B ; it would seem that fertility is associated with and conditioned by similarity in the racial origin of the Y and at least the two ends of the X, the middle of X can be of racially different origin from the Y. It is reasonable to postulate therefore that there are genetic factors affecting fertility in the end of the X chromosome of *Drosophila obscura* and that these are different in the two races A and B.

Four matters demand further discussion :

1. The fertility of the racially hybrid female.
2. The infertility of the racially hybrid male.
3. The fertility of the vermilion male.
4. The modifications of crossing over.

These postulated fertility factors resident in the ends of the X, cannot be discussed without reference to others in the Y. The Y chromosome in the male is essential to fertility, a male without Y is sterile, as stated by Bridges (1916) and C. Stern (1929) who gave the first chromosome map of the Y chromosome and has shown, that in the *Drosophila melanogaster* the ends of the Y chromosome are specifically concerned with fertility.

For fertility in *Drosophila obscura* it is necessary that in the male a Y and

the bubble X with ends of the same racial origin as the Y, be present, as was the case on our yellow vermilion male. One must assume therefore, that the genes affecting fertility, which are resident in the ends of X, can produce their effects only, when they operate in conjunction with or through fertility genes in the Y; that is to say that their relation is, as that of the key and the lock.

Lancefield found some Pointed vermilion males, which were fertile in spite of the presence of a racially different Y. It is not impossible that in these cases by double crossing over the racially similar fertility genes remained unaltered.

The case of the female is different, for the female with one X chromosome from each race is fertile, as is also the female with racially compound X-s. In the case of racially hybrid female we must assume, that the fertility factors of each X operate directly, while their work is controlled by factors of the Y in the male.

The necessity to postulate difference between male and female must necessarily weaken the attempted explanation of the facts observed, and so another interpretation was sought. An appeal to the hypothesis of *Goldschmidt* is helpful. We may assume, that the change either in plus or in minus direction in the quantity of factors for fertility produce sterility in the hybrid. For better understanding let us assume, that there are e. g. 10 factors for fertility in the X and Y of race A (4 at both ends and 2 in the middle); 8 in the X of race B and 12 in the Y (4 at both ends and 2 at the middle in X, and 5 at each end and 2 in the middle in Y). In this case, for fertility in the male there must be a sum of 20 factors in both races, for fertility in the female 16 in race B and 20 in race A.

The racial hybrid female of F_1 will have 18, the male will have either 22 or 18 according to the racial origin of the X. The female will therefore be fertile, because the sum of factors (18) is between 16 and 20 — the totals of fertility factors of each pure races. The male with 22 and 18 will be infertile, the number of fertility factors being more or less than 20, the sum in both races. The situation of factors in race A and B and in the hybrid is shown in fig. 7.

In the case of the fertile vermilion male the crossover middle portion, where vermilion is located contained 2 factors for fertility. The same part of X of race B, which was replaced by the portion carrying vermilion, bore also 2 factors for fertility and therefore the number of fertility-factors remained unchanged. Hence the flies were fertile.

It must be accentuated that the above hypothesis was introduced to explain the sterility and fertility in the racial hybrid and not in the pure race A or B. The problem is a very complicated one as it may be seen from the work of *C. Stern*. He has shown that even the male fertility factors in the Y are of different qualities. However the above suggested hypothesis is helpful in a certain degree to explain the difficulties in the mechanism of fertility and sterility.

At present it is impossible to offer any suggestion, that will explain the modification in crossing over, save that the factors responsible for the crossing over reduction are also concerned with fertility. The crossing over „reducers“ are situated at the ends of the racially compound X chromosomes, i. e. between Pointed-yellow, fused-short, bubble-short and beaded-singed as it was pointed out by *Lancefield*. The crossing over reduction in A/B female between Pointed and yellow is

enormous, from 62 to 2.7; between fused and short from 66.0 to 3.8; between bubble and short from 44.5 to 5.1. These modifications in crossing over, that were observed in our experiments, are to be explained on the assumption that in these regions of the X chromosomes of the two races are the causes for sterility too and therefore one may conclude that *similar causes exist responsible for both the crossing over reduction and for the sterility in the hybrid males.*

The hybrid male produced by the mating of race A female and a race B male has testes of normal size yet is sterile. In the F_2 produced by mating the F_1 females to P_1 males, the males are of two classes in respect of testis size: (1) normal and (2) abnormally small. The male with small testis is invariably sterile in mating, but it is impossible to assume without actual test, that the male with testes of unexceptional size is fertile. In the repeated backcrosses there was a tendency to return to normal size. This would be expected if testis size was a character determined by genes in both sex and autosomal chromosomes. For the ordinary processes of chromosome distribution together with crossing over, would yield a range of size.

There is no relation between sterility and fertility on the one hand and the composition of the zygote in respect of racial chromatin and racial cytoplasm on the other. In the latter generations described, there were all possible combinations of racial chromatin and cytoplasm and it was impossible to relate any of these with sterility.

In the present state of our knowledge of the genetics of *Drosophila obscura* it is reasonable to agree with *Lancefield*, who suggests that possibly the significant difference between races that is portion of the sex chromosomes in one race have, in comparison with the equivalent portions in the other race, become inverted. It is possible that this inversion is responsible for the reduction in crossing over and alters deeply the situation of factors concerned with fertility.

The real interest of this material lies in the fact, that it furnishes a possible example of the method of origin of a new species. *Lancefield* and *Stern* have argued that an early step in such an origin might well be genetic modifications affecting the sex determining mechanism, whereby males are produced, which are infertile with the parental stock. The same phenomenon was commonly observed by *H. Harrison* in his work on the *Bistoniae* varieties.

SUMMARY.

(1.) The F_1 racial hybrid male of *Drosophila obscura* is infecund, the female partly fecund. There is a remarkable reduction in crossing over in the regions of the ends of the X chromosome in the F_1 racial hybrid female, when compared with that which occurs in the racially pure.

(2.) Experiments involving the use of several sex linked characters and crossing over showed, that the only fertile male racial hybrid was one with a X chromosome of race B and a racially compound X, ends of which were race B and a middle of race A.

(3.) It is suggested that there are genes affecting fertility and crossing over located in the ends of the sex chromosomes and dissimilar in their physiological

action in the
and also of
union X
(4.) S
two races

Bridge
Lancef
Abst. u
Stern

tion in the two races, and that this is the explanation of reduced crossing over, and also of the fact that for fertility the Y and at least two ends of the companion X must be of similar racial origin.

(4.) Support is given to *Lancefield's* suggestion, that the relation of the two races is a study in the origin of species.

IRODALOM. — REFERENCES.

Bridges, C. B. : Genetics 1. 1—52. 1916.

Lancefield, D. E. : Genetics, 7. 335—384. 1922. Anat. Rec. 31. 346. 1925. Zeitschr. f. Abst. und Vererbungsl. 52. 287—317. 1929.

Stern C. : Zeitschr. f. Inst. Abst. und Vererbungsl 51. 254—353. 1929.

DES U

ADROS

POI

KÜLÖNLENYOMAT

**A MAGYAR BIOLOGIAI KUTATÓ INTÉZET
II. OSZTÁLYÁNAK MUNKÁIBÓL.**

V. KÖTET. 1932.

SZERKESZTI:

DR. VERZÁR FRIGYES

EGYET. NY. R. TANÁR

A BIOLOGIAI KUTATÓ INTÉZET IGAZGATÓJA.

SONDERABDRUCK AUS DEN

ARBEITEN DER II. ABTEILUNG

DES UNGARISCHEN BIOLOGISCHEN FORSCHUNGSINSTITUTES

V. BAND. 1932.

REDIGIERT VON:

PROF. DR. FRIEDRICH VERZÁR

DIREKTOR

DES BIOLOGISCHEN FORSCHUNGSINSTITUTES

**DROSOPHILA OBSCURA POINTED ALLELOMORPH MUTÁCIÓJA
S MÓDOSÍTÓ FAKTORAI.**

Írta: DR. KOLLER PIUS

**POINTED-x, AN ALLELOMORPH OF POINTED AND ITS
MODIFIERS WITH THE DROSOPHILA OBSCURA.**

By P. CH. KOLLER.



T I H A N Y, 1 9 3 2.

(A Magyar Biológiai Kutató Intézet II. osztályának közleménye.)

A DROSOPHILA OBSCURA POINTED ALLELOMORPH MUTÁCIÓJA S MÓDOSÍTÓ FAKTORAI.

Írta : DR. KOLLER PIUS

A *Drosophila obscura* Fallen POINTED mutációját D. A. Lancefield ismertette először, amikor a fentnevezett *Drosophila* faj nemhez kötötten öröklődő mutációit 1922-ben közölte. A POINTED mutans légnél a szárny hosszabb, mint a normális szárny és a belső szegély erősen lekerekített. (I. Tábla 1—4. kép). A POINTED szárny nagyon emlékeztet a *Drosophila melanogaster*nél leírt BEADED mutációra (7., 8., 9. kép). A feltűnő különbség részben a kisebb mértékű variációban s a POINTED mutációt okozó gén alacsonyabb fokú élettani hatásában nyilvánul meg.

A POINTED mutációt létrehozó gén (P) helyét D. A. Lancefield az ivar vagy X chromosoma bal végső részén állapította meg. Dominánsan öröklődik, de heterozygóta állapotban a tulajdonság átütő ereje gyengébb s a szárny átmeneti forma a homozygóta POINTED és a normális típus között. (14. kép). Ez a tökéletlen, azaz nem-teljes dominancia heterozygóta állapotban jellemző az összes *Drosophila*-fajokra. A környezet (hőmérséklet, nedvesség s táptalaj) csak nagyon kis mértékben érezteti hatását a POINTED mutáción. Az említett mutáció életrevalósága és produktivitása körülbelől megegyezik a normális *Drosophila obscura*-val.

Az 1. táblázat adatai mutatják, hogy a POINTED mutáció összehasonlítva a normális típussal nem mutat eltérést; vitalitása azonos az utóbbival. A háromszorosan mutans POINTED—YELLOW—VERMILION* törzsnek alacsonyabbfokú életrevalóságát és produktivitását a *Drosophila* légyben jelenlevő YELLOW tulajdonság okozta, amint ez a táblázat adatainak összehasonlításából azonnal kitűnik.

A POINTED jelleget hordozó törzsben időnként megfigyelt variálás és „extrem” típusoknak meghatározott arányban való megjelenése bizonyította, hogy a POINTED tulajdonságának „módosító faktorai” vannak. Az osztályozás nehézsége miatt azonban a módosító faktor vagy faktorok helyét és közelebbi szerepét meghatározni nagyon fáradságos kísérletnek bizonyult. A szelekciós kísérletek alatt a 137/31. számú kultúrában a hímek és nőstények

* yellow : sárga testszín, nemhez kötött jelleg; vermilion : téglapiros szemszín, nemhez kötött tulajdonság.

tele nagyon keskeny és hosszú POINTED szárnytípust, az ú. n. „extrem“ típust mutatatta. (10. kép.) A legyek $PP \times PY$ összetételű szülőktől származtak, ahol a nőstény homozygóta volt a POINTED jellegben. (Y jelenti a hímekre jellemző Y-chromosomát.)

Az utódokat egymással kereszteztük s a párosításból kapott legyeket osztályozva a 2. táblázat adatait kaptuk.

A kiválasztott „extrem“ hímek és nőstényeket keresztezve a következő eredményekben csakis az „extrem“ típusú POINTED legyek jelentek meg. Az eredmény bizonyította, hogy a legyek mind homozygóták a POINTED jelleget módosító tényező tekintetében. Ezt a faktort vagy tényezőt *m1*-nek neveztük el. — Keresztezések azt mutatták, hogy ez a tényező nemhez kötött, azaz éppen úgy az X-chromosomában van, mint magát a POINTED jelleget okozó gén. POINTED hímek, melyek az *m1* tényezőt is hordozták, párosítottak normális szárnyú legyekkel. A heterozygóta nőstény utódokat visszakeresztezve az „extrem“ típusú POINTED hímekekkel, a 3. táblázat adatait kaptuk.

A várt és megfigyelt adatok közötti csekély eltérést minden bizonnyal a POINTED és *m1* gének között történt *crossing-over* okozta. A fentebbi adatokból ki is lehetett számítani a két faktor közötti *crossing-over* értéket, vagyis a távolságot, mely a két gén között van. A távolság 13·7 Morgan egység. (Adatunk kiértékelésénél a következő képletet használtuk: $1-p$, $1-p+p$ és p , ahol p a *crossing-over* csoportot jelzi.)

Az *m1* módosító tényező felfedezése után csakhamar nyilvánvaló lett egy másik hasonló szerepű módosító tényezőnek a jelenléte. Ez a tényező az ú. n. *m2* szintén módosította a POINTED jelleget, azonban nem olyan nagy mértékben, mint az előbbi faktor, az *m1*. (5., 6. kép.)

Először a 65—34. számú kultúrában jelentek meg sajátságos szárnyú POINTED legyek. Ez a törzs $PPm1$ és PY szülőktől származott, vagyis a nőstények homozygóták voltak a POINTED jellegben, míg az *m1* tényezőt csakis egyik X-chromosomájuk hordozta; a hímek csak a POINTED gént tartalmazták. A hím utódok fele, mivel az anyai X-chromosomával megkapta a P és *m1* tényezőket, ezért „extrem“ POINTED volt. A hímek másik része és a nőstény utódok között megfigyelhető szárnykülönbségek az *m2* tényező jelenlétét mutatták.

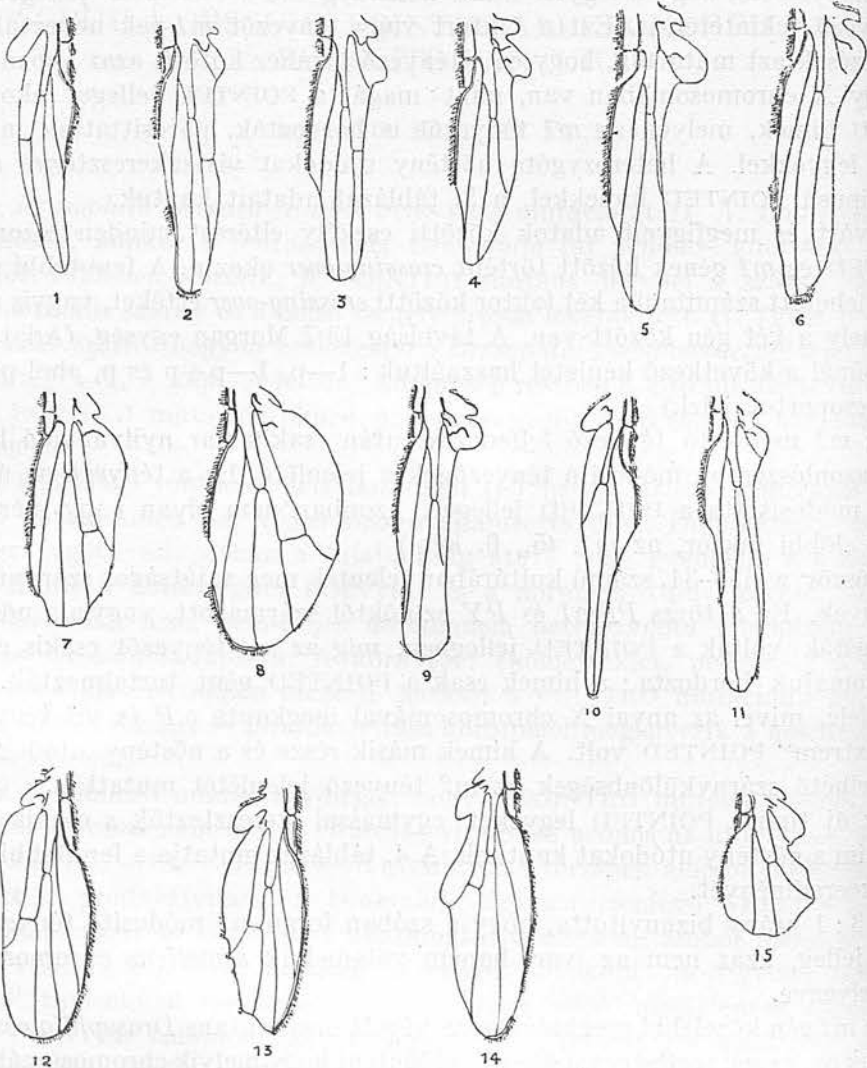
Az új típusú POINTED legyeket egymással kereszteztük s csakis hasonló típusú hím s nőstény utódokat kaptunk. A 4. táblázat mutatja a fentebbi keresztezésünk eredményét.

A 3:1 arány bizonyította, hogy a szóban forgó *m2* módosító tényező *autosomális* jelleg, azaz nem az ivar, hanem valamelyik *somaticus* chromosomában helyezve.

Az *m2* gén közelebbi meghatározása végett más mutans *Drosophila obscurákat* bevetettünk, s ezek segítségével sikerült eldönteni, hogy melyik chromosomában levő gének közé kell sorolni az *m2* módosító tényezőt. Először a 4. chromosoma *Knobby* (domináns, szem mutáció) jelleget mutató legyekkel kereszteztük a POINTED *m2* egyedeket, s az eredményül kapott adatok bizonyították, hogy az *m2* gén nincsen a *Knobby*-gén chromosomájával azonos chromosomában. Ezek után a 3. chromosomába tartozó *orange* (*or*) (szem színben jelentkező recessív jelleg) legyekkel

hoztuk kapcsolatba a POINTED m^2 *Drosophilákat*. PPm^2m^2 nőtényeket párosítottunk $PYoror$ hímekkel, s a kapott nemzedék hímjeit és nőstényeit összekeresztelve az 5. táblázatban feltüntetett eredményt kaptuk.

Az 1 : 2 : 1 arány mutatja, hogy az m^2 gén ugyanabban a chromosómában van elhelyezve, ahol az orange szemzint okozó tényező van. A várt és megfigyelt adatok közötti különbséget ebben az esetben is az m^2 és or közötti *crossing-over* okozta. A távolság a kettő között 9.2 Morgan-egység, mely eredményt a 6. táblázat adatai szolgáltatták.



A további kísérletek alatt a 83. számú kultúrában sajátságos POINTED típus jelent meg. (12. kép.) A legyeknek szárnya olyan volt, mint a heterozygóták, hogy a POINTED (14. kép.), sőt egy kissé még inkább hasonlított a normális szárnyhoz. 3. A A legyek PPm^1 ♀ és PY ♂ szülőktől származtak, vagyis az utódok mind homozyous POINTED

goták volt
túrában r
s ezért m
TEDRE j
tartalmaz
Az 1
ezen az ú
TED jelleg
r-nek (P
az X chro
Ennek biz
dozó hom
többi jell
közötti tá
donság, al
típustól.
A 8.
elhelyezve
TED-x és
van elhely
A P
bókkal. M
tulajdonsé
gal kapcs
normális
hatásuk
ez megfig.
A PC
solata eg
nek a kon
hoz négy
solata na
széhez fela

1. K
őjét. Az
POINTED-
chromo
tűzött.

2. F
hogy a
3. A
POINTED

goták voltak a POINTED tényezőben. Ezért nem lehetett feltételezni, hogy a kultúrában megjelent különös szárny-típusú legyek egyszerűen csak heterozygoták, ezért mutatják ezt a sajátságos szárnyat, ami különben a heterozygota POINTEDRE jellemző. A 7. táblázat mutatja, hogy az utódok mindkét X chromosomája tartalmazta a POINTED gént.

Az $m1$ és $m2$ módosító tényezők is különböző mértékben éreztették hatásukat ezen az új POINTED típuson. A keresztezések azt bizonyították, hogy a POINTED jellegnek egy új, megfelelő allelomorph mutációja jelent meg. Ezt POINTED-x-nek (Px) neveztük el. E tulajdonságot okozó gén azonos helyen van elhelyezve az X chromosomában, ahol a POINTED gén, így ez utóbbinak allelomorphja. Ennek bizonyítására mind a POINTED, mind pedig a POINTED-x jelleget hordozó homozygota legyeket a BEADED (*be*) mutációval kereszteztük. (13. kép.) Ez utóbbi jelleg génje az ivar chromosomában van elhelyezve, a POINTED és BEADED közötti távolság: 20 Morgan-egység. A beaded szárny mutáció, recesszív tulajdonság, ahol a szárny belső részén a szegély bevágása mutat eltérést a normális típustól.

A 8. és 9. táblázat mutatja, hogy a P és Px gén ugyanazon távolságban van elhelyezve a BEADED géntől. A távolság POINTED és *beaded* között 19.2, POINTED-x és BEADED között 19.5. Ez bizonyítja, hogy a két gén ugyanazon a helyen van elhelyezve a chromosomában: vagyis allelomorphok.

A POINTED-x jelleget kapcsolatba hoztuk az $m1$ és $m2$ módosító tényezőkkel. Megfigyelésünk szerint ezek a tényezők nem befolyásolták a POINTED-x tulajdonságot olyan mértékben, mint ugyanezek tették a POINTED tulajdonsággal kapcsolatban. A POINTED-x mindenesetre olyan jelleg, mely kevésbé tér el a normálistól s a módosító faktorok ennek következtében nem is tudják éreztetni a hatásukat olyan mértékben, mint az erősen elváltozott POINTED jellegnél ez megfigyelhető.

A POINTED és a POINTED-x jellegnek a két módosító tényezővel való kapcsolata egy új, az ú. n. „*miniature*” szárnyat hozza létre (15. kép.). Az ilyen legyeknek a konstitúciója $PPm1m2m2$. Mivel a „*miniature*” szárnytípus létrehozásához négy tényezőnek a jelenléte szükséges, s mivel ezeknek egymással való kapcsolata nagyon is labilis, ezért a „*miniature*” szárnytípusnak a megrögzítése nagyon nehéz feladatnak bizonyult.

EREDMÉNYEK :

1. Két tényező: $m1$ és $m2$ módosítja a *Drosophila obscura* POINTED mutációját. Az első nemhez kötötten öröklődik s 13.7 Morgan egység távolságban van POINTED-től; a második az *orange* mutációval azonos csoportba tartozik, vagyis a 3. chromosomában van elhelyezve, a távolság 9.7 Morgan egység $m2$ és *orange* között.
2. POINTED-x egyik allelomorphja a POINTED mutációnak, attól abban tér el, hogy a szárnyat kevésbé változtatja meg.
3. Az $m1$ és $m2$ tényezők kisebb mértékben hatnak a Px génre, mint a POINTED mutációt létrehozó P-re.

KÉPEK MAGYARÁZATA:

- 1., 2. Pointed nőstény (PP♀).
- 3., 4. Pointed hím (PY♂).
5. Pointed és m2 nőstény (PP m2 m2 ♀).
6. Pointed és m2 hím (PY m2 m2 ♂).
- 7., 8., 9. Beaded a *Drosophila melanogaster*nél (Bd).
10. Pointed és m1 hím (PY m1 ♂).
11. Pointed és m1 nőstény (PP m1 m1).
12. Pointed—x (Px).
13. Beaded a *Drosophila obscura*-nál (be).
14. Heterozygóta Pointed (P+♀).
15. Miniature Pointed—Pointed—x. (PPx m1 m1 m2 m2.)

(From the Hungarian Biological Research Institute, Department II.)

POINTED-x, AN ALLELOMORPH OF POINTED AND ITS MODIFIERS WITH THE *DROSOPHILA OBSCURA*.

By P. CH. KOLLER.

SUMMARY :

1. The behaviour of two modifiers in *Drosophila obscura*, *m1*; located in the X chromosome at 13·7 units from POINTED and *m2*, linked with *orange* in the third chromosome and located at 9·2 units from *orange* is described.

2. *Px*, an allelomorph of the previously described POINTED mutant, gives a similar but smaller effect upon the wing character to POINTED.

3. The factor *m1*, which has the effect of intensifying the character, gives a smaller effect with *Px* than with *P*; factor *m2*, which reduce the variability of the character, similarly effects *Px* less than *P*.

IRODALOM — LITERATURE.

B. A. : Lancefield, 1922. Genetics 7. 335—384.

A
kultúra
száma

320

322

323

ext
Poi

1. táblázat.

A kultúra száma	Normalis típus		A kultúra száma	Pointed		A kultúra száma	Pointed yellow vermilion		A kultúra száma	Yellow vermilion	
	♀♀	♂♂		♀♀	♂♂		♀♀	♂♂		♀♀	♂♂
320	84	79	471	91	85	22	47	35	51	55	49
322	65	67	472	72	70	24	53	47	52	63	54
323	91	88	475	65	63	26	72	65	53	44	46
	250	224		248	218		172	147		162	149

2. táblázat.

Nőstények		Hímek		A szülők genetikai összetétele	
extrem Pointed	Pointed	extrem Pointed	Pointed	♀♀	♂♂
56	3	47	4	PP m1 m1	P m1
71	1	69	1	PP m1 m1	P m1
30	35	31	32	PP m1	P m1
2	62	30	27	PP m1	P
28	31	25	29	PP m1	P m1

3. táblázat.

Pointed nőstények	P m1 hímek	m1 és normális típusú hímek	Pointed hímek
87	34	41	6
109	45	53	7
98	37	49	6
131	51	63	9
Összesen : 425	167	206	28 : 401
Theoretikusan számított :	180	200	28

4. táblázat.

Nőstények		Hímek	
PP m2 m2	PP	P m2 m2	P
27	98	21	84
22	71	27	85
31	87	21	91
Összesen : 70	256	75	260

5. táblázat.

N ő s t é n y e k			H í m e k		
PP m2 m2	PP or or	PP	P m2 m2	P or or	P
31	26	59	24	27	61
24	27	60	26	22	58
15	19	39	18	21	41
Összesen : 70	72	158	68	70	160

6. táblázat.

$$\frac{P \ m2 \ or}{P \ + \ +} \text{♀} \times P \ m2 \ m2 \ or \ or \ \text{♂}$$

N ő s t é n y e k				H í m e k			
nem crossoveres		crossoveres		nem crossoveres		crossoveres	
PP m2 m2 or	PP m2 or or	PP m2 m2 or or	PP m2 or	P m2 m2 or	P m2 or or	P m2 m2 or or	P m2 or
47	53	4	6	52	45	4	5
64	72	6	9	57	66	6	7
54	59	3	5	48	61	5	5
32	39	3	6	27	42	3	6
Összesen : 197	223	16	26	184	214	18	23
Theoretikusan számított :	215	24	24	198	198	20	20

7. táblázat.

A szülők és utódok genetikai összetétele

PP × m1 ♀		P m1 ♂		P× P× ♀	P× ♂	P× P× ♀	+ ♂
PP m1 m1	PP × m1	P m1	P ×	P× P×	P×	P× +	P×
35	42	27	36	83	75	112	106
53	49	45	39	95	79	87	81
41	37	39	42	126	117	131	126
Összesen : 129	128	111	117	304	271	330	313

8. táblázat.

$$\frac{P +}{+ be} \text{♀} \times P \text{♂}$$

Összes ♀ ♀	H í m e k				Összes ♂♂	Crossing over érték
	nem cross-overes		cross-overes			
	Pointed	beaded	Pointed beaded	normalis típus		
252	97	95	21	27	240	20-0
197	76	70	14	20	180	18-8
231	87	81	19	23	210	20-0
Összesen : 680	260	246	54	70	630	19-2
Theoretikusan számított :	271	271	67	67		

9. táblázat.

$$\frac{Px +}{+ be} \text{♀} \times P \text{♂}$$

Nőstények	H í m e k				Összes hímek	Crossing over érték
	nem cross-overes		cross-overes			
	Px	beaded	Px beaded	++		
193	59	77	14	20	170	2-00
219	72	85	18	20	195	19-4
161	56	59	12	15	142	19-0
Összesen : 573	187	231	44	55	507	19-5
Theoretikusan számított :	204	204	49	49		

14

THE SEX INCIDENCE OF CHIASMA FREQUENCY AND GENETICAL CROSSING-OVER IN THE MOUSE

BY

F. A. E. CREW AND P. CH. KOLLER

FROM JOURNAL OF GENETICS, VOL. XXVI. No. 3,
pp. 359-383, DECEMBER, 1932



CAMBRIDGE
AT THE UNIVERSITY PRESS

PRINTED IN GREAT BRITAIN



THE SEX INCIDENCE OF CHIASMA FREQUENCY AND GENETICAL CROSSING-OVER IN THE MOUSE.

BY F. A. E. CREW AND P. CH. KOLLER.

(*Institute of Animal Genetics, University of Edinburgh.*)

(With Plates XXXII and XXXIII and Seventeen Text-figures.)

CONTENTS.

	PAGE
I. Introduction	359
II. Material and technique	359
III. The somatic chromosome complex and mitosis	360
IV. Meiosis and Janssens' partial chiasmatype hypothesis	364
V. The sex-chromosome mechanism during meiosis	371
VI. Relation of chiasma frequency to crossing-over	375
VII. Summary	381
References	381
Explanation of plates	383

I. INTRODUCTION.

THE many studies of the chromosomes of the mouse have been concerned mainly with their number or with the sex-chromosome constitution. Tafani, as early as 1889, had given 20 as the haploid number, whilst Sobotta (1895) found 16, and Gerlach (1906) 12. With improvements in cytological techniques, Long (1908), and more recently Painter (1926, 1927, 1928) and Cox (1926), have been able to show conclusively that the number is 20 in the haploid state and that in this form male heterogamety exists.

The investigation now to be described deals with the chromosome behaviour during mitosis and meiosis. It is an application and extension of the results obtained by Janssens, Belling, Belar and Darlington, using other material, and was directed particularly to an examination of the partial chiasmatype hypothesis as enunciated by Janssens (1909-24) and modified by Darlington (1931, 1932 *b*).

II. MATERIAL AND TECHNIQUE.

The mice used were genetically closely related, their ages at the time at which the tissues were removed ranging from 1 day to 10 months. In order to obtain clear pictures of mitotic divisions, 1-3 days old mice were used, and it was found that the hair follicles and rapidly growing testicular tissues were best for this purpose. Tissue from a mouse spon-

360 *Chiasma Frequency and Crossing-over in the Mouse*

taneous tumour was also used for the study of mitosis, of chromosome behaviour, and particularly for the demonstration of the relation between the chromosome and the spindle fibre. The animals which provided the material for a comparison of chiasma frequency in male and female were of the same age.

The technique used for the study of spermatogenesis was that of La Cour (1931). It was employed both in the case of smears and of sections. The smear proved to be rather unsatisfactory in the case of oögenesis owing to the fact that only in a small number of folliculi could the reduction process be observed. The fixatives for smears and for sections were strong and medium Flemming, a combination of Navashin and 2 BE (La Cour), Carnoy and 2 BD (La Cour). For smears the medium Flemming proved to be the most satisfactory, especially for demonstrating metaphase, whilst for the early prophase stages and for diplotene, 2 BD (La Cour), was excellent.

The stain used was gentian violet standard stain diluted to 3 in 1 in distilled water. (A description of the use of this is given by La Cour, 1931.) Animal chromatin, when stained with gentian violet, would seem to fade more quickly than that of plants. However, the slides can be re-stained at any time without damage; this is not a serious objection.

The bulk of the material used was embedded in wax, and the sections were 12, 16, 20 μ in thickness. It was found that the stain could penetrate a section even 30 μ thick quite easily, whilst iron haematoxylin does not penetrate nearly so far. Thickness is necessary in cytological work of this nature, since the chromosomes do not all lie in one and the same plane.

Drawings were made with an H.I. 90, 1.30 apochromate oil-immersion objective, a $\times 18$, $\times 25$, $\times 30$ compensating eyepiece and a Zeiss camera lucida. The drawings were made at an initial magnification of about 3500, 4200 and 5500 diameters respectively in most of the cases.

III. THE SOMATIC CHROMOSOME COMPLEX AND MITOSIS.

It was found that in the female as well as in the male the diploid number of chromosomes was 40 (Text-fig. 1, *A*, *B* depicts the metaphase plate of mitosis in the male and female respectively, and the same chromosome set in each case is arranged in a series depicted in Text-fig. 2, 1-20). The No. 1 pair of the somatic chromosomes is considerably larger than the others. The 18th and 19th pairs are the smallest. Pair No. 20 consists of equal mates in the female and of unequal mates in the male. For this reason it was assumed that in the male these were the sex-

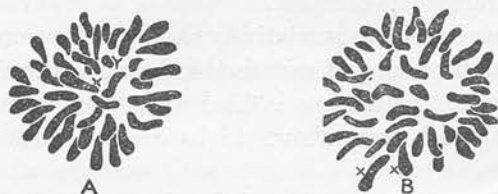
chro
whic
is or
thes
from
soma
chro:

chro
large
mito:
some
it wa
the c
mark
How
game
soma
It
the p
the c
attac
(Text

A
B
T

const
is mc

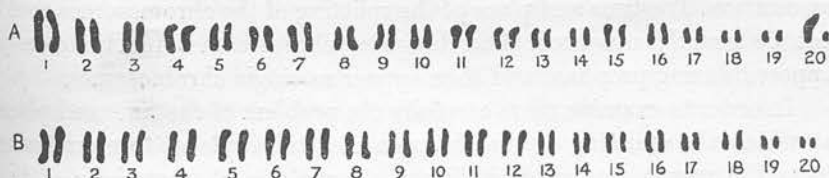
chromosomes. This chromosome complex contains an X and a Y which differ greatly in size. In metaphase mitosis the Y in the male is one of five single short chromosomes: in the female only four of these can be discerned. The X -chromosomes cannot be distinguished from the autosomes by differences in size or shape, but during the somatic division the X sometimes shows precocious condensation. The chromosomes designated as XX 's in Text-fig. 1 B are the two largest



Text-fig. 1. Somatic metaphase (A) in the male, (B) in the female. $\times 3500$.

chromosomes in the metaphase plate, but in both male and female the largest and longest chromosome has its mate. When, during prophase of mitosis, the fine chromosome threads begin to contract and the chromosomes become thicker, perhaps by taking up fluid from the nuclear sap, it was observed that one of the chromosomes contracted in advance of the others. During meiosis the precocious contraction was even more marked. For this reason this chromosome was regarded as the X . However, the homogametic constitution of the female and the heterogametic constitution of the male were definitely demonstrable in the somatic complexes.

It has been established that with reference to a given chromosome the point of attachment of the spindle fibre is constant. At this point the chromosome is thinner than elsewhere. In the mouse the primary attachment constriction is practically terminal in all the chromosomes (Text-fig. 2). For the demonstration of the position of this attachment



Text-fig. 2. The somatic chromosome complex of (A) the male and (B) the female arranged in series alignment. $\times 3500$.

constriction in most plants, it has been found that somatic metaphase is most fruitful. In the mouse, however, the chromosomes being small

and short, it is difficult to identify the exact position of the attachment constriction in mitosis, but the anaphase figuration of the bivalent during meiosis revealed the loci of the spindle fibre attachment constriction quite clearly. Secondary constrictions were observed in two of the longer pairs of the somatic chromosomes (Text-fig. 2, 1st pair). It is suggested that the uniformity and the relatively small size of the chromosomes are responsible for the scantiness of data regarding the morphology of the somatic chromosome complex.

The prophase in mitosis is relatively short and its course is somewhat obscure. At the beginning of mitosis the chromosomes are presented as long, thin threads. The nucleus is filled with these threads or else with small granules which were shown to be cross-sections of the mitotic chromosomes.

Condensation and contraction of the chromosomes preceded the beginning of *metaphase*, in which the strongly contracted chromosomes are lying in the equatorial plate. In some cases the larger chromosomes are grouped in a circle within which the small ones lie scattered. The end of the chromosome where the spindle fibre attachment is located, is turned towards the centre, and the distal end of the chromosome lies without the spindle figure. In a few cases, lagging of certain chromosomes was found, such chromosomes lying far from the metaphase plate and scattered in the cytoplasm. The observation of certain cells with an aneuploid chromosome number indicates that these lagging chromosomes do not segregate and are lost during cell division.

The doubleness of the metaphase chromosomes could not be observed until *anaphase* when the separation of the daughter chromosomes takes place. In certain cases, especially in sections of the rapidly growing hair follicles, lagging chromosomes were observed in anaphase (Text-fig. 3 A). These chromosomes were sometimes held together in pairs, the ends of the chromosomes distal to the attachment constriction remaining in association. The time and place of the splitting of the chromosomes could not be exactly observed. The daughter chromosomes remain closely apposed during prophase and thus appear as single chromosomes.

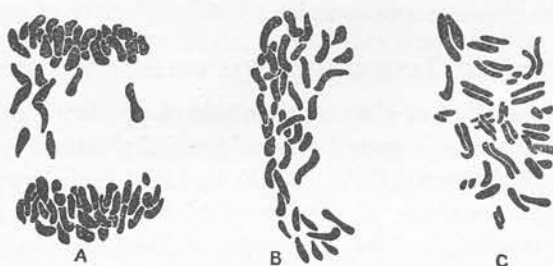
In order to examine more carefully the problem of the time and place at which the splitting of the chromosomes takes place, tumour tissue from the mouse was studied. The most striking characteristic of the cytological character of the dividing tumour cell is the aneuploid chromosome number (Text-fig. 3 B shows a tumour cell just after metaphase). The chromosomes are seen not to be grouped as in normal metaphase, but are widely scattered in the cytoplasm. The number of chromosomes

in th
numl
in gr
cell v
abno:
poly
were
in pa
was c
daugl
they
nucle
phase

Text-fig.
a c
ch

in sec
with i
Th
defini
Th
eviden
havior
in vis
the be
Exper
presse
festly,
chrom
the cl
observ
of the

in this particular case is either 38 or 39. In other cases the chromosome number deviated more widely from the normal 40. Winge (1930) dealt in great detail with this phenomenon. The spindle of the dividing tumour cell was either completely absent or else showed irregularities. Such abnormality of the spindle no doubt is responsible for the irregular or polyploid chromosome number found in such cells. Double chromosomes were observed in many cells during metaphase. They were thin and lay in pairs close together as is shown in Text-fig. 3 *C*. Such a condition was observed by Ludford (1930). These chromosomes are assumed to be daughter chromosomes already separated, but the spindle being absent, they have not segregated to the opposite poles to give rise to daughter nuclei. This irregular behaviour of the chromosome complex in metaphase resembles in appearance the secondary pairing which was described



Text-fig. 3. (*A*) Somatic anaphase with lagging chromosomes, (*B*) somatic metaphase of a dividing tumour cell, (*C*) anaphase in tumour cell without segregation of the split chromosomes. Only a part of the whole complex figured. $\times 3500$.

in secondary polyploids by Lawrence (1931) and must not be confused with it.

The doubleness of the chromosomes at the end of prophase furnishes definite proof that the chromosomes do not split in metaphase but earlier.

The studies of mitosis in the case of tumour cells seem to afford evidence concerning the biochemical mechanism controlling the behaviour of the spindle. It has been shown that during division changes in viscosity occur in the cytoplasm, and Heilbrunn (1928) observed that the beginning of cell division followed upon the gelation of the cytoplasm. Experimentally, this gelation process could be delayed or even suppressed, with the result that the ensuing division was irregular. Manifestly, a normal cytoplasmic environment is a pre-requisite to normal chromosome behaviour. If the environment is changed the behaviour of the chromosomes becomes adapted to the change. Chambers (1924) observed that this gelation increases during metaphase. This condition of the cytoplasm is necessary for the development of the spindle. In

the case of a tumour cell it seemed that the viscosity of the cytoplasm was such that the spindle could not develop, and thus chromosome irregularities resulted. The polyploid chromosome number is a reflection of unusual cytoplasmic viscosity, which therefore would seem to be the cause for continuous rapid division and consequent rapid growth of the cancerous tissue. An abnormal chromosome number seems to further stimulate cell division. The same argument would seem to apply to the case of the mouse carcinoma cultivated *in vitro* (Goldschmidt and Fischer, 1929).

These observations seem to show that the splitting of the mitotic chromosomes takes place before metaphase, that the spindle development is conditioned by the biochemical constitution of the cytoplasm, and, finally, that the division rate is determined genetically by the genic balance in the chromosome complex.

IV. MEIOSIS AND JANSSENS' PARTIAL CHIASMATYPE HYPOTHESIS.

The interpretation of chromosome behaviour during meiosis that is here employed is based upon Janssens' partial chiasmatype hypothesis as revised by Darlington (1930 *a*, 1932 *b*), and the terminology used is that used by the latter author. The events in both male and female gametogenesis were studied, but for the prophase stages spermatogenesis was the more profitable, though in a few cases diplotene stages were observed also in the female.

The initial stage of prophase in the first spermatocyte is the *leptotene* stage in which the chromosomes appear as fine long threads lying scattered in the nucleus and showing no polarisation as in the case of *Dendrocoelum* (Gelei, 1922) or in *Stenobothrus* (Darlington and Dark, 1932). The nucleolus or nucleoli are seen very distinctly, usually at the side of the nucleus. The leptotene threads are very thin and show beaded clumps of chromosome material. Their great number indicates that each of these threads must represent a single "primitive" chromosome. The pairing of the homologous chromosomes takes place in the next stage, the *zygotene*. The association of the leptotene threads begins at the end, probably at or near the attachment constriction: it certainly is not at random. Similar behaviour of the homologous leptotene threads has been described in the Tettigidae by Robertson (1931). The association of the chromosome threads proceeds during *zygotene* until the homologous threads are paired along their whole lengths. Thereafter follows the *pachytene* stage in which, since the number of the threads is reduced to half, observation is easier. The lengths of these paired threads differ.

This
chron
obser
in siz
lepto
threa
in pa
threa
contr
when
longit
prese
chron
the t
lepto
in zy
stage
somes
stage.
Cl
excha
sponc
hypot
locate
accor
by th
associ
somes
close
mitot
matid
E:
lieved
to be
derive
The e
to ref
adopt
chiasr
crossi

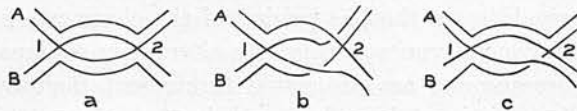
This difference is probably due to differences in the lengths of the original chromosomes. This assumption is rendered more valid by the previous observation on the somatic chromosome complex where dissimilarities in size were observed. The threads in pachytene are thicker than in leptotene and in zygotene, even in those regions where the zygotene threads are already paired. The thickness of the meiotic chromosomes in pachytene is not to be accounted for by the double size of the leptotene threads. It would seem that, as pairing of the chromosomes proceeds, contraction advances synchronously. An alternative explanation is that when the chromosomes are associated throughout their whole length longitudinally, splitting takes place and, instead of two threads being present in each, there are four chromatids. However, the fact that the chromosomes are shorter as well as thicker in pachytene, indicates that the thickening is probably due to contraction. The fact that the long leptotene chromosomes are single, and remain single during their pairing in zygotene, and furthermore the evidence of the succeeding *diplo*tene stage where the four chromatids appear, show clearly that the chromosomes must be divided into two chromatids at the end of the pachytene stage.

Chromosome division is accompanied or followed immediately by exchange of parts amongst the partner chromatids. This exchange corresponds to genetical crossing-over according to Janssens' (1909, 1924) hypothesis, and determines genetical segregation of the genes which are located in the chromosomes. The "mitotic affinity" of chromosomes, according to the precocity theory (cf. Darlington, 1931), is satisfied by the pachytene pairing when the homologous chromosome threads associate in pairs. In the pachytene stage, however, the paired chromosomes split and so four instead of two threads are now to be found in close association. This association of the four chromatids disturbs the mitotic affinity between chromosomes, and the result is that the chromatids fall apart in pairs, sister chromatids remaining in association.

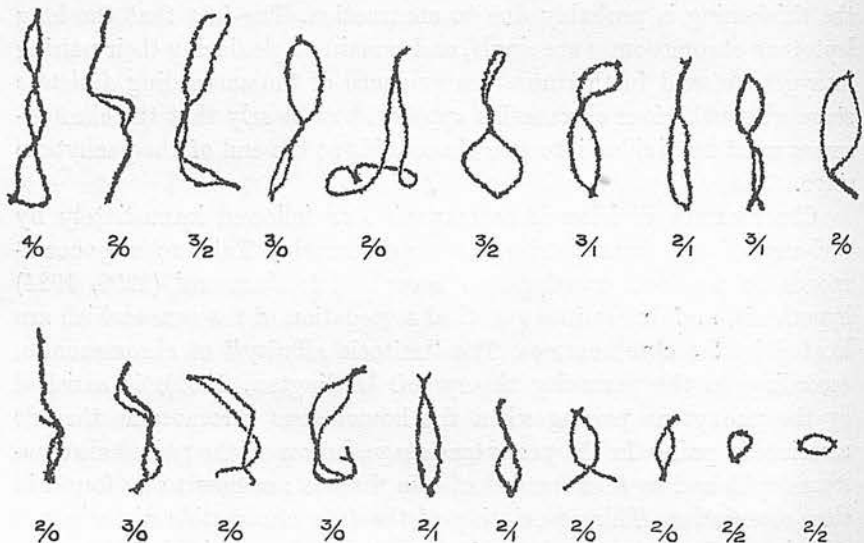
Exchange of segments between the homologous chromatids is believed to take place before diplotene, the diplotene chiasmata are believed to be due to the tendency of identical chromatids, that is chromatids derived from the same somatic chromosome, to remain in association. The exchanges of partner amongst the chromatids at diplotene are held to reflect the previous interchange of segments. Darlington (1931) has adopted Janssens' partial chiasmotype hypothesis and has given to a chiasma the following definition: "a chiasma is constituted by genetical crossing-over between two of the four chromatids taking part in it, and

366 *Chiasma Frequency and Crossing-over in the Mouse*

by association at diplotene between chromatids derived from the same chromosome." The different types of chiasmata are illustrated in Text-fig. 4 (cf. Sansome and Philp, 1932). The diplotene loops between the chromosomes separated by these chiasmata, result from repulsion between pairs of chromatids. In the mouse the chiasmata at diplotene are formed at random. However, in the case of *Mus norvegicus*, a closely



Text-fig. 4. Diagram illustrating the compensating (a, b) and non-compensating (c) chiasma formation. (a) represents the reciprocal, (b) complementary, (c) diagonal type. A and B indicate the chromosomes.



Text-fig. 5. Drawing of complete chromosome set during diplotene. The total number of chiasmata and the number of terminal chiasmata are given under each bivalent. Note the pairing of X- and Y-chromosomes (first in the second row) by two interstitial chiasmata. $\times 3500$.

related species, Minouchi (1929) found localised chiasmata. The number of chiasmata in diplotene differs in the case of different chromosomes and in part it seems to be related to the size of the chromosome. The short chromosomes mostly present two chiasmata, whilst the largest show four to five. But the size of the chromosome is not the only factor in determining chiasma frequency, as was pointed out by Darlington and Dark (1932). Text-fig. 5 illustrates the entire complex of the

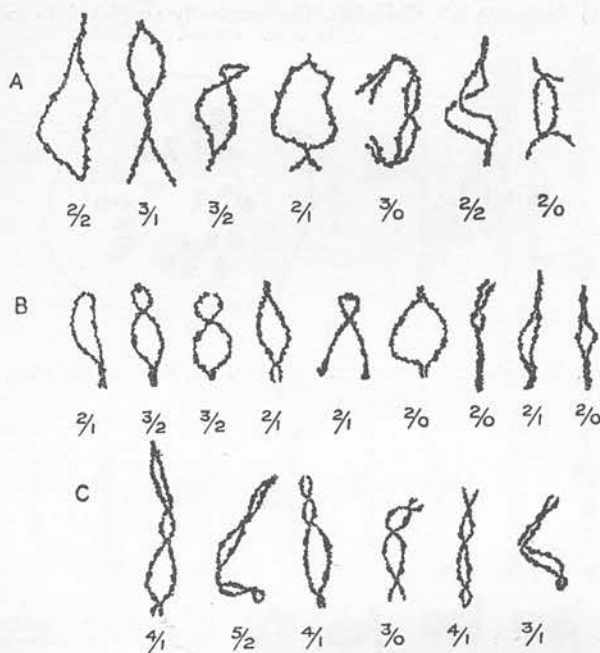
20 bi
disple
ciatio
the n
TL
early
tracti
nucle
fig. 7

Tex

as in d
of the
be dis
still pr
of the
diakin
diplote
be due
to the

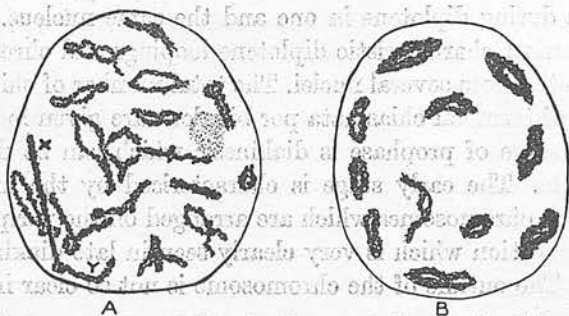
20 bivalents during diplotene in one and the same nucleus. Text-fig. 6 displays the most characteristic diplotene loopings and chromatid association collected from several nuclei. The total number of chiasmata and the number of terminal chiasmata per bivalent are given in each case.

The last stage of prophase is diakinesis which can be divided into early and late. The early stage is characterised by the marked contraction of the chromosomes which are arranged on the periphery of the nucleus, a condition which is very clearly seen in late diakinesis (Text-fig. 7 *A, B*). The outline of the chromosome is not so clear in diakinesis

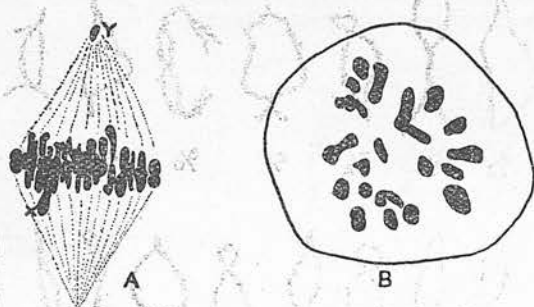


Text-fig. 6. Drawings of diplotene bivalents from several nuclei. *A* and *B* series were taken from spermatogenesis, *C* from oögenesis. $\times 3500$.

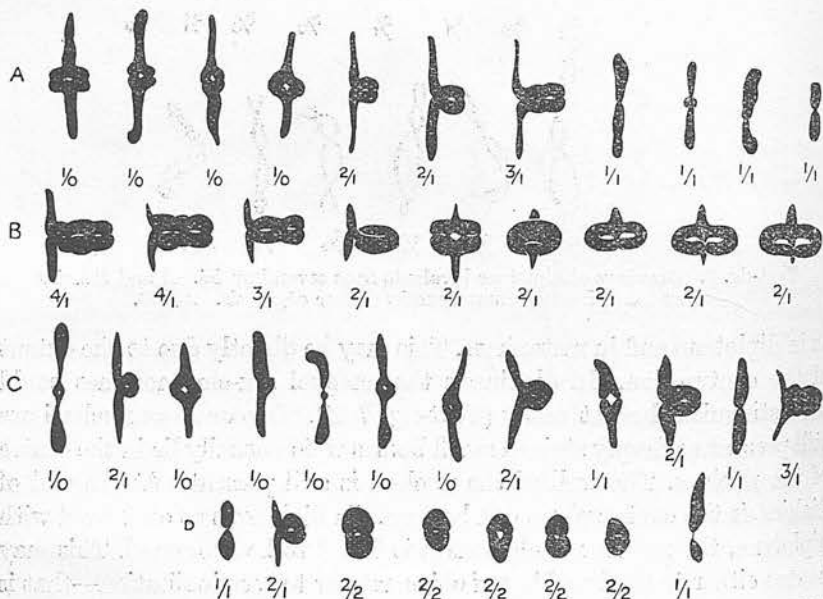
as in diplotene and in metaphase. This may be directly due to the extent of the contraction. In diakinesis the unequal sex-chromosomes could be distinguished most easily (Text-fig. 7 *A*). One or more nucleoli are still present as deeply stained small bodies which usually lie in the centre of the nucleus. The wall of the nucleus is still present. At the end of diakinesis the centrosphere can be seen. In diakinesis as compared with diplotene, the number of chiasmata is found to be decreased. This may be due either to the breaking of chiasmata or to terminalisation—that is to the movement of the chiasmata toward the end of the chromosome



Text-fig. 7. (A) Early, (B) late diakinesis. The terminally associated X- and Y-chromosomes can be seen. $\times 3500$.



Text-fig. 8. Metaphase during spermatogenesis. (A) side, (B) top view. $\times 3500$.



Text-fig. 9. Metaphase bivalents, A and B from female, C and D from male. The complete chromosome set illustrated. $\times 3500$.

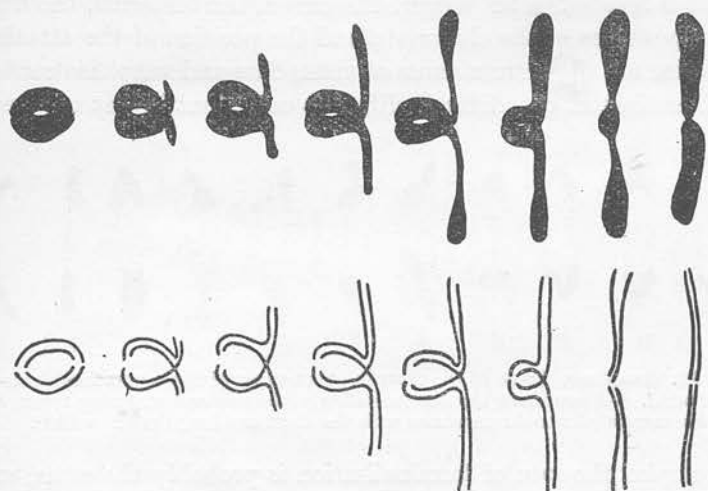
awa
meic
] the
in tl
tion
are
chia
feme
arra

Text-f
m
oc

termi
stitut
of the
some
do no
chror
T
mina
featu
(1927
recog
forms

away from the attachment constriction. With diakinesis the prophase of meiosis is ended.

The next stage is *metaphase*. The wall of the nucleus disappears and the nucleolus or nucleoli can no longer be seen. The bivalents are arranged in the metaphase plate (Text-figs. 8, 14) and show different configurations, the result of chiasma formation and movement. Many of them are connected only by terminal and others by subterminal or interstitial chiasmata. Text-fig. 9 shows one whole chromosome complex from the female and from the male respectively. The metaphase bivalents are arranged in series and the total number of chiasmata and the number of



Text-fig. 10. Drawings of different types of metaphase bivalents as resulting from terminalisation. Under each bivalent is given the probable interpretation of chromatid constitution.

terminal chiasmata are given for each bivalent. The chromosome constitution and chiasma frequency of the bivalents are interpreted in terms of the partial chiasmotype hypothesis. The points at which the chromosomes are held together in metaphase are the chiasmata, but these points do not necessarily represent the actual loci where interchange of partner chromatids takes place, owing to terminalisation having occurred.

Text-fig. 10 illustrates different bivalents obtained by partial terminalisation of two chiasmata. It shows clearly the characteristic features which are depicted in the illustrations in the paper by Painter (1927) and Cox (1926). Amongst these metaphase bivalents can be recognised the so-called bowler hat, cowboy hat, Derby hat, air propeller forms. The terminal associations of bivalents must have had their be-

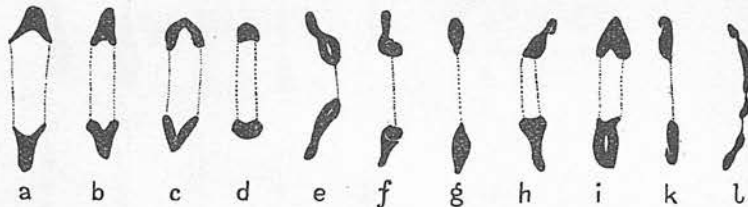
× 3500.



The complete

370 *Chiasma Frequency and Crossing-over in the Mouse*

ginning as interstitial chiasmata, for their origin as terminal chiasmata would negative the assumption that a chiasma arises always by exchange of partners. As in other organisms, furthermore, in the same complex, terminal chiasmata are more frequent in the small bivalents than in the long ones as a consequence of the movements of chiasmata. The shorter chromosomes terminalise in advance of the longer; therefore, it is probable that the rate of terminalisation is the same in the case of all bivalents. Painter (1927) also observed precocious separation of the short chromosomes in metaphase of the mouse. It is to be concluded, therefore, that terminalisation is completed in the short chromosome before it is finished in the longer. The size of the bivalents, the number and the positions of the chiasmata and the position of the attachment constriction are the determinants of metaphase and anaphase configuration. These factors can differ in different cases, but in any one and the



Text-fig. 11. Anaphase. Some of the most frequent types of the separating bivalents are illustrated. *a-h* represent the compensating, *i* the non-compensating types, *k* and *l* are the associated sex-chromosomes with the short and long limbs. $\times 4200$.

same complex the rate of terminalisation is probably the same, except when it is arrested by non-homologous or inverted segments inserted into the chromosomes. Since it may be assumed that the mice which provided the material for this study were genetically similar, it follows that differences in the genotype cannot be responsible for differences in the rate of terminalisation.

The type of the chiasmata formed in diplotene was inferred from the anaphase configurations. When two chiasmata are present (Text-fig. 4 *a, b*) and the second chiasma restores the association of chromatids which was lost at the first chiasma, then the chiasmata are said to be compensating; the other type is the diagonal or non-compensating type (Text-fig. 4 *c*), where the second chiasma does not restore the original association. Darlington and Dark (1932) found in *Stenobothrus* that the compensating relationship is favoured at the expense of the non-compensating. In the case of the mouse the non-compensating type was revealed by the separating bivalents at anaphase (Text-fig. 11 *i*).

S
meta
brea
1932
case
I
The
valer
bival
lie or
separ
nised
T
Text-

Text-fig

lose ti
shows
X and
betwe
at the
chrom
interp
an int
logical
geneti

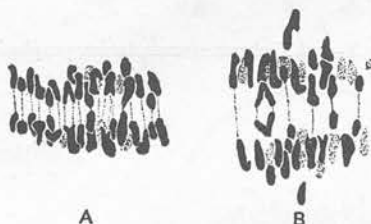
Pai
cases.
Text-fi
phase.
investi

Jou

Sax (1930) argues that the decrease in number of chiasmata at metaphase results from the breaking of the diplotene chiasmata, but this breakage hypothesis has been seriously attacked by Darlington (1931, 1932 *b*). Its inability to explain differences in chiasma frequency in the case of male and female respectively will be discussed later.

In one case interlocking of bivalents during metaphase was observed. The four attachment constrictions showed that there must be two bivalents associated in one configuration. Cases were found in which the bivalents are pulled apart by the spindle so that some of them come to lie outside it. In other cases the chromosomes, being of an unequal size, separated precociously in the metaphase plate. These bivalents are recognised as the sex-chromosomes (Text-fig. 14 *A*).

The actual separation of the bivalents takes place at anaphase. Text-fig. 12 *A, B* depicts this separation at different stages. The bivalents



Text-fig. 12. (*A*) and (*B*) illustrate two different stages of anaphase. The bivalents are separating at a different rate. $\times 3500$.

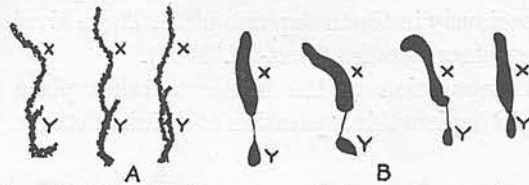
lose their close association and segregate to the opposite poles. Fig. 11 shows the most frequent configuration of the separating bivalents. The *X* and the *Y*, however, sometimes remain in the metaphase plate, lagging between the two groups of chromosomes (Text-fig. 14). The chromosomes at the pole fuse closely together and form a very compact mass of chromatin so that individual chromosomes can no longer be observed at interphase in the secondary spermatocytes. The separated bivalents after an interval begin to divide, and this second division is equational cytologically, although on the chiasmatype hypothesis it is in part reductional genetically.

V. THE SEX-CHROMOSOME MECHANISM DURING MEIOSIS.

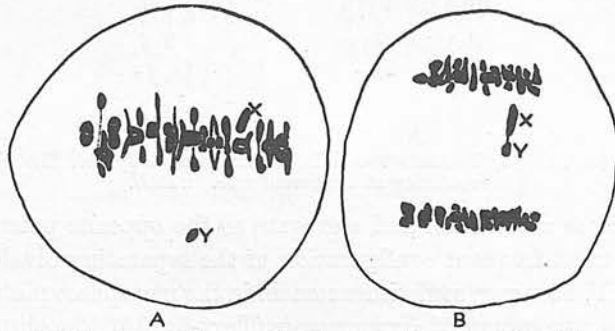
Pairing of the sex-chromosomes was observed at prophase in three cases. In two cases the sex chromosomes paired by interstitial chiasmata. Text-fig. 13 shows the pairing of the *X* and *Y* in diplotene and metaphase. The associations are similar to the figures of Painter (1927) who investigated non-disjunctional *v-o* males of Gates' Japanese waltzing

372 *Chiasma Frequency and Crossing-over in the Mouse*

stock and found two paired heteromorphic groups, one of which was the sex-chromosome pair *XY*. In diakinesis the pairing of the *X* and *Y* was similarly observed (Text-fig. 7). Painter remarks that the *Y* was attached to the end of the *X* (Painter, 1927, Text-fig. 13) and lay parallel to it on one side. In many instances the sex-chromosomes separate in advance of the autosomes. In some, however, they remain in association even after metaphase. Text-fig. 14 *B* shows an instance in which they were connected by a thin terminal chiasma and lagged behind the autosomes. The metaphase pairing of the *X* and *Y* is an indication that these



Text-fig. 13. Pairing of the *X*- and *Y*-chromosomes during prophase and metaphase. $\times 4200$.



Text-fig. 14. (*A*) Metaphase with precociously separating *X* and *Y*. (*B*) Anaphase with lagging *X*- and *Y*-chromosomes. $\times 3000$.

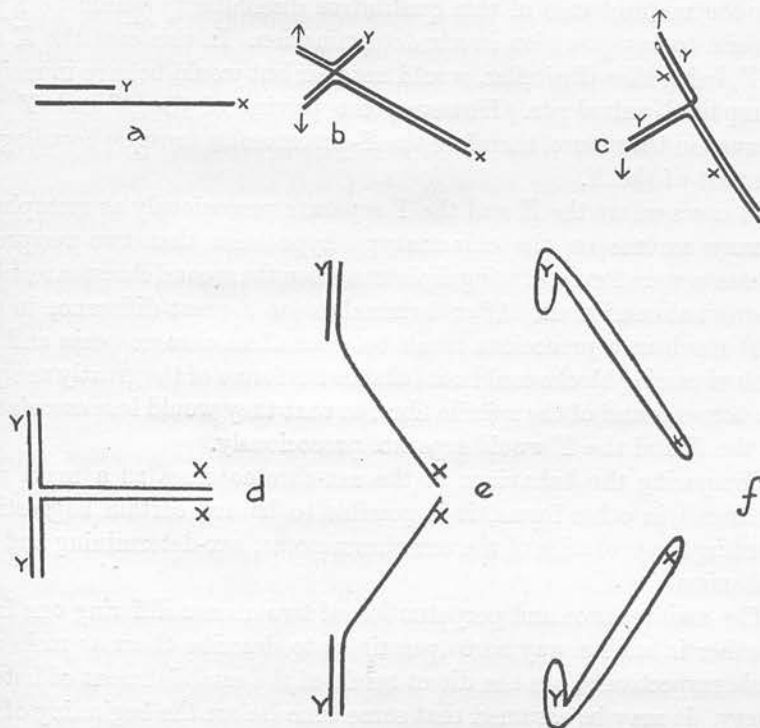
chromosomes pair during prophase. In certain instances the sex-chromosomes pass through the prophase in advance of the autosomes, showing precocious condensation and disjunction (Text-fig. 14 *A*); this could not be due to structural dissimilarity only, but also to some qualitative difference between the sex-chromosomes and autosomes.

According to Darlington, the metaphase pairing of chromosomes is always by chiasmata, that is by exchanges between partner chromatids. If the *X* and the *Y* are of unequal size, then, when they pair by exchange, their chromatids will be interchanged and the prophase pairing will sometimes give rise at metaphase to bivalents consisting of unequal chromatids. Text-fig. 15 illustrates the pairing and interchange in the

case
the
chro
by]
shor
with
unec

Text-fi
to ass
takes
with
two b
with t
repres
Ac
assum
the au

case of chromosomes unequal in size. Commonly in metaphase where the number of bivalents found was 20, the association of the unequal chromosomes *X* and *Y* was not to be recognised. This was found already by E. Cox (1926). In other cases, bivalents with one long and one short limb were observed (Text-fig. 11 *k*). These two facts, together with the observation that precocious separation and lagging of the unequal sex-chromosomes was relatively infrequent, rather permit one



Text-fig. 15. Diagram illustrating the pairing of *X*- and *Y*-chromosomes by interstitial chiasma. Cf. *e* and *f* with *k* in Fig. 9.

to assume that exchange of partner chromatids of the sex-chromosomes takes place during prophase. In the second anaphase the chromosomes with unequal chromatids will divide and segregate and will give rise to two kinds of gametes or spermatids, those with the long *X* and those with the shorter *Y*, in equal numbers. Thus, the second anaphase would represent the reductional separation for the *X* and *Y*.

According to the partial chiasmotype hypothesis, it is necessary to assume that the paired sex-chromosomes are qualitatively different from the autosomes, though not amongst themselves. The exchanges between

the unequal sex-chromosomes would result in the elimination of any qualitative differences in the pairing segments, though they do not destroy quantitative dissimilarity. Thus it can be concluded that it is the quantitative difference between the sex-chromosomes of the mouse rather than the qualitative, which is more concerned with sex determination: a view which is in close agreement with the genic balance theory of Bridges (1925). If the *X* and the *Y* differ in their internal structure, then the maintenance of this qualitative dissimilarity would be a prerequisite to any precision in sex determination. In this case the *X* and the *Y*, being thus dissimilar, would not pair but would behave in meiosis as unpaired univalents. However, the pairing of the *X* and *Y* was observed in the mouse, therefore the *Y*-chromosome must be homologous with part of the *X*.

In cases where the *X* and the *Y* separate precociously at metaphase, we may assume on the chiasmotype hypothesis that two reciprocal chiasmata were formed during diplotene when the second chiasma restored the original conditions. After terminalisation a great difference in size might result in a precocious break between these chromosomes and the terminal pairing blocks could not balance the forces of the greatly unequal chromosomes and of the spindle fibre, so that they would lose association and the *X* and the *Y* would separate precociously.

Comparing the behaviour of the sex-chromosomes as a mass with that found in other forms, it is possible to hazard certain suggestions regarding the evolution of the sex-chromosome, sex-determining and the mechanism.

The maintenance and perpetuation of two classes differing one from the other in such a way as to permit us to describe them as male and female respectively, are the direct result of the establishment of heterogamety. It may be assumed that some time before the beginning of the evolution of the sex-chromosomes there were genes, as yet having no physical relationship one to the other, and that their distribution from generation to generation was haphazard. Then would come the development of the gene aggregates to form the chromosomes. Mitosis would come into being to give a precise distribution of these chromosomes. Meiosis, an advantageous modification of mitosis, would then be developed later to be restricted to certain stages of gametogenesis. Following upon this would come the differentiation of the chromosomes. At first there would be pairs, all of them more or less alike in external structure, but within them qualitative differences would arise. At this stage crossing-over would be possible and would occur between the members

of a
pro
] pair
wou
its c
to a
becc
men
mar
som
only
deve
sex-t
Tha
hom
wou
the
smal
of tl
who
bala

C
pairs
as tl
diplc
chan
phas
and
the p
away
chias
repre
chias
stage
T
(1924
regar

of all the pairs, and so no particular gene association would possess the property of permanence.

Next would come the accumulation of qualitative differences in one pair of the chromosomes so that a genic balance of a particular kind would become established. In respect of the power to influence sex and its characters, one pair of chromosomes would become more or less equal to all the rest. The sex-chromosomes and the autosomes would thus become contrasted. Then, through continued crossing-over, the two members of the sex-chromosome pair would become qualitatively and markedly different one from the other so that two sex-chromosomes, derived from different sources, would now be able to pair only in restricted portions of their lengths. Later there would be the development of quantitative differences between the members of the sex-chromosome pair, and the *Y*-chromosome would come into being. That part of one of the sex-chromosomes which, because of a non-homology, could not pair with the corresponding portion of the other would be deleted so that there would remain an *X*-chromosome and a *Y*, the latter being homologous with only a portion of the *X* and much smaller than the *X*. This is the case in the mouse. Finally, the whole of the *Y*-chromosome would be deleted. Deletion of a part or of the whole of a chromosome in this way would lead to disturbances in genic balance and so yield unusual features in inheritance.

VI. RELATION OF CHIASMA FREQUENCY TO CROSSING-OVER.

Chiasmata at diplotene are loci where the exchange between the two pairs of partner chromatids occurs. These loci are believed to be the same as those of genetical crossing-over. In early prophase, especially at diplotene, the chiasmata must represent the actual places where interchange between the chromatids takes place. At diakinesis and metaphase the number of the chiasmata decreases. This decrease in number, and the alteration in position of the chiasmata, are brought about by the process of terminalisation—that is, by the movement of the chiasmata away from the attachment constriction. It follows, therefore, that the chiasmata in the later stages of prophase and at metaphase do not represent the actual sites of interchange. Nevertheless, the number of chiasmata at metaphase gives an indication of their frequency in earlier stages, and so, presumably, of the frequency of crossing-over.

The detailed accounts given by Dunn (1920), Castle and Wachter (1924), Castle (1925), Detlefsen (1925), Wachter (1927) and Cuénot (1928) regarding the crossing-over value between the factors for albinism and

376 *Chiasma Frequency and Crossing-over in the Mouse*

for pink eye in the mouse and the differences in sex incidence of crossing-over, permit us to relate chiasma frequency to frequency of crossing-over. The number of chiasmata at diplotene which actually represent the loci of crossing-over according to the partial chiasmatype hypothesis is, of course, the most convenient measure for crossing-over in male and female respectively. The direct observation of the diplotene chiasma frequency was found to be difficult since, in most of the cells, only 15, 16 or 17 bivalents were to be observed. Only one cell was found in the male at diplotene in which the whole chromosome complex with chiasmata could be counted (Text-fig. 5). The total number of chiasmata and the number

TABLE I.

Chiasma frequency of the female and male mouse at diplotene.

Sexes	Number of bivalents with						Total No. of chiasm.	Total term. chiasm.	Mean X/biv.	No. of TX/biv.	Term. coeff.
	1 X	2 Xta	3 Xta	4 Xta	5 Xta	6 Xta					
Female	8	10	11	8	3	2	120	39	2.8	0.92	0.32
Male	7	38	35	5	—	—	208	78	2.4	0.91	0.33

X = chiasma; Term. = terminal; X/biv. = chiasma per bivalent; TX/biv. = terminal chiasma per bivalent; Term. coeff. = terminalisation coefficient.

TABLE II.

Chiasma frequency of the female mouse at metaphase.

No. 2 is illustrated in Text-fig. 9 A, B.

No. of cell	Number of chiasmata				Total No. of chiasm.	Term. chiasm.	Mean No. of chiasm.	Term. coeff.
	1	2	3	4				
1	4	13	1	2	41	14	2.0	0.34
2	8	8	2	2	38	16	1.9	0.40
3	7	10	2	1	37	19	1.8	0.51
4	6	11	1	2	39	17	1.9	0.43
5	4	12	2	2	42	20	2.1	0.50
Total	29	54	8	9	197	86	1.97	0.43

of terminal chiasmata are given for each bivalent. The chiasma frequency was found to be 2.4 per bivalent, the terminalisation coefficient being 0.27. More probable data given in Table I were obtained by employing Darlington's method on *Fritillaria* (1930 b). The chiasma frequency at diplotene is 2.8 in the female and 2.4 in the male.

The chiasma frequency at metaphase in the female and also in the male was next studied, and the results are given in Tables II and III. The chiasma frequency is 1.9 for the female, and 1.4 for the male. The animals used were from the same litter, of the same age, and of the same genetic constitution in respect of modifying genes. The observed differences in chiasma frequency during metaphase suggests that this exhibits a sex dimorphism in the early as well as in the late stages. The

difference between male and female is remarkable. It cannot have resulted from different rates at terminalisation in the two sexes, since the number of terminal chiasma per bivalent is the same at diplotene in both sexes.

The chiasma frequency at metaphase of a six-weeks old mouse was estimated. This animal was from a different stock. Table IV gives the results and shows that the chiasma frequency per bivalent is 1.6 and the terminalisation coefficient is 0.61. The percentage of the bivalents

TABLE III.

*Chiasma frequency of the male mouse at metaphase.
No. 3 is illustrated in Text-fig. 9 C, D.*

No. of cell	No. of chiasmata				Total No. of chiasm.	Term. chiasm.	Mean No. of chiasm.	Term. coeff.
	1	2	3	4				
1	7	12	1	—	34	20	1.7	0.58
2	11	9	—	—	29	21	1.4	0.63
3	10	9	1	—	31	19	1.5	0.61
4	13	7	—	—	27	20	1.3	0.74
5	14	6	—	—	26	20	1.3	0.76
Total	55	43	2	—	147	100	1.47	0.67

TABLE IV.

Chiasma frequency of a young male mouse (6 weeks old) at metaphase.

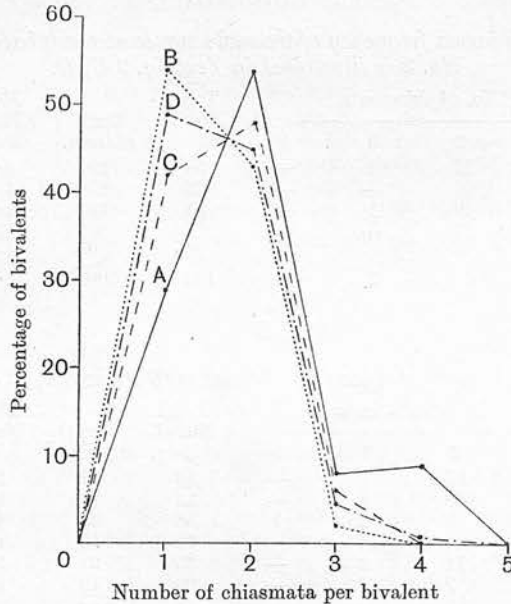
No. of cell	No. of chiasmata				Total No. of chiasm.	Term. chiasm.	Mean No. of chiasm.	Term. coeff.
	1	2	3	4				
1	6	13	1	—	35	21	1.7	0.62
2	9	10	1	—	32	22	1.6	0.68
3	8	9	2	1	36	20	1.8	0.56
4	11	8	1	—	30	19	1.5	0.63
5	7	11	2	—	35	21	1.7	0.60
6	12	7	1	—	29	19	1.4	0.69
Total	53	58	8	1	197	122	1.64	0.61

with two chiasmata in this young male is higher than that in older ones. This is what would be expected from the observations made by Dunn (1920), who reported slight decrease of crossing-over with increase in age in the mouse. The two chiasmata are of the reciprocal type and give rise to two recurrent double cross-overs and two non-cross-over chromatids—that is, the second chiasma restores the original constitution. But the difference in crossing-over and in chiasma frequency in the same sex at different ages is so slight that it cannot be regarded as important, as was pointed out by Dunn himself (1920). Text-fig. 16 illustrates the chiasma frequency in the female and in the male in the form of a graph.

378 *Chiasma Frequency and Crossing-over in the Mouse*

The cytological interference was calculated (see Haldane, 1931) and the variance for the male was found to be 0.504, that for the female 0.729.

The difference in sex incidence in chiasma frequency at metaphase corresponds very closely indeed to sex differences in respect of crossing-over. Dunn (1920), Castle (1925) and Wachter (1927), from genetical data, all concluded that in the female mouse the linkage between albino and pink eye factors is looser than it is in the male. Table IV, taken from Castle and Wachter, gives figures showing the difference in crossing-over between the factors for albino and pink eye. These results were



Text-fig. 16. Graph showing the chiasma frequency at metaphase. *A* represents the female, *B* the male with the same genetic constitution, *C* is the curve of the chiasma frequency of a very young male, *D* represents the combination of *B* and *C*.

discussed by Detlefsen (1925), but Castle (1925), using Detlefsen's own arguments, demonstrated that crossing-over is more frequent in the female than in the male.

Similar differences in the sex incidence of crossing-over have been described in the case of other animals and plants (cf. Eloff, 1932), and all cases support Haldane's (1922) dictum that if crossing-over is reduced or entirely suppressed this occurs in the heterozygous sex. Dunn (1920) has suggested that in the structure and function of chromosomes is to be found the explanation for differences in the sex incidence of crossing-over. Now, in the partial chiasmotype hypothesis, a chiasma represents

crossing-over, and so it could be predicted that in that sex in which crossing-over was most frequent, more chiasmata would be found. The figures given show that sex differences in crossing-over are equalled by sex differences in chiasma frequency.

These sex differences in respect of chiasma frequency cannot be explained on the alternative "breaking" hypothesis adumbrated by Janssens (1924), Darlington (1929), Sax (1930), *et al.*, for if crossing-over is conditioned by chiasmata, and if the reduction in the number of chiasmata from diplotene to metaphase is the result of the breaking

TABLE V.

Illustrating the difference of crossing-over value of the albinism and pink-eye factors in the male and female mouse. (From Castle and Wachter, 1924.)

Sex	Gametes tested	Cross-over gametes	Crossing-over value	Authors
Female	2,789	444	15.92 ± 0.90	Dunn (1920)
Male	3,683	503	13.65 ± 0.78	"
Female	0,556	106	19.06 ± 2.02	Castle and Wachter (1924)
Male	3,374	462	13.89 ± 0.82	—
Total:				
Female	3,345	550	16.44 ± 0.82	—
Male	7,057	965	13.77 ± 0.57	—

TABLE VI.

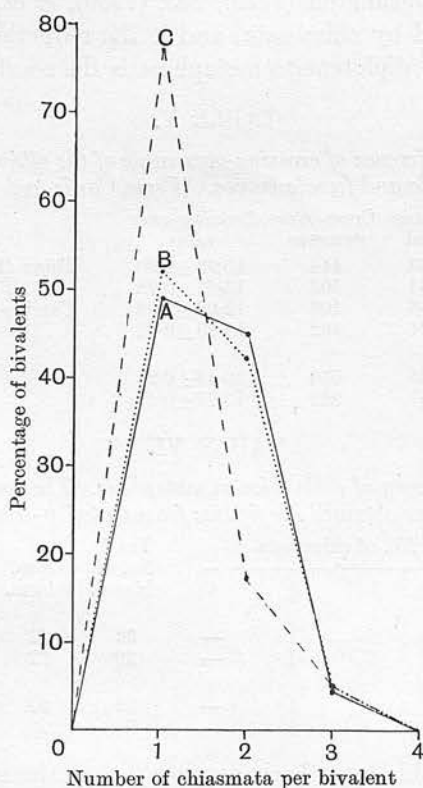
Chiasma frequency of male mice at metaphase. The age is unknown; Painter obtained his figures from Gates' v-o males.

Author	No. of chiasmata				Total No. of chiasm.	Term. chiasm.	Mean No. of chiasm.	Term. coeff.
	1	2	3	4				
E. Cox (1926):								
Fig. 30	9	10	1	—	32	21	1.6	0.65
Fig. 31	12	7	1	—	29	22	1.4	0.65
Painter (1927):								
Fig. 33	16	3	1	—	25	21	1.2	0.84
Fig. 34	15	4	1	—	26	20	1.3	0.76

of chiasmata (as this hypothesis assumes), then the sex with increased crossing-over should have reduced rather than increased chiasma frequency. But this is not the case, for it is now shown that increased crossing-over is associated with increased chiasma frequency: an observation which is in harmony with the partial chiasma-type hypothesis of Janssens and Darlington.

The chiasma frequency of metaphase bivalents in males shown by Cox (1926) and Painter (1927) was interpreted in terms of this hypothesis. The mean chiasma frequency per bivalent is 1.6 and 1.4 in the two cells counted (Table VI). The results of Cox are in close agreement with ours. Painter's figures were 1.2 and 1.3 and are lower than those given in this

paper. Text-fig. 17 shows Painter's percentage of bivalents with different numbers of chiasmata compared with our own results. The difference between the two sets may perhaps be explained by reference to the fact that Painter was studying Gates' *v-o* males (Gates, 1926) which show a characteristic chromomere deletion, for a large portion of one of the autosomes was missing in this stock. If we assume that the loss of this



Text-fig. 17. Graph showing the chiasma frequency of different males at metaphase. *A* indicates the result obtained in the present study, *B* represents Cox's, and *C* Painter's data.

segment disturbed the normal genic environment, it is reasonable to postulate that the lower chiasma frequency found by Painter (1927) is due to differences in chromosome behaviour resulting from this loss. Another possibility suggested by Gates (1926) is that the Japanese waltzing strain is of hybrid origin. Perhaps this special genotype is the cause of the decrease of chiasma frequency, as compared with the normal mice strain.

VII. SUMMARY.

1. The somatic chromosome complexes of the female and male mouse were studied. The diploid number is 40. The chromosomes in both sexes have nearly terminal attachment constrictions. In the male two chromosomes of unequal size were found: they are the *X* and *Y* sex-chromosomes. Their precocious condensation during mitosis was observed.

2. The splitting of the mitotic chromosomes takes place before metaphase. The development of the spindle and the splitting of chromosomes are partly independent processes. It is suggested that the development of the spindle depends upon a specific biochemical constitution of the cytoplasm.

3. The rate of division is determined genetically by the genic balance in the chromosome complex. Aneuploidy or euploidy may stimulate rapid or indefinite division, as is the case in the tumour cells.

4. Different stages of meiosis were studied. The chromosome behaviour during meiosis is interpreted on Janssens' partial chiasmotype hypothesis. The decrease of the number of post-diplotene chiasmata, it is suggested, is due to terminalisation, *i.e.* to the movement of chiasmata away from the attachment constriction.

5. The behaviour of the unequal sex-chromosomes during spermatogenesis was studied. Both precocious separation and lagging of the *X* and *Y* were found at metaphase. In prophase the *X*- and *Y*-chromosomes paired. In two cases interstitial chiasmata were observed. The pairing of the unequal sex-chromosome is interpreted and discussed on the partial chiasmotype hypothesis. Certain tentative suggestions are put forward regarding the evolution of the sex-chromosome mechanism.

6. The chiasma frequencies of the male and female mouse during diplotene and metaphase were counted. The difference in sex incidence of crossing-over for the albinism and pink-eye factors is correlated with the difference in sex incidence of chiasma frequency. Both crossing-over value and chiasma frequency are higher in the females than in the males.

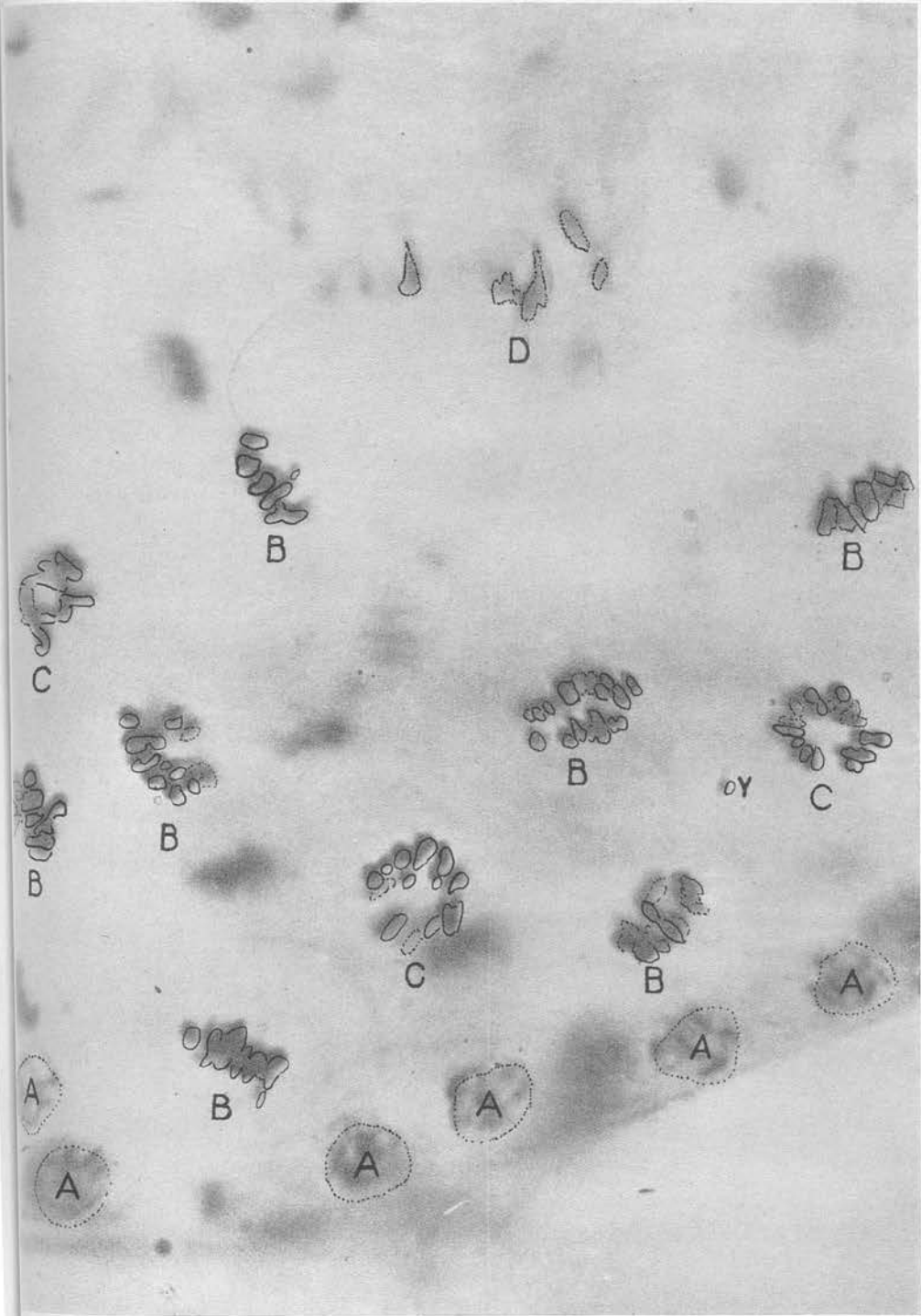
7. The data obtained can be predicted on the hypothesis that chiasmata represent crossing-over, or that chiasma formation is conditioned by crossing-over, but not on the alternative "breaking" hypothesis.

REFERENCES.

- BRIDGES, C. B. (1925). "Sex in relation to chromosomes and genes." *Amer. Nat.* **59**, 127-37.
CASTLE, W. E. (1925). "A sex difference in linkage in rats and mice." *Genetics*, **10**, 580-2.

382 *Chiasma Frequency and Crossing-over in the Mouse*

- CASTLE, W. E. and WACHTER, W. L. (1924). "Variations of linkage in rats and mice." *Genetics*, **9**, 1-12.
- CHAMBERS, R. (1924). "The physical structure of protoplasm as determined by microdissection and injection." *General Cytology*, Univ. Press of Chicago.
- COX, E. (1926). "The chromosomes of the house mouse." *Journ. Morphol. and Physiol.* **43**, 45-50.
- CUÉNOT, L. (1928). "Génétique des Souris." *Bibliographia Genetica*, **4**, 180-239.
- DARLINGTON, C. D. (1929). "Meiosis in polyploids." *Journ. Gen.* **21**, 17-56.
- (1930 a). "A cytological demonstration of 'genetic' crossing-over." *Proc. Roy. Soc. B*, **107**, 50-9.
- (1930 b). "Chromosome studies in *Fritillaria* III. Chiasma formation and chromosome pairing in *Fritillaria imperialis*." *Cytologia*, **2**, 709-12.
- (1931). "Meiosis." *Biol. Rev.* **6**, 221-64.
- (1932 a). "The control of the chromosomes by the genotype and its bearing on some evolutionary problems." *Amer. Nat.* **66**, 25-51.
- (1932 b). *Recent Advances in Cytology*. London: Churchill.
- DARLINGTON, C. D. and DARK, S. O. S. (1932). "The origin and behaviour of chiasmata. II. *Stenobothrus parallelus*." *Cytologia*, **3**, 169-85.
- DETLEFSEN, J. A. (1925). "The linkage of dark eye and colour in mice." *Genetics*, **10**, 17-31.
- DUNN, L. C. (1920). "Linkage in mice and rats." *Genetics*, **5**, 325-43.
- ELOFF, G. (1932). "A theoretical and experimental study of the changes in the crossing-over value, their causes and meaning." *Genetica*, **14**, 1-116.
- GATES, W. H. (1926). "The Japanese waltzing mouse." *Carnegie Inst. Publ. No. 337*, 83-138.
- GELEI, J. (1922). "Weitere Studien über Oogenese des *Debdrocoelum lacteum*." *Arch. Zellf.* **16**, 299-370.
- GERLACH, L. (1906). *Über die Bildung der Richtungskörper bei Mus musculus*. Wiesbaden.
- GOLDSCHMIDT, R. and FISCHER, A. (1929). "Chromosomenstudien an Carcinomzellen *in vitro*." *Z. Krebsforschg.* **30**, 182-93.
- HALDANE, J. B. S. (1922). "Sex ratio and unisexual sterility in hybrid animals." *Journ. Gen.* **12**, 101-9.
- (1931). "The cytological basis of genetical interference." *Cytologia*, **3**, 54-65.
- HEILBRUNN, L. V. (1928). *The colloid chemistry of protoplasm*. Berlin.
- JANSSENS, F. A. (1909). "Spermatogénèse dans les Batraciens. V. La théorie de la chiasmotypie: nouvelle interprétation des cinèses de maturation." *Cellule*, **25**, 387-411.
- (1924). "La chiasmotypie dans les insectes." *Cellule*, **34**, 135-359.
- LA COUR, L. (1931). "Improvements in every-day technique in plant cytology." *Journ. Roy. Micr. Soc.* **51**, 119-26.
- LAWRENCE, W. J. C. (1931). "The secondary association of chromosomes." *Cytologia*, **2**, 352-84.
- LONG, J. A. (1908). "Chromosomes of the mouse." *Science*, **27**, 443.
- LUDFORD, R. J. (1930). "Chromosome formation without spindle development in cancer cells and its significance." *IXth Scientific Report of Cancer Research*, pp. 109-20.



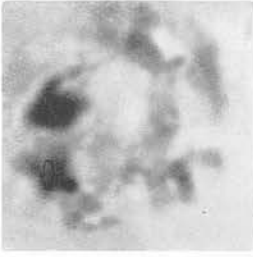


Fig. 1.



Fig. 2.

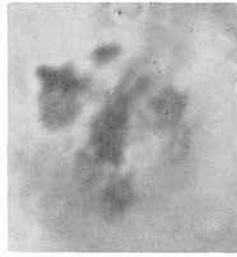


Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 6.



Fig. 7.



Fig. 8.

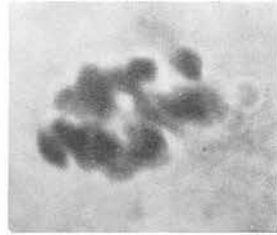


Fig. 9.

- MINOUCHI, O. (1929). "Chromosome arrangement. VI." *Mem. Coll. Sci. Kyoto*, B, 4, 323-6.
- PAINTER, T. S. (1926). "A comparative study of the chromosomes of the mammal." *Amer. Nat.* 70, 385-409.
- (1927). "The chromosome constitution of Gates' non-disjunction (*v-o*) mice." *Genetics*, 12, 379-92.
- (1928). "A comparison of the chromosomes of the rat and mouse with reference to the question of a chromosome homology in mammals." *Genetics*, 13, 180-9.
- ROBERTSON, W. R. B. (1931). "Chromosome studies. II. Synapsis in the Tettigidae with special reference to the pre-synapsis split." *Journ. Morph.* 51, 119-39.
- SANSOME, F. W. and PHILP, J. (1932). *Recent advances in plant genetics*. London: Churchill.
- SAX, K. (1930). "Chromosome structure and the mechanism of crossing-over." *Journ. Arnold Arboretum*, 11, 193-220.
- SOBOTTA, J. (1895). "Die Befruchtung und Furchung des Eies der Maus." *Arch. mikr. Anat.* 45, 15-93.
- TAFANI, S. (1889). "I primi momenti dello sviluppo dei mammiferi." *Atti R. Accad. Lin.* Ser. 4, 5, 119-25.
- WACHTER, W. L. (1927). "Linkage studies in mice." *Genetics*, 12, 108-14.
- WINGE, O. (1930). "Zytologische Untersuchungen über die Natur maligner Tumoren. II. Teerkarzinome bei Mäusen." *Zeits. f. Zellforsch. u. mikr. Anat.* 10, 683-734.

EXPLANATION OF PLATES XXXII—XXXIII.

PLATE XXXII.

Segment from the testis. *A* illustrates the spermatogonial cells; *B* shows the metaphase and *C* the anaphase in the first spermatocytes. Note the lagging *Y*-chromosome. The spermatids are shown at *D*. $\times ca.$ 2200.

PLATE XXXIII.

1, 2, 3, 4 show the precocious condensation and pairing of the sex chromosomes. 5 and 6 illustrate interlocking of bivalents at metaphase. 7 shows the association of the unequal sex-chromosomes. 8 and 9 illustrate the metaphase plate of the first spermatocytes. $\times ca.$ 4000.

The photomicrographs of Plates XXXII and XXXIII were taken by Mr H. C. Osterstock with his own cinema camera.

X.—Spermatogenesis in *Drosophila obscura* Fallen. I. The Cytological Basis of Suppression of Crossing-over. By P. Ch. Koller, Ph.D., and Thelma Townson, M.A., Institute of Animal Genetics, University of Edinburgh. Communicated by Professor F. A. E. CREW. (With three Plates.)

(MS. received December 9, 1932. Read February 6, 1933.)

INTRODUCTION.

DURING recent years it has become increasingly possible to interpret unusual genetic phenomena by reference to peculiarities in chromosome behaviour. Examples of such cytological explanation are found in the studies of triploidy by Bridges and Anderson (1924) and Redfield (1930, 1932), and of translocations by Dobzhansky and Sturtevant (1930), Rhoades (1931), and Dobzhansky (1932*a*). But, thus far, the phenomenon of complete linkage in the male of *Drosophila* has not been explained satisfactorily by direct observation of spermatogenesis. Doubtless this has been due partly to technical difficulties, and partly to the fact that chromosome behaviour is only now beginning to be understood. However, the first difficulties have been eliminated by Metz (1926), Guyenot and Naville (1929), and Huettner (1930); and the second by Belar (1928), and more recently by Darlington (1932*b*).

The present study deals with spermatogenesis in *D. obscura*, and attempts to offer a theoretical explanation, based on the observations obtained, for the absence of crossing-over in the male.

MATERIAL AND TECHNIQUE.

The flies were obtained in 1928 from America through the kindness of Professor Lancefield, and have since been bred in the Institute of Animal Genetics, Edinburgh.

Newly hatched males were used. The maturation of *D. obscura* takes longer than in *D. melanogaster*, and the testes of young flies nearly always exhibit every stage of spermatogenesis. The only disadvantage is that the spermatogonial cells and chromosomes are smaller than in other species of *Drosophila*. However, this was counterbalanced by the fact that large numbers of cells exhibit different stages of spermatogenesis,

and the chromosomes are arranged in one plane at metaphase, as described by Metz (1926).

The testes were dissected out from the abdomen in a 2 per cent. urea-solution and fixed in strong Flemming to which urea was added. After thirty to sixty minutes' fixation, the testes were transferred to 1 per cent. chromic acid for three to twelve hours. The stain used was Newton's gentian violet; it was absorbed deeply by the chromosomes and the nucleolus, but only in a slight degree by what Metz (1926) calls the "pseudo-chromatin" materials.

DIVISION OF THE SPERMATOGONIA.

The chromosomes at prophase are somewhat indistinct and, owing to the shortness of the period between the onset of division and metaphase, their behaviour cannot be studied satisfactorily. They appear as more or less thick threads deeply stained with gentian violet. They absorb the stain more rapidly than do the spermatocyte chromosomes, so that in many cases the spermatogonial cells can be easily identified by the strong staining property of their chromosomes.

At metaphase the chromosomes are arranged in the equatorial plate, the homologous chromosomes lying side by side. The chromosomes in the spermatogonia of *D. obscura* are always arranged in one plane during metaphase, which appears not to be the case in any other *Drosophila* species. Plate I, figs. 1, 2 and 3, show spermatogonial chromosomes at metaphase. Only fig. 1 illustrates the whole chromosome complex. The heteromorphic sex-chromosomes can be identified. The X-chromosome is V-shaped and has a median or nearly median attachment constriction, while the Y-chromosome is rod-shaped with a submedian attachment constriction, which sometimes divides the chromosome into a long and short limb as illustrated in fig. 3. Three out of the four autosomes are rod-shaped, all about the same length, and slightly shorter than the Y-chromosome. Frolowa and Astaurov (1929) illustrated the chromosomes in the Russian species of *D. obscura*, and in their figures the autosomes are somewhat V-shaped. Metz's depiction (1916, 1926) of the complex of *D. obscura* resembles ours, showing rod-shaped autosomes. In a few spermatogonial metaphases (fig. 2) the different size of the autosomes is due to the different angles from which they are viewed. The fourth pair of autosomes is the smallest in the complex, its length being about $\frac{1}{8}$, or even less, of the other autosomes, so that in many cases they are not readily observed (figs. 2 and 3). The spindle fibre attachment constriction of the autosomes is terminal or nearly so.

At metaphase of the spermatogonial division the chromosomes show

a tendency to associate in homologous pairs. This association of the homologous chromosomes becomes more intimate at anaphase when the equationally divided chromosomes pass into opposite poles. Plate I, figs. 4, 5 and 6, illustrate the anaphase of the spermatogonial division. Figs. 4 and 5 give the polar view, and fig. 6 the side view of the anaphase stage. This association of homologous chromosomes resembles meiotic pairing, and it is easy to mistake the anaphase configuration of the associated spermatogonial chromosomes for the anaphase of the first spermatocytes, as has been already pointed out by Metz (1926) and by Huettner (1930). In some cells the chromosomes in the polar view are represented as small, round bodies, lying side by side, and this arrangement is very similar to the secondary pairing at meiotic division described and discussed by Lawrence (1931).

Each member of the associated homologous chromosomes has a single structure; no sign of splitting could be observed at anaphase of the spermatogonial chromosomes. The double structure and the apparent "haploid" number are due to the association of the homologous chromosomes during their segregation to the opposite poles. The association of the homologous chromosomes during the spermatogonial division in several *Drosophila* species was observed by Stevens (1908), Metz (1916), Guyenot and Naville (1929), and Huettner (1930). In another species of Diptera, Nonidez (1921) followed in detail the whole process of anaphase association of spermatogonial chromosomes. Metz (1926), in his masterly paper on spermatogenesis of the Drosophilidæ, even described cases where the association of homologous chromosomes begins as early as the prophase of the spermatogonial division. However, in the present study only the anaphase pairing could be followed clearly.

The association of homologous chromosomes in pairs is characteristic of the Diptera, but this phenomenon must not be confused with true chromosome pairing, a term which indicates intimate chromosome conjugation, or synapsis, during the prophase of the first meiotic division. In some cases the association between homologous chromosomes results in complete fusion at the attachment constriction. This process takes place before the chromosomes of the whole complex fuse together to form the nucleus of the first spermatocyte.

At the end of anaphase the chromosomes fuse together and give rise to a deeply stained chromatin mass, from which the ends of the chromosomes sometimes still protrude (Plate I, figs. 7 and 8). Simultaneously, a wall develops round the nuclear material, and the daughter nuclei are formed. However, the space in the nucleus which is occupied by the chromosome complex is only about half that of the total volume, the rest being taken

up by other nuclear material which has less staining capacity than the chromosomes. In a few cases cells were found in which this nuclear material had migrated from the nucleus, and was dispersed in the cytoplasm. The true nature of this nuclear material was discussed, its behaviour followed with the aid of the Feuglen-reaction and described in detail by Huettner (1930).

MEIOSIS.

The division of the first spermatocyte is preceded by the "growth period," the volume of the nucleus increasing rapidly. The nuclear membrane of the first spermatocyte nucleus during this period is somewhat thicker and coarser in structure than it was in the previous stage. In the nucleus qualitative and quantitative changes take place. At the beginning of the growth period, the nuclear mass disperses and is more or less evenly stained with gentian violet. Soon, however, a small part of this nuclear material condenses and forms a nucleolus or plasmosome, which breaks up into small, slightly stained bodies before the prophase of the meiotic division. Plate I, figs. 9 and 10, illustrate the growth period of the first spermatocyte. In the nucleus the nucleolus and the nuclear material can be seen. Plate I, fig. 11, depicts an early spermatocyte nucleus with a nucleolus and small stained bodies which are derived from the nucleolus; Jeffrey and Hicks (1925) most probably mistook these fragments of the nucleolus for chromosomes. They survive the prophase of the first spermatocyte, sometimes even the meiotic anaphase, and can easily be interpreted as chromosomes, as was pointed out by League (1930).

The rate of growth is very rapid, and the cells in successive layers differ greatly in size. Those spermatocytes which are in a more advanced stage show a nucleus, which is increased in volume, as well as other changes in the nuclear material. The small nuclear aggregates, which are derived from the break-up of the nucleolus or plasmosome, are present in various numbers. Plate II, fig. 1, illustrates a nucleus, showing the condensed nucleolus and four large and four small chromatin aggregates. The staining capacity of the nucleolus is exaggerated in this figure to illustrate more clearly the smaller aggregates. They are sometimes seen to be connected by thin threads with each other and with the nucleolus.

The break-up of the nuclear chromatin material into smaller aggregates is followed by their diffusion. The aggregates loosen, become thread-like, and stain less deeply than in the condensed stage. Huettner and Guyenot and Naville found that the spermatocytes at this stage, which is most probably the early prophase, contain fine single threads which were identified as the leptotene chromosome threads. However, in our investigation,

as also that of Metz, single threads like the leptotene chromosomes were not found in the early prophase of the first spermatocyte division. This is most probably due to the different technique and material used by Huettner and Guyenot and Naville.

The diffusion of the chromatin aggregates into threads is illustrated in Plate II, fig. 2. The threads have a double structure, showing a V-shape, and are associated at one end. This arrangement was the most common in the first spermatocyte. Fig. 2 does not show the supernumerary and "pseudo-nuclear" aggregates, but illustrates only the prophase chromosomes as they develop from the chromatin material. The chromosomes are thicker than the early prophase chromosomes in normal meiosis. Plate II, fig. 3, illustrates the same stage in the first spermatocyte. One chromosome pair shows close submedian association or pairing. Plate II, figs. 4, 5 and 6, show the nucleus of the first spermatocyte with paired chromosomes where the association is terminal, subterminal, or median.

Plate II, figs. 7, 8 and 9, represent more advanced stages of prophase. The chromosomes remain in pairs, but condensation takes place and the loose granulated chromosomes become more deeply stained. In some first spermatocytes during this stage the X- and Y-chromosomes are seen to pair. The inequality of the members of the pair and the structure of the associated chromosomes, suggested that they are the sex-chromosomes. In *D. obscura* a very characteristic feature in the prophase of the first meiotic division is the association of short segments only of the chromosomes. This association most probably represents a partial synapsis or conjugation of homologous portions of chromosomes.

The condensation of the paired chromosome threads is rapidly progressing and they decrease in length. In this stage—the diakinesis—the chromosomes can be followed very easily, as the staining capacity is much better, and they appear as deeply stained double elements. Plate II, figs. 11 and 12, illustrate the diakinesis stage in the first spermatocyte. The X- and Y-chromosomes can be identified in the complex. This stage is closely similar to the stage illustrated in Plate I, figs. 4 and 5, which represent the anaphase of the spermatogonial division.

The prophase stage, as described above, was in many cases obscured by the nucleolus and other chromatin material. The nucleolus usually breaks up into small round bodies or globules, which scatter throughout the nucleus. In *D. obscura*, however, these secondary phenomena, which are very common in other *Drosophila* species, such as *melanogaster* and *virilis*, do not extend to such a degree as to make the observation of the chromosomes impossible during prophase.

Diakinesis is followed by metaphase. The chromosomes, which at

diakinesis lie side by side but scattered in the nucleus, are, during metaphase, arranged in the equatorial plate. The members of each paired chromosome bivalent are separated, and are held together only by terminal or subterminal association. The nuclear membrane is still present at the beginning of metaphase, and only when the chromosomes are arranged in the equatorial plate does it gradually disappear and the nuclear spindle develop. The paired chromosomes remain in their loose association at the beginning of metaphase. Owing to the delayed development of the nuclear spindle, the bivalents of *D. obscura* differ from those characteristic of most meiotic metaphases. Plate III, fig. 1, illustrates the onset of metaphase with the movement of the chromosomes to the equatorial plate, as seen in polar view. Figs. 2 and 3 illustrate metaphase stages in side view; the nuclear membrane is still present and the spindle has not developed. A more advanced metaphase is seen in fig. 4. Most probably the partial synapsis proceeds in such a way as to leave only a very small part of the two homologous chromosomes remaining in association, but at different levels. When the spindle develops, the associated chromosomes are pulled apart from the point of attachment constriction to the point of association. This stage is depicted in Plate III, fig. 4, showing the bivalent chromosomes. The unequal sex-chromosomes, as are the homologous autosomes, are associated and paired. The synapsis is always restricted to one end of this chromosome pair, and does not change during prophase. The association of X and Y at metaphase remains terminal or nearly so. If pairing is determined by homology, then the associated segments of X and Y must be homologous. A similar conclusion was drawn by Metz from his cytological studies on other *Drosophila* species. Plate II, fig. 9, and Plate III, figs. 1 and 2, illustrate the partial conjugation of sex-chromosomes.

Anaphase is very short. The chromosomes separate reductionally to the opposite poles, and owing to the slight association, their separation is very rapid. The fibre of the nuclear spindle pulls them apart, and in side view this separation can be followed very clearly. Plate III, fig. 5, shows the anaphase separation in side view. The chromosomes move to the poles, but the rate of movement may be different for different chromosomes. Some tendency to lag could be detected in anaphase, but this phenomenon may be explained by the unusual synapsis during the previous stages. The separating chromosomes sometimes exhibit a double structure, which indicates that they most probably have split in the earlier prophase stages, but the exact time and place of the splitting could not be ascertained. Plate III, fig. 6, shows anaphase stage, some chromosomes showing the double structure.

At the end of anaphase, when the chromosomes have arrived at the poles, they fuse together and form a small round nucleus. This formation of the nucleus represents the end of the first spermatocyte division, which gives rise to two secondary spermatocytes with a reduced chromosome number, and the separation of the cytoplasm into two cells usually proceeds simultaneously, though sometimes the division of the nuclear material is not followed immediately by the division of the cytoplasm. Plate III, fig. 7, illustrates secondary spermatocytes with a comparatively small nucleus.

The division of the secondary spermatocyte into two spermatids is preceded by a rapid increase in the volume of the nucleus. The length and bulk of the chromosomes are comparatively greater than are those of the chromosomes in the first spermatocyte. The individual chromosomes can be identified and two types of haploid chromosome groups—one with the V-shaped X, and the other with the rod-shaped Y—can be seen in many secondary spermatocytes during metaphase. Plate III, figs. 8 and 9, illustrate metaphase plates of secondary spermatocytes. This stage is the one which was found most frequently in the testes of *D. obscura*. The chromosomes are arranged in the metaphase plate, mostly in one plane. Their double structure, which resulted from splitting, cannot be detected in the very short prophase, but in a few cases it was followed from the anaphase of the previous division. The segregation of the chromosomes at anaphase to the opposite poles shows that the rate of separation is sometimes different and causes some chromosomes to lag; most probably the sex-chromosomes remain behind the rod-shaped autosomes in the movement from the equatorial plate to the pole. Plate III, fig. 10, illustrates the anaphase of the secondary spermatocyte.

The formation of spermatids and the development of sperm are similar to these processes already described in other Diptera.

DISCUSSION.

The behaviour of the chromosomes during the maturation division in the male of *Drosophila* has been studied by Metz (1926), Guyenot and Naville (1929), and Huettner (1930). Their observations all substantiate the genetic evidence that there is no crossing-over in the male, but their interpretation of its cause differs. The present study of gametogenesis in *D. obscura* presents additional data, which have been reviewed in the light of recent observations of meiotic chromosome behaviour in plants and animals, and a more probable hypothesis of the cause of this suppression of crossing-over is offered.

Two important hypotheses (Sax's, 1930 and Belling's, 1931, and

Darlington's, 1931) deal with the relation between pairing of homologous chromosomes and crossing-over. Both of them are based on Janssens' (1924) partial chiasmotype hypothesis, but they differ regarding the time relations of chiasma formation and crossing-over.

If the homologous chromosomes do not pair during meiotic prophase, then crossing-over cannot take place. Furthermore, the pairing of homologous chromosomes is the basis for normal chromosome disjunction and segregation. Anderson (1929), studying non-disjunction in *D. melanogaster*, proved that the paired homologous chromosomes pass to the opposite poles more regularly than do chromosomes which failed to pair with their homologues. Similar results were obtained by Dobzhansky (1932a), who studied the different translocations in *D. melanogaster* and demonstrated that pairing, crossing-over, and chromosome disjunction are closely interrelated. If there is complete chromosome disjunction which can be followed genetically, then one may infer that the pairing and post-diplotene association of homologous chromosomes must have occurred previously, and that these phenomena represent the cytological basis of the complete genetical segregation. The post-diplotene association of chromosomes, however, is dependent on chiasma formation, which in turn is related to crossing-over, as shown by Beadle (1932). Gowen (1928, 1931) demonstrated in *D. melanogaster* that absence of crossing-over in the female is associated with frequent non-disjunction of all chromosomes, which shows that crossing-over and segregation are interrelated.

In the male of the different *Drosophila* species there is normal distribution of homologous chromosomes to the opposite poles at the anaphase of the first spermatocyte, which indicates that they must have been associated in pairs during the meiotic division. This association must have survived even the post-diplotene stage, and the chromosomes are pulled apart by the spindle fibre after metaphase.

The question arises, therefore, as to why genetical crossing-over does not take place during this meiotic pairing. The cause of complete suppression of crossing-over may be either genetical or cytological.

The pairing of homologous chromosomes, and the formation and distribution of chiasmata (genetical crossing-over) are controlled by factors located in the chromosomes themselves. This problem was discussed by Darlington (1932). Blakeslee (1928) in *Datura stramonium*, and Beadle (1930) in *Zea Mays*, described plants where there is much lack of pairing between homologous chromosomes during meiosis. These plants contain one recessive gene, which is responsible for the absence of crossing-over.

The cytological observations of Metz on several *Drosophila* species, of Guyenot and Naville and Huettner on *D. melanogaster*, and our own

on the gametogenesis of *D. obscura*, demonstrate the association and partial synapsis of the homologous chromosomes during prophase of the first spermatocyte division. Such chromosomes associated in pairs are seen in Plate II, figs. 2-10. These observations show that the complete disjunction of the chromosomes in the male of *Drosophila* is preceded by pairing between homologous chromosomes, and it may therefore be concluded that there exists no factor which suppresses crossing-over through the failure of pairing.

In *D. melanogaster* Gowen and Gowen (1922) found a recessive gene in the third chromosome, which, although not preventing the pairing of the homologous chromosomes, suppressed entirely the crossing-over in all chromosomes in the female. Eloff (1932) made a very extensive study of variation in crossing-over, and discussed the genetical basis of complete suppression. If, in the male of *Drosophila*, a genetic factor or factor complex, similar to the factor described by the Gowens, were present, responsible for the direct suppression of crossing-over, then it must be located in the Y-chromosome. Haldane's (1922) law states that if crossing-over is reduced or entirely absent in one sex, that sex is always the heterogametic. Haldane's law favours the assumption that in the male of *Drosophila* the Y-chromosome itself, or factors borne on the Y, may be responsible for complete suppression of crossing-over.

However, several genetical observations made by different investigators, prove that suppression of crossing-over in the male of *Drosophila* is not correlated with the presence of the Y, and consequently cannot be due to a gene or gene complex located in the Y-chromosome. Anderson (1929), studying non-disjunction in *D. melanogaster*, demonstrated that crossing-over in the XXY female had just the same value as in XX flies. Stern (1929) obtained similar results in a study of a line of *D. melanogaster* in which the Y had become attached to the X.

The data obtained by genetical investigations indicate that there exists no special factor or factors present only in the male of *Drosophila* and borne on the Y-chromosome, which directly suppresses crossing-over without eliminating the pairing of homologous chromosomes.

During the present study it was found that the chromosomes held together during prophase of the first meiotic division. The association of homologous chromosomes takes place always over a short section of their length. If the locus of association represents a chiasma or chiasmata, then we can apply this fact as a test for the two hypotheses concerned with crossing-over.

Sax (1930) assumes that chiasmata arise by the chromatids opening out in different planes at diplotene and cross-overs occur by the breaking of

chiasmata, *i.e.* the crossing-over is conditioned by chiasma formation. If the short distance where the chromosomes associate are chiasmata which did not break, then the absence of crossing-over in the male of *Drosophila* would be easily explained. However, the change of the locus of association at the post-diplotene stages observed in the present study, as well as many other recent observations on the behaviour of chromosome pairing, chiasma formation and crossing-over in many plants and animals, repudiate the assumption that crossing-over arises only through the break of chiasma (*cf.* Sansome and Philp, 1932; Darlington, 1932*b*).

On the second hypothesis, which was elaborated by Darlington, chiasma and post-diplotene association are conditioned by genetical crossing-over; if this is so, then the partial synapsis and association of homologous chromosomes at prophase of the first spermatocyte in *Drosophila* must be the results of crossing-over. This crossing-over, however, cannot be detected in genetical observations. Darlington assumes that two reciprocal chiasmata are formed, and are localised near the attachment constriction, in a segment, which is genetically "inert" in that it does not contain any mutated genes. The existence of such an inert region has been demonstrated both genetically and cytologically in *D. melanogaster*, where this region lies in the X-chromosome beyond *forked*, and its length has been calculated by translocation (Dobzhansky, 1932*b*). Metz and Huettner have observed that this region pairs with the Y, from which they conclude that the two are homologous. Darlington assumes that the pairing of chromosomes and the localisation of reciprocal chiasmata only at this genetically inert region are responsible for the absence of crossing-over in the male of *Drosophila*.

Our observations on spermatogenesis of *D. obscura* show that the homologous chromosomes associate before the metaphase of the first meiotic division. The loci of this association are concentrated at the end of the chromosome at the beginning of the first spermatocyte division (see Plate II, figs. 2 and 3). Later, the loci of the partial synapsis alter, and chromosomes with subterminal, submedian, and median association are found (see Plate II, figs. 4-9). The change of the place of association proceeds towards the distal end of the chromosome, and it can be paralleled by the terminalisation of chiasmata in other organisms. Owing to the delayed development of the spindle, however, this movement is disturbed; and the interstitial chiasmata at metaphase are probably due to this absence of the nuclear spindle.

Localisation of chiasmata at the neighbourhood of the attachment constriction was found in *Fritillaria Meleagris* by Darlington (1930), and in *Mecosthetus* by McClung (1927). There is genetic evidence

provided by Bridges (1929) that in aged females of *Drosophila* there is a reduction of crossing-over at one or both ends of the chromosome (*i.e.* in the X or autosome respectively), and crossing-over is concentrated in the region of the spindle fibre attachment. Sansome and Philp discussed the fact that reciprocal chiasmata (double crossing-over) are more frequent near the spindle fibre attachment than elsewhere.

During the present study it was likewise found that the association of homologous chromosomes at the beginning of the prophase of the first spermatocyte division is concentrated at the end of the chromosomes. If the association of homologous chromosomes is conditioned by chiasmata, *i.e.* by exchanges between the partner chromatids, then our observations support Darlington's view. The concentration of chiasmata at the attachment constriction is probably a necessary consequence of the association between homologous chromosomes in the previous spermatogonial anaphase. The homologous chromosomes are associated in pairs at that stage, and sometimes even fuse together at the end where the spindle fibre attachment is situated. When they reappear at the following prophase of the first spermatocyte division this terminal partial association can again be observed (see Plate II, figs. 1, 2 and 3). Metz argues that the association of homologous chromosomes is so intimate that it even persists through the short resting stage. The homologous chromosomes enter into the prophase of the first spermatocyte with their ends already associated; it is natural, therefore, that the synapsis of the homologous chromosome at the attachment constriction favours the formation of chiasmata. The change of loci of chiasmata or association in later stages of prophase is the result of the gradual movement of the associated segments from the proximal to the distal ends. Finally, at the end of the metaphase of the first spermatocyte division (see Plate III, fig. 4), when the nuclear spindle develops, the homologues are arranged with their proximal ends pointing towards the opposite poles, but the distal ends are still in association. Such an arrangement can result only through pairing by chiasmata combined with terminalisation.

It has been shown previously that normal pairing and normal chromosome disjunction occur in the male of *Drosophila*. The present study offers cytological evidence to show that crossing-over—the second step in the mechanism of reduction division—also takes place, though it cannot be demonstrated genetically.

SUMMARY

1. The chromosome complex in the male of *D. obscura* is described. The diploid complex contains 10 chromosomes. The X-chromosome is

V-shaped, the Y and the three pairs of autosomes are rod-shaped. The fourth pair of autosomes is very small.

2. The homologous chromosomes associate in pairs during metaphase and anaphase of the spermatogonial division. The association at anaphase sometimes results in a fusion of the ends of homologous chromosomes, where the attachment constriction is situated.

3. The homologous chromosomes enter into the prophase of the first meiotic division with their ends already associated. The loci of association gradually move towards the distal ends.

4. The X- and Y-chromosomes associate at one of their ends; this association persists through the prophase of the first meiotic division. The conclusion is, therefore, that the two segments are homologous.

5. In discussing the genetical and cytological basis of suppression of crossing-over we find that in the male of *Drosophila* the complete linkage is most probably due to unusual chromosome behaviour.

6. Sax's and Darlington's hypotheses on crossing-over and chiasma formation are discussed. The cytological observations obtained during the present study, tend to support Darlington's view that in the male of *Drosophila* there is localised chiasma formation at the attachment constriction, but crossing-over cannot be detected genetically, the segment being "inert," that is, not containing any mutated genes.

REFERENCES TO LITERATURE.

- ANDERSON, E. G., 1929. "Studies on a Case of high Non-Disjunction in *Drosophila melanogaster*," *Zeits. f. ind. Abst. u. Vererb.*, vol. li, pp. 397-441.
- BEADLE, G. W., 1930. "Genetical and Cytological Studies of Mendelian Asynapsis in *Zea Mays*," *Cornell Univ. Agr. Exp. Stn. Memoir*, vol. cxxix, pp. 1-23.
- BEADLE, G. W., 1932. "The Relation of Crossing-over to Chromosome Association in *Zea-Euchlena* Hybrids," *Genetics*, vol. xvii, pp. 481-501.
- BELAR, K., 1928. *Die Cytologische Grundlagen der Vererbung*, Gebrüder Borntraeger, Berlin.
- BELLING, J., 1931. "Chiasmata in Flowering Plants," *Univ. Calif. Publ. Bot.*, vol. xvi, pp. 311-338.
- BLAKESLEE, A. F., 1928. (No title.) Quoted in *Carnegie Inst. Washington Year Book*, vol. xxvii, p. 42.
- BRIDGES, C. B., and E. G. ANDERSON, 1925. "Crossing-over in the X-chromosomes of Triploid Females of *Drosophila melanogaster*," *Genetics*, vol. x, pp. 418-441.
- BRIDGES, C. B., 1929. "Variation in Crossing-over in Relation to Age of Female in *Drosophila melanogaster*," *Carnegie Inst. Washington Publ. No.* 399, pp. 63-89.

- DARLINGTON, C. D., 1930. "Chromosome Studies in *Fritillaria*. III," *Cytologia*, vol. ii, pp. 37-55.
- DARLINGTON, C. D., 1931. "Meiosis," *Biol. Rev.*, vol. vi, pp. 221-264.
- DARLINGTON, C. D., 1932a. "The Control of the Chromosomes by the Genotype and its Bearing on some Evolutionary Problems," *Amer. Nat.*, vol. lxvi, pp. 25-51.
- DARLINGTON, C. D., 1932b. *Recent Advances in Cytology*, London, Churchill.
- DOBZHANSKY, Th., 1932a. "Studies on Chromosome Conjugation. I. Translocations involving the Second and Y-chromosomes of *Drosophila melanogaster*," *Zeits. f. ind. Abst. u. Vererb.*, vol. lx, pp. 235-286.
- DOBZHANSKY, Th., 1932b. "Cytological Map of the X-chromosome of *Drosophila melanogaster*," *Biol. Zentr.*, vol. lii, pp. 493-509.
- ELOFF, G., 1932. "A Theoretical and Experimental Study on the Changes in the Crossing-over Value, their Causes and Meaning," *Genetica*, vol. xiv, pp. 1-116.
- FROLOWA, S. L., and B. L. ASTAUROW, 1929. "Die Chromosomengarnitur als systematisches Merkmal," *Zeits. Zellforsch.*, vol. x, pp. 201-213.
- GOWEN, M. S., and J. W. GOWEN, 1922. "Complete Linkage in *Drosophila melanogaster*," *Amer. Nat.*, vol. lvi, pp. 449-460.
- GOWEN, J. W., 1928. "On the Mechanism of the Chromosome Behaviour in the Male and Female *Drosophila*," *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. xiv, pp. 475-477.
- GOWEN, J. W., 1931. "Genetic Non-Disjunctive Forms in *Drosophila*," *Amer. Nat.*, vol. lxv, pp. 193-213.
- GUYENOT, E., and A. Naville, 1929. "Les chromosomes et la réduction chromatique chez *Drosophila melanogaster*," *Cellule*, vol. xxxix, pp. 135-168.
- HALDANE, J. B. S., 1922. "Sex Ratio and Unisexual Sterility in Hybrid Animals," *Jour. Genet.*, vol. xii, pp. 101-109.
- HUETTNER, A. F., 1930. "The Spermatogenesis of *Drosophila melanogaster*," *Zeits. Zellforsch.*, vol. xi, pp. 614-637.
- JANSSENS, F. A., 1924. "La Chiasmatisation dans les Insectes," *Cellule*, vol. xxxiv, pp. 135-139.
- JEFFREY, E. C., and G. C. HICKS, 1925. "The Reduction Division in Relation to Mutation in Plants and Animals," *Amer. Nat.*, vol. lix, pp. 410-426.
- LAWRENCE, W. J. C., 1931. "The Secondary Association of Chromosomes," *Cytologia*, vol. ii, pp. 352-384.
- LEAGUE, B. B., 1930. "The Normality of the Maturation Divisions in the Male *Drosophila melanogaster*," *Science*, vol. lxxi, p. 99.
- MCCLUNG, C. E., 1927. "Synapsis and Related Phenomena in *Mecosthetus*, and *Leptysmia* (Orthoptera)," *Jour. Morph. and Phys.*, vol. xliii, pp. 181-264.
- METZ, C. W., 1916. "Chromosome Studies on the Diptera. II. The Paired Association of Chromosomes in the Diptera and its Significance," *Jour. Exp. Zool.*, vol. xxi, pp. 213-262.
- METZ, G. W., 1926. "Observations on Spermatogenesis in *Drosophila*," *Zeits. Zellforsch.*, vol. iv, pp. 1-28.

- NONIDEZ, J. F., 1921. "Spermatogenesis in the Fly *Asilus sericeus* Say," *Jour. Exp. Zool.*, vol. xxxii, pp. 165-185.
- REDFIELD, H., 1930. "Crossing-over in the Third Chromosome of Triploids of *Drosophila melanogaster*," *Genetics*, vol. xv, pp. 205-252.
- REDFIELD, H., 1932. "A comparison of Triploid and Diploid Crossing-over for Chromosome II. of *Drosophila melanogaster*," *Genetics*, vol. xvii, pp. 137-152.
- RHOADES, M. M., 1931. "A new Type of Translocation in *Drosophila melanogaster*," *Genetics*, vol. xvi, pp. 490-504.
- SANSOME, F. W., and J. PHILP, 1932. *Recent Advances in Plant Genetics*, London, Churchill.
- SAX, K., 1930. "Chromosome Structure and the Mechanism of Crossing-over," *Jour. Arnold Arb.*, vol. ii, pp. 193-220.
- STERN, C., 1929. "Untersuchungen über Aberrationen des Y-chromosoms von *Drosophila melanogaster*," *Zeits. f. ind. Abst. u. Vererb.*, vol. li, pp. 253-353.
- STEVENS, N. M., 1908. "A Study of the Germ Cells of certain Diptera with Reference to the Heterochromosomes and the Phenomena of Synapsis," *Jour. Exp. Zool.*, vol. v, pp. 359-374.
- STURTEVANT, A. H., and TH. DOBZHANSKY, 1930. "Reciprocal Translocations in *Drosophila* and their Bearing on *Cenothera* Cytology and Genetics," *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. xvi, pp. 533-536.

(Issued separately April 22, 1933.)





1



2



3



4



5



6



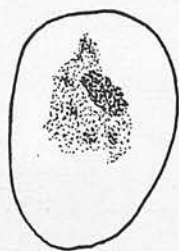
7



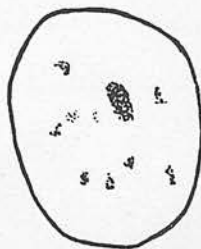
8



9



10



11

P. CH. KOLLER and THELMA TOWNSON.

[PLATE I.

FIGS. 1, 2, and 3.—Metaphase of spermatogonia. The homologous chromosomes arranged in pairs.

FIGS. 4 and 5.—Anaphase of spermatogonia. Polar view. The association of chromosomes is more advanced.

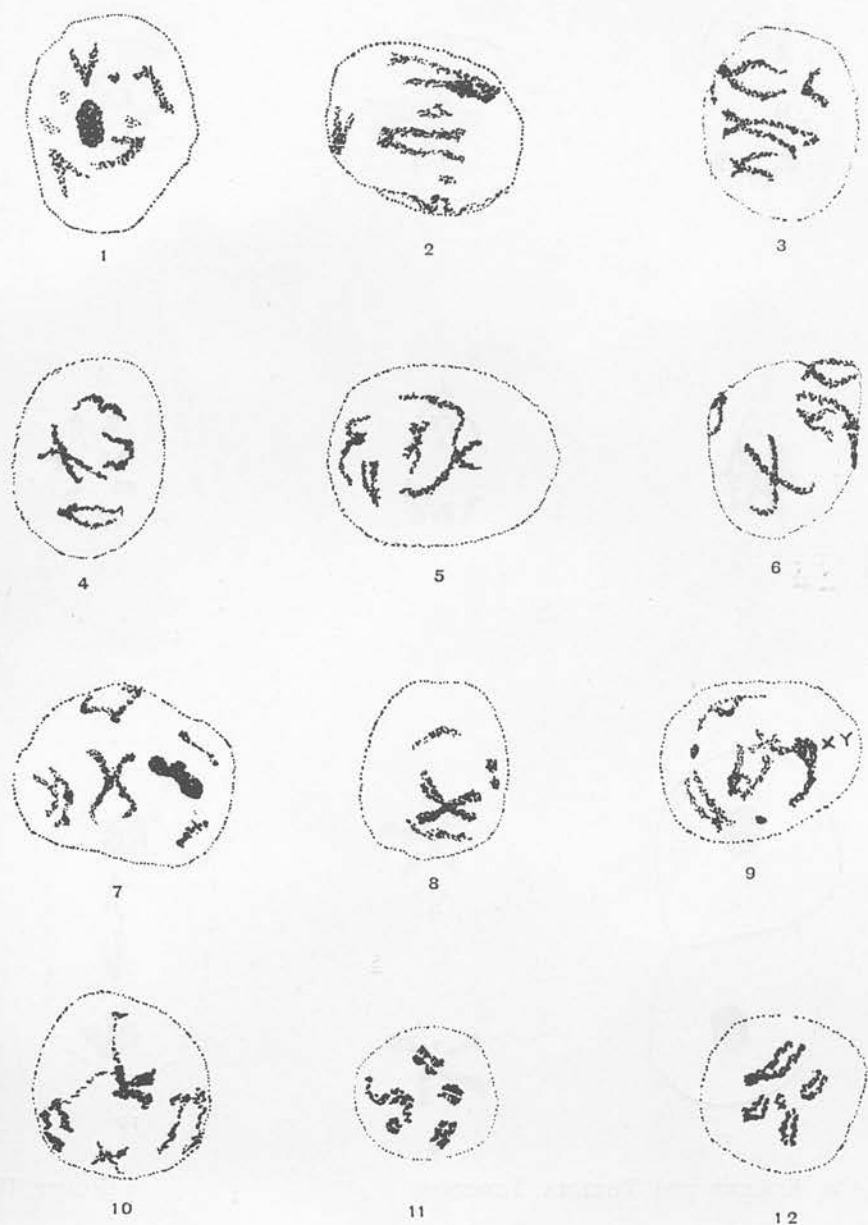
FIG. 6.—Anaphase of spermatogonial division. Side view.

FIGS. 7 and 8.—Telophase of spermatogonia.

FIGS. 9 and 10.—The growth period of the first spermatocytes.

FIG. 11.—The growth period of the first spermatocyte with aggregates derived from the nucleus.

The drawings were made with the aid of a Zeiss camera lucida, an H.I. 90, 1.30 apochromate oil-immersion objective and $\times 30$ compensating eyepiece. The magnification of the figures is about 4500.



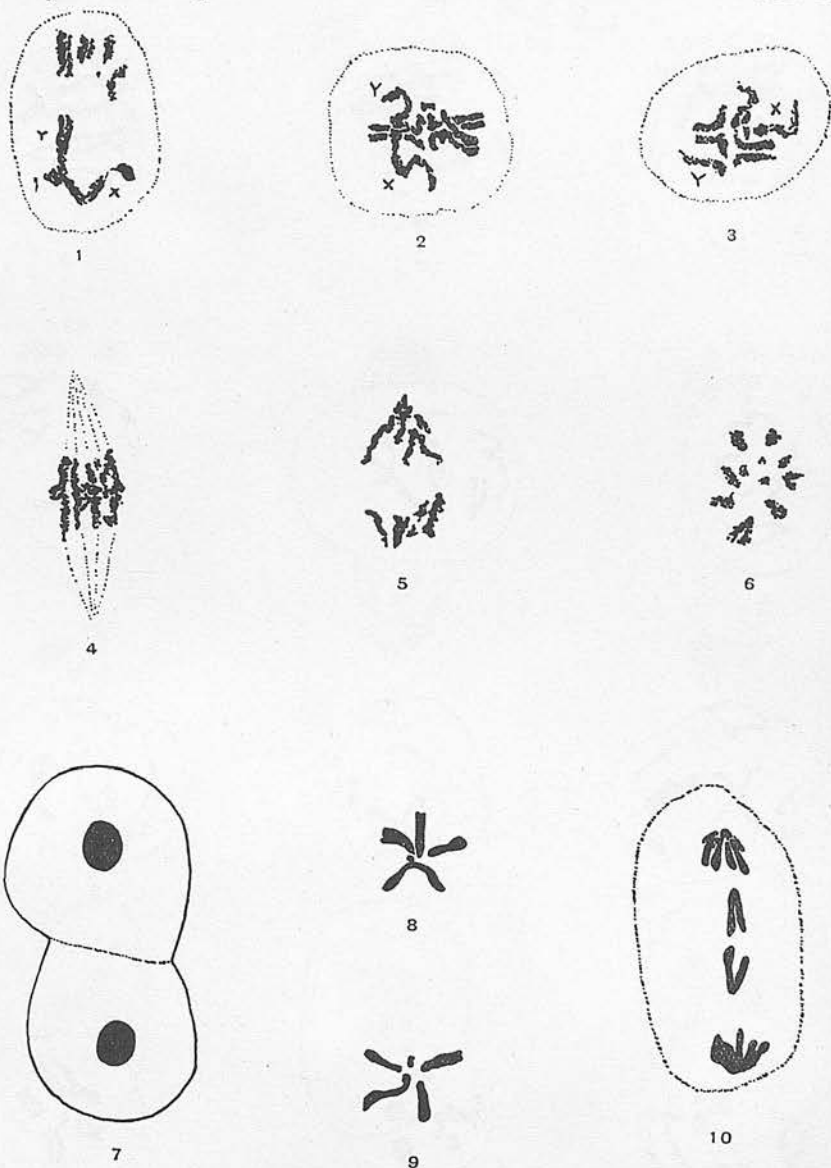
P. CH. KOLLER and THELMA TOWNSON.

[PLATE II.

FIG. 1.—Early prophase of the first spermatocyte.

FIGS. 2-10.—Prophase of the first spermatocytes. The chromosomes associated with partial synapsis.

FIGS. 11 and 12.—Diakinesis of the first spermatocytes.



P. CH. KOLLER and THELMA TOWNSON.

[PLATE III.]

FIG. 1.—The onset of metaphase in the first spermatocyte. Polar view.
 FIGS. 2 and 3.—Metaphase plates. Side view. The nuclear spindle is not yet formed.
 FIG. 4.—Late metaphase with bivalents.
 FIG. 5.—Anaphase of the first spermatocyte.
 FIG. 6.—Anaphase. Some chromosomes exhibit double structure.
 FIG. 7.—Secondary spermatocytes.
 FIG. 8.—Metaphase of the secondary spermatocyte. The X-chromosome is illustrated in the haploid complex.
 FIG. 9.—Metaphase plate with Y-chromosome.
 FIG. 10.—Anaphase of the secondary spermatocyte.

FAJ ÉS HAJ

A HAJ FONTOS SÁGA FAJOK

DOKTORÁTUSI ÉRTEKEZÉS

KOLLER K. PIUS

OKL. REÁLG. TANÁR



A múlt század második felében új természettudományi ág sarjadt és olyan nagyszámú kutatók kezdtek el foglalkozni vele, mint TOERNER, BROCA, SCHWABER, WISCROW, KLAATSCH — hatalmas stambumára mélyült. Ez az új természettudomány az anthropologia.

Feladata az emberek közötti különbségek öntudatos vizsgálata volt a személynél azon túl képet akart nyújtani az emberiség származásáról és felépítéséről. MERT DARWIN megalkotta a faj fogalmát és az anthropológusok igyekeztek megadni neki egy új kategóriába sorozni bele döntő jellemzők alapján az emberiség népcsoportjait.

Azok között a fejtörések között pedig melyeket a faji állhatatlanság alkalmával tekintetbe vettek a természettudósok — már a legelső áttöréskor az ott szerepelt a haj. WALKER, GOSSETT St. HILAIRE nyomán J. MÜLLER, TOERNER, BÉNARDON igyekeztek a hajnak fajmeghatározó szerepet tulajdonítani. A rekonstrukciónak mutatkozó haj állandósága teljes joggal figyelmet kelthetett.

Sőt több esetben tövénre vezeték az anthropológusokat, mert feltűnt nekik mielőtt egyedül ezt tették meg a természet divisionisnak — annyira elvezetésnek, állandóságnak megfigyelésük alkalmát az emberfajnak felosztásánál, illetve csoportosításánál.

Az első ilyen alapon történő felosztást GOSSETT St. HILAIRE nyomán J. MÜLLER végezte. Felosztását az alábbi táblázat mutatja.

Heterotriches		Ditotriches	
gyapjas haj, kevés keratinizációval		rövid haj, kevés keratinizációval	
Euphotomi (csatorna)	Eriocomi (gyapjas)	Euthyromi (szerev)	Euphotomi (faj)
pápa	halla	szerev	szerev
hottentotta	weger	szerev	szerev

BUDAPEST,

KIRÁLYI MAGYAR EGYETEMI NYOMDA

1926.

FAJ ÉS HAJ

DOKTORÁLTUDÁS ÉRTÉKELÉSE

KOLLER K. PIUS

ORV. REÁLT. TÁNDY



BUDAPEST
Királyi Magyar Egyetemi Nyomda Budapest, VIII, Múzeum-körút 6.
(Főigazgató: Dr. Czákó Elemér.)

A HAJ FONTOSSÁGA FAJOK MEGHATÁROZÁSÁNÁL.

A mult század második felében új természettudományi ág sarjadt és olyan nagynevű kutatók keze alatt, mint TOPINARD, BROCA, SCHWALBE, WIRCHOW, KLAATSCH — hatalmas studiummá mélyült. Ez az új természet-tudomány az anthropologia.

Feladata az emberek közötti különbségek öntudatos vizsgálata volt s ezen az alapon hí képet akart nyújtani az emberiség származásáról és felosztásáról. Mert DARWIN nyomán új értelmezésben ismerik meg a faj fogalmát s az anthropológusok igyekezete elsősorban is az, hogy eme új kategóriába sorozzák bele döntő s jellemző kritériumok alapján az emberiség rokonsortjait.

Azok között a faktorok között pedig, melyeket a faji elhatárolás alkalmával tekintetbe vettek a természettudósok — már a legelső úttörőknél is ott szerepelt a haj. WALDEYER, GEOFFROY ST. HILAIRE nyomán J. MÜLLER, TOPINARD, BLUMENBACH igyekeztek a hajnak fajmeghatározó szerepet tulajdonítani. A rokonsortokon mutatkozó haj állandósága teljes joggal figyelmet kelthetett.

Sőt több esetben tévútra vezette is az anthropologusokat, mert feltűnő volta miatt egyedül ezt tették meg a fundamentum divisionisnak — annyira ellegzetesnek, állandónak s megbízhatónak találták az emberfajták felosztásánál, illetve csoportosításánál.

Az első ily alapon történő felosztást GEOFFROY ST. HILAIRE nyomán J. MÜLLER végezte. Felosztását az alábbi táblázat mutatja.

Ulotriches gyapjas haj, ovális keresztmetszettel		Lissotriches síma haj, kerek keresztmetszettel	
Lophocomi (csomós)	Eriocomi (egyenletes)	Euthycomi (merev)	Euplocomi (laza)
pápua hottentotta	kaffer, néger	ausztráliai maláj mongol arktikus amerikai	dravida nubiai földközi

Ez a beosztás azonban teljesen elhízott volt, hiszen csak egyetlen kritériumot vett tekintetbe. Ennek a következménye pedig az lett, hogy egymástól nagyon is elütő emberfajták közvetlen egymásmellé, ugyanegy kategóriába kerültek, pl. a mongol és ausztráliai.

TOPINARD felosztása már komoly bűvárkodás eredményein épült fel és tudományos értéke sokkal nagyobb, mint a MÜLLER-féle rendszeré, amely három nagy csoportot különböztet meg.

A. csoport

A haj merev kerek keresztmetszettel		
vörösszín	olajbarnaszín	sárgaszín
eszkimó rézbőrűek	mexikóiak peruiak	karaibok mongolok malájok szamojédek

B. csoport

A haj laza és keresztmetszete ovális						
dolichocephal				brachiocephal		
szőke	barna	fekete	vörös	szőke	gesztenye- barna	barna
skandináv angolszász	földközi szemita	ausztráliai abessziniai	fulbék	finnek	kelták szlávok	irániak

C. csoport

A haj gyapjas, elliptikus keresztmetszetével	
sárga	fekete
busman	pápua kaffer néger

A BLUMENBACH-féle még mai nap is használatos felosztásnál a hajnak is fontos szerepe van. E bélyeg azonban nem kizárólagos, mert BLUMENBACH e jellegen kívül más tulajdonságokat is figyelembe vett.

A származástan és fejlődéstörténet kutatásai mind azt bizonyítják, hogy még az ilyen, látszólag külsőségeken alapuló faji megkülönböztetéseknek is természettudományos tényeken kell alapulnia.

A koponya alakja, az arc szögei, az orr alakja stb. mind fontos a fajok jellemzésénél. Azonban a *variabilitással* mindig számolnunk kell, ennek nemcsak maga az egyén, hanem annak minden szerve is alá van vetve. E szabály természetesen a hajra nézve is érvényes. Ezzel azonban nem akarjuk a hajnak, mint fajmeghatározó jellegnek értékét gyöngíteni, mert az egyéni variabilitás nem fosztja meg a jellemző tulajdonságokat (amilyen pl. a koponyaalkat, az orr alakja, az arc szabása stb.) átütő erejüktől. Épen ezért nem minden alapnélküli az előbb említett rendszerek felállítása sem, amikor úgyszólván csak a haját tekintették anthropológusaink a fundamentum divisionisnak.

Helyénvaló lesz GUSTAV FRITSCH szavait idéznünk, melyek 15 év elmélyedő tudományos vizsgálatain nyugszanak; „Mann muss also auch bei Haarwuchs den breitesten Spielraum für individuelle Abweichungen lassen, und wird trotzdem über eine typische Gestaltung derselben nicht im Zweifel zu sein brauchen“. Az individuális variáció túlságos kielezése mellett lehetetlen volna típusokat elkülönítenünk s a síma fekete haj nem lehetne jellemző a mongolokra; a göndör, fekete a négerekre stb.

Fontos még megemlítenünk azt is, hogy a *fajkeveredések* a jellegeket nem tudták elnyomni. A faji jellegek állandóságán alapul minden kutatás, mely ez emberi fajt rasszokra igyekszik felosztani. Példaképpen csak az északi fajtát (*Homö borealis*) említjük meg: ez évezredes keveredés ellenére is megtartotta hajának szöke színét, hullámos alkatát és puha tapintását.

Három kiváló bűvár nevét kell megemlítenünk, aki a fentemlített alapokra támaszkodva a hajnak faj-meghatározó értéket tulajdonított s vizsgálatai eredményével állandósította ezt a felfogást. PRUNER-BEY, GÖTTE és HILGENDORF munkáira célunk. Nem voltak úttörők, de a felvetett gondolatot valósággá érlelték. PRUNER-BEY hangsúlyozza, hogy a haj állandó faji karakter. HILGENDORF pedig a haj keresztmetszetének állandóságát hirdeti. FRITSCH kissé óvatos az utóbbival szemben, de a haj keresztmetszetének fajmeghatározó értékét ő sem tagadja, föltéve, hogy a haj keresztmetszete mellett egyéb jellemvonásokat is tekintetbe veszünk.

S valóban SCHEFFELT német anthropológus nemrég megjelent értekezése, minden kétséget eloszlat e téren. Ő a hajvizsgálatok alkalmával, — melyeket Dél-Németországban (Bajorország, Würtemberg) sok száz egyénen végzett, nemcsak különböző fajokat s ezek keveredését, hanem még jól körülírt rasszokat is ki tudott mutatni. Vizsgálatainak alapját pedig a haj keresztmetszete szolgáltatta.

Nyilvánvaló tehát, hogy vannak állandó fajikarakterek s a haj ezek közé a tényezők közé tartozik.

A múlt században annyira túlhajtott milieu-elméletnek ma már nincs jogosultsága. RIPLEY 1910-ben „The Races of Europe“ néven megjelent munkája volt az első anthropológia, amely beható vizsgálatokra támaszkodva

kimondotta, hogy a külső tulajdonságok, állandóság esetén fajmeghatározó bélyegül tekintendők. Nagy visszahatás ez az említett milieu-theoriára, amely csak kevertvérű „emberfajokat“ akart elismerni, melyeknek faji jellege a környezet ráhatásai következtében elenyészett. Az anthropológusok fáradozásai azonban megdöntötték a milieu-elméletet s a mai anthropológia olyannak látja az embert, amilyenné származásának belső okaiból fejlődött.

A faj fogalmának meghatározása azonban rendkívül nehéz s ez az oka annak a sok félreértésnek és zavarnak is, amely az irodalomban uralkodik. Sőt egyesek, látszólagos bizonytalansága miatt csak az osztályozó értelem segédeszközéül használják e fogalmat. Így pl. STEIN: „Kultur und Rasse“ művében. Sokan a faj határait a nyelvhatárokkal azonosítják, ami pedig csak ritka esetben lehetséges.

A faj természettudományos fogalom, mely a hasonló testi és ami önként érthető, GÜNTHER szerint hasonló lelki tulajdonságokat tanúsító egyedeket foglalja össze. Ezt először 1889-ben TOPINARD hangoztatta s azóta ez a magyarázat az anthropológusok körében is meggyökeresedett. Sok tudós szerint a faj meghatározásánál legfontosabbak a testi tulajdonságok, mert a lelki tulajdonságok nagy mértékben a testi konstitúció függvényei gyanánt értelmezhetők.

S ezt az állítást a szerológia legújabb kutatásai is igazolják. Ugyanis a faji fehérje konstitúcióján alapszik a faji hasonlóság, illetve különbözőség minden tapasztalható jelensége. Mert „a különböző fajok fehérjevegyületei csak látszólag egyformák, kémiai szerkezetük finomságában lényegesen különböznek s ennek megfelelően a bennük levő különleges energiák által a szervezet morfológiai alkatára és pszihikai nyilvánulásaira is rányomják a maguk bélyegét.“ (MÉHELY.)

Ennek előrebocsátásával áttérhetünk dolgozatunk tulajdonképeni tárgyára, mely a hajjal, mint faji jelleggel foglalkozik. — Látni fogjuk, hogy bizonyos körülmények között ez a bélyeg is uralkodó az öröklés folyamán s mint ilyen szintén a faji fehérje emanatiójának megnyilvánulása, egymással való hasonlósága, különbözőése ebben találja alapját.

A VIZSGÁLAT EREDMÉNYE.

Az előző fejezetben mondottak szerint világos, hogy a haj nagyon fontos faji jelleg, mert a haj színe, alakja, milyensége az illető fajra nézve mindig jellemző. Igaz ugyan, hogy a hajnál épen úgy, mint más faji jellegnél, meg kell engednünk bizonyos variációt, melyek öröklődhetnek, ha ingereik a csiraplazmát érintették, azonban az örökléskép megszilárdulása oly hosszú időt vesz igénybe, hogy a faj praktikus meghatározását semmikép nem érinti.

Vizsgálataimat két családra terjesztetem ki, még pedig a WEISZ és LEHNERT családra. Sorba vesszük az egyes családokat, a családok minden tagját és vizsgáljuk a haj szerkezetét, megjelenési formáját stb.

1. Weisz-család.

Az apa származását tekintve tipikus zsidó. Állítása szerint azonban a nagyszülők közül az apa már német vért vett fel s lehet hogy ez a vér WEISZben éreztette hatását. Az anthropológiai bélyegek nagyrészt zsidó bélyegek; nevezetesen koponyája rövid, ajkai duzzadtak, fülei elállóak, orra hajlott: „zsidó-orr.”

Az anya magyar, ha nem is tiszta, de nagymértékben a magyar vonások uralkodnak megjelenésén. A magyar faji tényezőkön kívül azonban még a *Homo borealis* tulajdonságai is kifejezésre jutnak rajta, mert a haja szőke és arca keskeny.

Az apa haja. (Tábla: A) A 375-szörös nagyítással vizsgált haj barna színű. A pigment inkább a kerületi tájékon van felhalmozva, még pedig nem egyenletesen. Ha kénsavban melegítettük a haját, gyorsan meggömbült és a *cuticula pili* megszarosodott sejtjei annyira felborzolódtak, hogy a *cuticula* a kéregállomány fele vastagságát is elérte. A haj hullámos és merev tapintású.

Az anya haja. (Tábla: B) Az anya haja egészen szőke. Az ugyancsak 375-szörös nagyítással készült kép meglepő pigment hiányt tüntet fel. Az is feltűnő, hogy a kevés pigment inkább a sejtközi járatokban, vagyis intracellulárisan húzódik meg. Ez okból a haj barnán vonalkázottnak látszik. Ez a bélyeg ugyan más hajon is felöltlik, de nem ilyen határozottan. Az apa hajánál inkább pigmentrögök dominálnak, itt a diffusiv festékanyag van jelen. Kiemelendőnek tartom, hogy az anya haja sárgás-vörhenyes fényű, mely tulajdonság a *Homo borealis* kiváló bélyege. (GÜNTHER.) A haj teljesen síma és puha tapintású.

A gyermek haja. (Tábla: C) A 14 éves fiúgyermek haja barna. Nem olyan mértékben ugyan, mint az apáé, de anyja hajszínénél határozottan sötétebb. A pigment: rögöskékben inter- s intracellulárisan is megtalálható, még pedig egyforma mértékben eloszolva. A haj barna színét okozó festékmenyiség zöme itt is a kéregállomány kerületén halmozódik fel. — A haj hullámos, göndörnek mondható. Az apa haja nem annyira hullámos, mint a gyermeké. Emellett az utóbbi haja igen merev, úgy hogy a hajzat alakítása csaknem lehetetlen. A *cuticularis* réteg vastag és zsíros, aminek okát nyilván abban kell látnunk, hogy a gyermekkor fagyúmirigyei sokkal tevékenyebbek, mint idős egyéneknél.

Már előző fejezetünkben rámutattunk mennyire fontos a haj alakja és keresztmetszete a fajmeghatározás tekintetében. Azonban a megítélés alapjául szolgáló készítmények sok türelmet igényelnek.

Ha csak egyszerű celloidin beágyazást alkalmaztunk, akkor a hajkeresztmetszet 3—5 μ -os készítményei 95%-ban kiestek. Mindazonáltal a megfelelőbb kettős (celloidin + paraffin) beágyazástól mégis el kellett tekintenünk, mert az át nem látszó dúcban nagyon nehéz a hajszálnak merőleges beállítása. Ezért a nehezebb kezeléssel celloidin beágyazás mellett kellett maradnunk, mely módszer azonban rengeteg időt vett igénybe. Mindenesetre sokkal megfelelőbb s könnyebb kezelést igénylő keresztmetszeteket lehet előállítani, ha a haját a fejbőrrel együtt metszhetjük, ami azonban a mi esetünkben a dolog természete szerint lehetetlen volt.

Az apa hajának keresztmetszete. (Tábla: a) A nagyítás mértéke ismét 375. A haj alakja *ovális*. A *cuticularis* szegély — aránylag széles övezete a fénytörés következménye. A rajz pontossága megkövetelte, hogy a fénygyűrű konturját is feltüntessük.

A keresztmetszet, mint látjuk teljesen megfelel az előbb vázolt teljes képnek. A barna szín dominanciáját a festékanyag gazdagsága árulja el. A kéregállomány pigmentje a kerületen van felhalmozva.

A bélállomány igen gyakran excentrikus fekvésű, nem az alaprajz középpontjában foglal helyet. A bélállomány sejtei finom pigmentet tartalmaznak, ami annak a jele, hogy idős hajjal van dolgunk. (FRITSCH). Feltűnő a festéktől mentes udvar is, mely körülveszi a bélállományt.

Ha a keresztmetszetnek és a teljes hajszálnak képét szín tekintetében összehasonlítjuk, akkor az előbbi halványabbnak látszik. Ennek oka a hajkeresztmetszet 5 μ -os vékonysága, melyen áthatoló transzparens fény tompítja az eredeti színt.

Az anya hajának keresztmetszete. (Tábla: b) Az anya hajának keresztmetszete az apától lényegesen elütő. Csaknem *kör alakú*. A bélállomány sötétebb árnyalatú, mint a kéregállomány. Ez amellet szól, hogy a bél sejtei hosszabb életűek, mint a kéregsejtek, miért is ez utóbbiak nagyobb mértékben kiszáradhattak.

Az anya hajában kevés pigmentet is találunk de az egyenlőtlen elhelyezkedés nem befolyásolja a haj szőke színét. A diffuzív festékanyagon kívül elhíntve láthatók élénken barna pigmentrögök, melyek megfelelnek a habitussképen látható barna vonalkák alakjában jelzett pigmentnek.

A gyermek hajának keresztmetszete. (Tábla: c) A zsidó apa és magyar anya kereszteződéséből származott gyermek hajának keresztmetszete: *elliptikus*. Teljesen elüt az anya hajának kör alakjától s némiképp az apa hajának keresztmetszetétől is különbözik. De mindennek ellenére is megállapítható; hogy a gyermek haja mind színében, mind alakjában a zsidó apa hajához hasonlít.

A haj keresztmetszete hosszukás tojásdad, tehát elliptikusabb, mint az apa hajának keresztmetszeti képe. A haj természetét a haj alakja határozza meg (PRUNEY), mennél elliptikusabb a haj keresztmetszet, annál inkább

göndör vagy hullámos. A gyermek haja elliptikusabb, mint az apa haja, tehát hullámosabbnak is kell lennie, amit a valóság is igazol.

A pigment nincs annyira összetömörítve, mint az apa hajában, s ez okozza a gyermek hajának világosabb színét. A festékanyag különben a kerületen helyezkedik el.

Vizsgálatunk eredménye nyilvánvaló. Általánosan ismeretes, hogy a zsidóbélyegek a zsidó—nemzsidó kereszteződés esetén uralkodóan öröklődnek s ezt az öröklésszabályt erősíti meg a mi fentebbi tapasztalatunk is.

2. Lehnert-család.

Ebben a családban épen ellenkező viszonyokat találunk, mint az előzőben. Itt az anya zsidó származású, míg az apa a Magyar Alföld északi részéből származó ugoros magyar. A MÉHELY professzor közölte képeknek egyike, mely ugoros magyart ábrázol — megszólalásig hasonlít a LEHNERT család fejéhez. Anthropológia jegyeit tekintve, GÜNTHER szerint keletbaltinak (*Homo balticus*) kellene neveznünk.

Az apa haja. (Tábla: D.) A 375-szörösen nagyított haj színe szőkének látszik, de némi barnás árnyalatot is meg lehet rajta különböztetni. Ha tipikusan szőke hajjal hasonlítjuk össze, akkor azt látjuk, hogy e haj amannál pigmentben sokkal gazdagabb. A kéregállomány külső részén van a festékanyag túlnyomó tömege elhelyezve. A haj síma, hullámosság csak nagyon kis mértékben vehető észre. A haj tapintása puha.

Az anya haja. (Tábla: E.) Az anya hajszíne sötétbarna, szinte fekete tébe hajló. A festékanyag rögöcskében, intracellulárisan van elhelyezve. Sok hajszálon bizonyos melléksajátságok is megfigyelhetők. Ugyanis a pigment az egymásfelett levő sejtek közötti járatokban is mutatkozott, aminek következtében bizonyos harántirányú vonalkázottság ötlött fel a habitus képen. — A haj hullámos, tapintása puha.

A gyermekek haja. (Tábla: F.) A 14 éves fiúgyermek haja határozottan sötétbarna, csaknem fekete. A pigment nemcsak a kéregállományban, hanem a bélállományban is megtalálható, még pedig ez utóbbiban aránylag nagyobb mértékben van jelen. A haj hullámos és merev tapintású.

A táblán: G-vel jelölt 12 éves leánygyermek haja világosbarna. A pigment rögökben van felhalmozva és egyes helyeken nagyobb mértékben van koncentrálna. A *cuticuláris* szegély a többiekhez viszonyítva — széles. A haj hosszúnövésű, göndör; nagyon erős hullámokban omlik alá. Tapintása puha.

Az apa hajának keresztmetszete. (Tábla: d.) Alakja tojásdad. A *cuticuláris* szegély szabálytalansága a beágyazásnak és metszésnek a következménye, ez azonban nem befolyásolja a képet, mert a kéregállomány a haj alakját is híven adja vissza. — Pigmentben elég gazdagnak látszik, talán még több festék is van a képen, mint amennyi szükséges a barnás

árnyalatú szőkeség előidézéséhez. Ennek oka az, hogy a rajz vastagabb metszet után készült s így a színezés sötétebbnek tűnik fel, mint amilyen a valóságban a haj.

Az anya hajának keresztmetszete. (Tábla e.) Fontos a haj alakja, melyet határozottan *elliptikusnak* kell mondanunk. Több hajszál keresztmetszetén kisebbfokú homorúság ötlik fel a haj egyik oldalán. Ez a tulajdonság különösen a göndör hajnak a sajátja. Pigmentben elég gazdag. A bélállomány centrálisan fekszik és pigmentnélküli szegély veszi körül.

A gyermekek hajának keresztmetszete. (Tábla f és g.) Az f-el jelzett fiúgyermek haja barnaszínű s a bélállomány is pigmentben gazdag. Ha a természetben barna hajjal hasonlítjuk össze, akkor látjuk, hogy e fiú haja annál jóval sötétebb, szinte feketébe hajló. A haj alakja *elliptikus*. Bizonyos szabálytalanság észlelhető a haj-keresztmetszetben s ez amellet szól, hogy itt még az alakban bizonyos eltolódás fog fellépni — mégpedig oly értelemben, hogy a haj még inkább elliptikus lesz.

A festékanyag rögöcskéi nagy mennyiségben csoportosulnak a kerületi tájékon.

A g-vel jelölt leánygyermek hajának keresztmetszete elárulja, hogy pigmentben szegény. Itt inkább a diffusivpigment van túlsúlyban. A haj alakja *elliptikus*. A bélállomány szinte eltűnik, annyira halavány.

* * *

Az összehasonlítás kedvéért tisztán zsidó származású, tehát zsidó apától és zsidó anyától született gyermekek haját is megvizsgáltuk. Az eredmény a következő:

A táblánkon M-el jelölt kép 280-szoros nagyítással vizsgált zsidó haját ábrázol. Az L-el jelölt kép ugyanezt a haját 420-szoros nagyítással mutatja be. Látjuk, hogy a haj színe fekete, pigmentben nagyon gazdag. A bélállomány, annak ellenére, hogy a kéregállomány elég vastag, mégis bizonyos mértékben halvány körvonalaiban felismerhető. A festékanyag mind a kéreg sejtjeiben, mind pedig a sejtközötti járatokban megfigyelhető. A *cuticuláris* szegély keskeny.

A H-vel jelölt zsidó haj inkább csak azért került bele összeállításunkba, hogy megerősítsük FRITSCH állítását. Ő ugyanis azt mondja, hogy a zsidó haj jellegzetes színe a fekete szín, mely minden szőkeség ellenére is kiütözik, ha máshol nem, hát a haj gyökerében. A bemutatott zsidó haj szőke — ami igen nagy ritkaság — s a hajgyökérben ott van a fekete szín maradványát hirdető pigmentfölhalmozódás.

A zsidó hajon végzett keresztmetszet egyik legfontosabb képünket szolgáltatja. (Tábla: r. s. t.) Három különböző családból származó zsidó diák hajából készültek a keresztmetszetek s annyira megegyeznek, hogy szinte egy fejről származottaknak gondolhatjuk.

A zsidó haj alakja *elliptikus* és egyik oldalán enyhe homorulat jellemzi. A 420-szoros nagyítással készült képen ez nagyon jól látszik. A keresztmetszet igazolja, hogy a haj göndör, vagy legalább is hullámos. Ez a zsidó tulajdonság viszont arra vall, hogy a zsidó faj története folyamán néger vérrrel kereszteződött, mert ennek a fajnak tulajdonságát hirdeti az erősen göndör haj.

A pigment elosztódása sajátosságos. A festékanyag f.ltszerűen helyezkedik el a kéregállományban. A bélállományban is van pigment, jele annak, hogy a haj feketeszínű.

A nyert adatokat könnyebb áttekinthetőség kedvéért táblázatba foglaltam.

Weisz-család.

	Szín	Habitus	Keresztm.	Tapintás
Apa (zsidó)	barna	hullámos	tojásdad	merev
Anya	szőke	síma	köralakú	puha
Gyermek (fiú)	barna	göndör	elliptikus	merev

Lehnert-család.

	Szín	Habitus	Keresztm.	Tapintás	
Apa	szőke (barnás)	síma	tojásdad	puha	
Anya (zsidó)	sötétbarna	hullámos	elliptikus	puha	
Gyermekek	fiú	feketés- barna	hullámos	elliptikus	merev
	leány	világos- barna	göndör	elliptikus	puha

Zsidók haja.

Szín	Habitus	Keresztmetszet	Tapintás
feketebarna	göndör	elliptikus-ovális	merev

Ebből a három táblázatból a következő eredményre jutunk: A WEISZ-család egyetlen gyermeke zsidó apa és magyar anya kereszteződésből származik. A fiúgyermek haja barna, tehát a zsidó apa hajszínét örökölte. Erősen hullámos, szinte göndörnek mondható. Csak az apa haja hullámos, a magyar anyáé síma. A haj milyensége is a zsidó apa tulajdonságát tünteti fel. Legfontosabb azonban a keresztmetszet alakja: az apáé és a fiúé elliptikus, míg az anyáé határozottan kör alakú. Sőt a gyermek haja még az apa elliptikus hajalakját is fölülmulja, annál is elliptikusabb és inkább megközelíti a zsidó haj típusát, mint a zsidó szülője.

Levonjuk tehát következtetésünket, mely szerint *zsidó apa és magyar anya kereszteződéséből született gyermek haján a zsidó apa tulajdonságai, mint domináns tulajdonságok öröklődnek.*

A LEHNERT-családnál magyar apa kelt egybe zsidó anyával, mely házasságból egy fiú és egy leány származott. A fiúgyermek hajszíne épen olyan, mint zsidó anyjáé, hasonlóképen habitusáról és elliptikus keresztmetszetéről is ugyanezt kell mondanunk. A leány haja színében anyjához hasonlít, habitusa göndör, épen úgy, mint a tipikus zsidóhajnál tapasztalható. Keresztmetszete olyan, mint zsidó anyjáé.

Tehát *magyar apa és zsidó anya gyermekei a zsidó anya hajának tulajdonságait öröklik.*

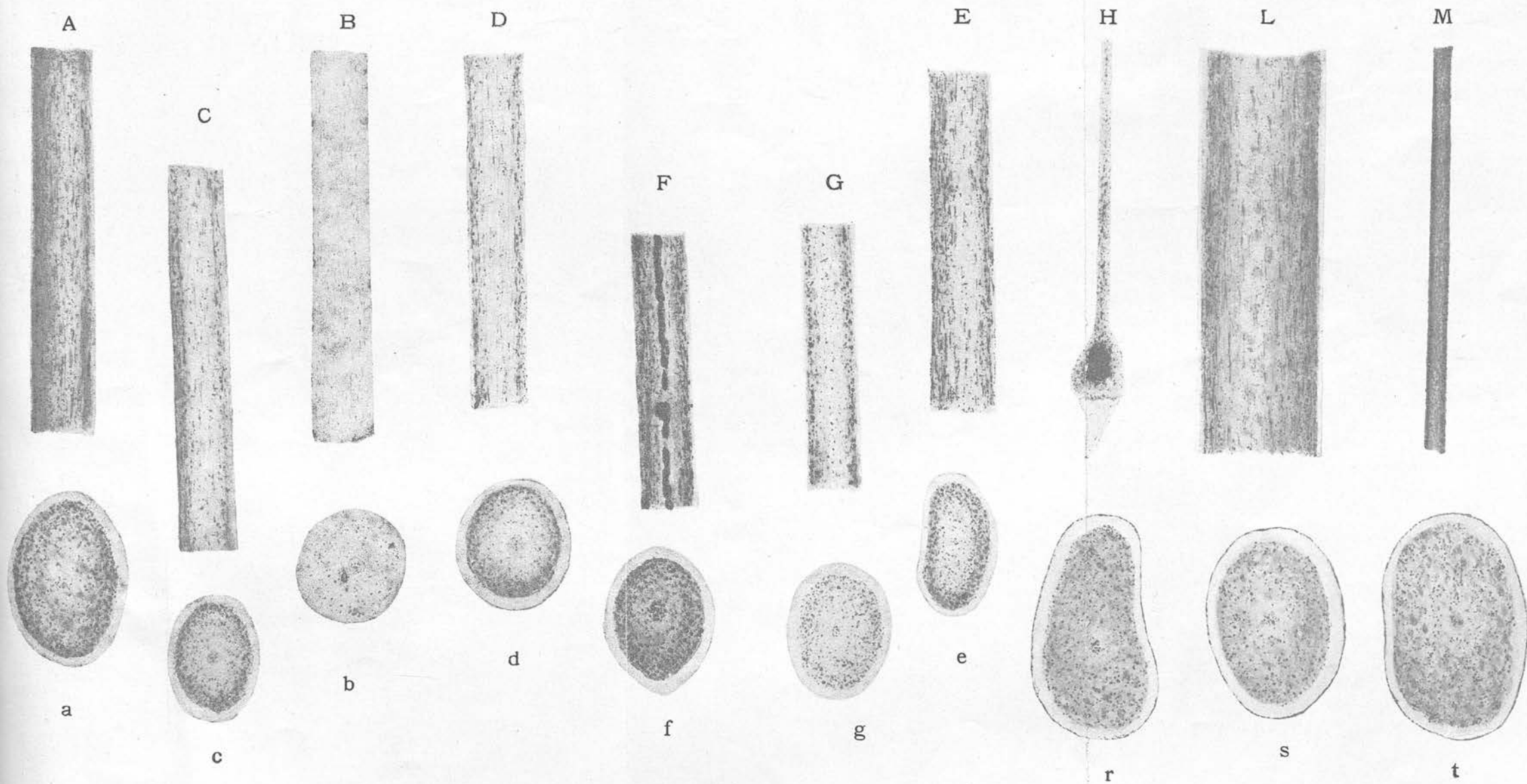
Vizsgálataink tehát megerősítik azt az igazságot, hogy zsidó—magyar kereszteződésből az első generációban teljesen zsidó tulajdonságokkal bíró gyermekek származnak. MÉHELY LAJOS hangoztatta ezt hazánkban először s mi az ő megállapítását saját vizsgálatainkkal is megerősíthetjük.

A vérkeveredésből a zsidóvér kerül ki győztesen, mert nagy átütő erejénél fogva saját tulajdonságait nyomja rá utódaira. Ha ez a folyamat általánossá válnék, a magyarság teljes elzsidósodására vezetne.

A zsidóvér nagyobb átütő erejét bizonyítja az a tény is, hogy az ú. n. keresztezett átütés lép fel az öröklésnél, pedig ez nagyon ritka. Így pl. a LEHNERT-családban az anya a zsidó és a fiúgyermek haján az anya tulajdonságai lépnek fel. Ez csak úgy lehetséges, ha a zsidóvér nagyobb átütő erővel rendelkezik. Ha pedig állandóbb és ellenállóbb a magyar vérrrel szemben, akkor mivel a vér, illetve a benne levő faji fehérje végső elemzésben összes testi és szellemi tulajdonságainknak is meghatározója, a zsidó fajtával való nagyobb mértékű keveredés az egész magyar fajta halálos veszedelme volna, mert teljesen kivetkőzötné őseredeti jellegéből!

szín	habitus	Keresztmetszet	Tulajdonság
színes	göndör	elliptikus-ovális	magyar
színtelen	színtelen	kör alakú	zsidó

FAJ ÉS HAJ.



FELHASZNÁLT IRODALOM.

CLASEN : Die Haut und das Haar. Stuttgart, 1892.

FALKENSTEIN : Haarfarbe und Haare von Negeren. (Zeitschrift f. Ethnol. Bd. 9. 184—195. o. 1877.)

FRÉDÉRIC : Untersuchungen über die Rassenunterschiede der menschlichen Kopfhare. (Zeitschr. f. Morphologie u. Anthropol. Bd. 8. 66. o. 1876.)

FRICTH : Das menschliche Haar als Rassenmerkmal. (Zeitschrift f. Ethnol. Bd. 17. 279. o. 1885.)

FRICTH : Über Rassenhaare. (Internat. Monatschr. f. Med. u. Naturwissensch. Bd. 3. 1896.)

FRICTH : Über die Ausbildung der Rassenmerkmale des menschlichen Haupthaares. (Sitzungsber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wissensch. 1896. ápr. 23.)

FRICTH : Über die Entstehung der Rassenmerkmale des menschlichen Kopfhaares. (Korrespond.-Bl. d. deutsch. Ges. f. Anthropol. u. Ethn. 1898. júl. 28.)

MÉHELY LAJOS dr. : A magyar fajvédelem irányelvei. (Cél 1926. 4—8. sz.)

POHL-PINCUS : Das Haar. 1903.

SCHEFFELT : Rassenanatomische Untersuchungen an europäischen Haaren. (Archiv f. Anthropologie. Bd. 14. 1915.)

UNNA : Das Haar als Rassenmerkmal. (Korrespond.-Bl. d. deutsch. Ges. f. Anthropol. u. Ethn. 1898. 54. o.)

WIRCHOW : Allerhand Haarproben aus den verschiedensten Gegenden der Erde. (Zeitschr. f. Ethnologie. Bd. 24—30.)
