



Fig. 1a. – Photograph of a spermatogonial plate with 24 chromosomes (only 23 are visible in the focal plane).

PODA, *L. bellargus* ROTT., but as far as I know no attempt has been made in order to discover a possible cytologic mechanism responsible for the apparent intersexuality.

I began a systematic investigation of the phenomenon of the phenotypical female intersexuality in the *argellus* variety of the *Lycæides idas* L.

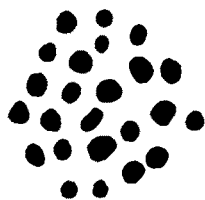


Fig. 1b. – The same in a camera lucida drawing.

As an introduction to cytological and genetical study, the first results are here summarized¹. Two males were examined, while the oogenesis was too difficult for studies, owing to the large amount of cytoplasm in the cell. The tests were taken from the pupa (kept in culture) a few days before hatching. Fixation followed in La Cour fluid², and the observations were made on 10 μ thick sections stained with Feulgen's reactive.

The metaphasic plates of the gonial cells showed that the chromosome number varies in different cells of the same individual. Only plates lying in a plane perfectly perpendicular to the microscope axis were considered, in order to avoid mistakes. In one individual the following numbers were found: 24 (three times) (Fig. 1, a, b), 23 (one time) (Fig. 2). In the other individual: 19, 20, 22 (each number one time). In both pupæ the metaphases belonged to different gonial generations, as it

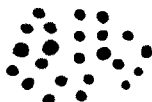


Fig. 2. – Another spermatogonial plate with 23 chromosomes.

¹ I am indebted to Prof. C. BARIGOZZI for advices and criticism in the present work.

² Methylic alcohol 15 parts; acetic acid (5%) 5 parts; formalin 1 part; dist. water 3 parts.

may be concluded from the different chromosome size.

The plates in side view showed some abnormalities in three cases. Twice one chromosome proceeded undivided towards one pole (Fig. 3). Less clearly the same phenomenon was observed in a I-meiotic division.



Fig. 3. – Gonial spindle in side view with a chromosome proceeding undivided towards one pole.

In diakinesis stages of both individuals, numbers varying from 9 to 13 were observed.

These observations on the variability of the chromosome number allow us to infer the possibility that unbalanced sets may be produced. These might be the cause of abnormal sexual characters (e. g. of the presence, in the same individual, of characters belonging to both sexes) produced by abnormal ratios of the genes determining maleness and femaleness.

Variations in the chromosome number of gonial cells are known only in a few examples. For instance, I may quote an analogous phenomenon in the genus *Forficula* which is probably linked with abnormal sex-ratio (H. G. CALLAN)¹.

A. VALLE

Istituto di Zoologia e Anatomia Comparata dell'Università di Parma, May 22, 1948.

Riassunto

Nella specie *Lycæides idas* L. si osservano variazioni numeriche dei cromosomi anche nelle spermatogonie di uno stesso individuo. Questo fatto è posto in relazione con la presenza nelle femmine dei caratteri secondari dei due sessi, come risultato dell'unione tra gameti con assetti sbilanciati.

¹ H. G. CALLAN, J. Genetics 51, (1941). — C. D. DARLINGTON, New Advances in Cytology (London, 1937).

Déviations expérimentales de l'uretère primaire par la greffe de matériel cloacal chez le Triton¹

Pendant ces dix dernières années le problème du développement de l'uretère primaire chez les Amphibiens a été abordé par les méthodes de l'embryologie expérimentale afin de chercher une solution entre les diverses conceptions qui existaient sur ce point dans l'embryologie descriptive.

O'CONNOR² prouve en 1938, à l'aide de marques colorées et d'opérations, que l'uretère primaire des Urodèles se développe à partir du matériel pronéphritique. Il a pu localiser l'uretère primaire dans la partie postérieure de cette ébauche pronéphritique, et il a pu constater que cette portion postérieure donne naissance à l'uretère par croissance et elongation vers l'arrière jusqu'au cloaque. En 1942, VAN GEERTRUYDEN³ a pu confirmer chez les

¹ Expériences faites à Bruxelles, en avril 1947, grâce à une subvention de la «Nederlandse Commissie ter uitvoering van het Nederlands-Belgisch culturele verdrag».

² R. J. O'CONNOR, J. Anat. 73, 145 (1938); 74, 34 (1940).

³ J. VAN GEERTRUYDEN, Ann. Soc. Roy. Zool. de Belg. 73, fasc. 3, 180 (1942).

Anoures les résultats obtenus par O'CONNOR chez les Urodèles. La conception adoptée par O'CONNOR¹ et par VAN GEERTRUYDEN² est opposée à celle de VAN DETH³, qui a conclu en 1946, que l'uretère primaire se développe *in situ* aux dépens des parties dorsales des lames latérales.

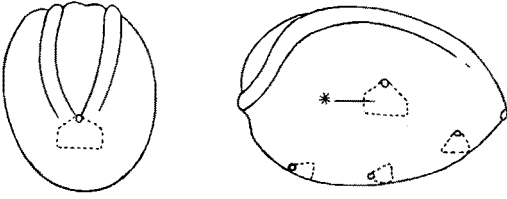


Fig. 1. – Schéma de l'opération. Les divers endroits auxquels la greffe cloacale était implantée sont indiqués.

Pendant le développement normal le canal de Wolff ne vient pas simplement déboucher dans le cloaque, mais celui-ci pousse à sa rencontre un diverticule qui s'unit à l'extrémité libre de l'uretère primaire. O'CONNOR a décrit en 1940 ce diverticule du cloaque et moi-même j'ai découvert aussi, déjà en 1929, que la partie postérieure de l'uretère primaire était colorée au cas où le proctodæum l'était aussi.

Si nous acceptons la conception d'O'CONNOR et de VAN GEERTRUYDEN, une nouvelle question se pose, celle de connaître les facteurs qui déterminent le parcours normal de l'uretère primaire et sa prise de contact avec le cloaque.

Parmi ses embryons provenant de blastulas et gastrulas soumises à la centrifugation, PASTEELS⁴ avait rencontré des embryons avec un proctodæum secondaire

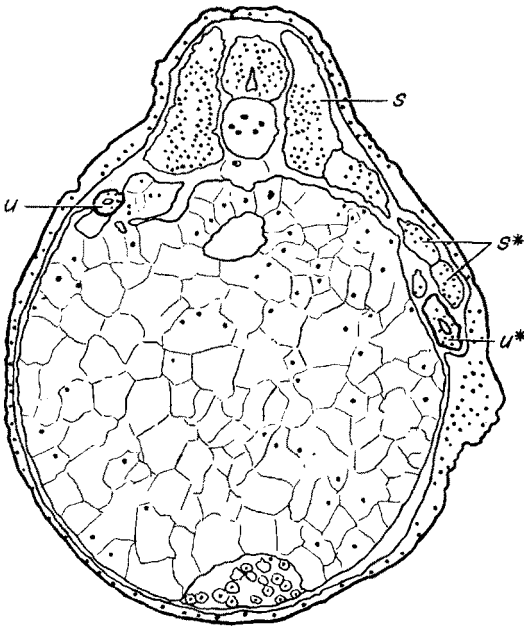


Fig. 2. – Coupe transversale d'un hôte. L'uretère primaire du côté opéré prend un cours plus ventral que celui du côté normal. s somite de l'hôte; s* somite du transplantat; u uretère primaire normal; u* uretère primaire du côté opéré.

(détail non publié). Dans ces embryons, un tube se détachant de l'uretère primaire s'étirait jusqu'au cloaque secondaire. Cette observation suggérait que le cloaque pourrait exercer une action attractive sur l'uretère primaire pendant le développement normal. C'est pourquoi MM. DALCQ et PASTEELS m'ont proposé de transplanter l'ébauche d'un proctodæum dans un autre embryon, avant que l'uretère primaire se soit développé, afin de réaliser ainsi des embryons avec un cloaque secondaire. Effectivement, dans un certain nombre de cas, l'uretère primaire a montré une réaction à la présence du transplantat. Quoique les expériences ne soient pas encore terminées, ces résultats méritent d'être signalés.

Dans la série des opérations que j'ai entreprises, j'ai employé comme donneur et comme hôte des stades neurula assez âgés de *Triton alpestris*. Le bord du blastopore, accompagné de l'ébauche du proctodæum, située au-dessous du blastopore dans le feuillet externe (BIJTEL¹)

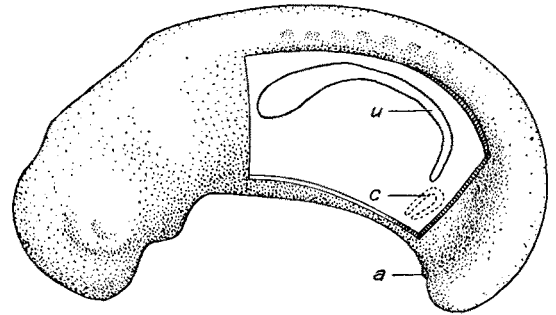


Fig. 3. – Reconstruction du parcours d'un uretère primaire qui a réagi à la présence du transplantat. L'uretère se dirige vers le cloaque secondaire.

c cloaque secondaire; u uretère primaire; a anus de l'hôte.

était extirpé. Ce greffon était implanté dans un hôte aux divers endroits indiqués dans la fig. 1. De cette manière, un proctodæum pouvait se constituer à des distances différentes de l'uretère primaire. Si regrettable que ce soit, la transplantation d'un peu de matériel somitique est inévitable. En effet, le matériel présomptif des somites de la queue se trouve en surface dans la partie postérieure de la plaque médullaire et est en continuité avec le matériel des somites du tronc le long des lèvres latérales du blastopore (BIJTEL^{1,2}); il est fatalement inclus dans la greffe.

La fig. 2 montre une coupe d'un cas positif. La présence du transplantat a entraîné un trajet anormal de l'uretère primaire, qui s'est dirigé vers le proctodæum secondaire, situé ventralement par rapport au parcours normal de l'uretère. L'inflexion ventrale se montre graduelle. Tout près du diverticule cloacal on perd de vue l'uretère et on ne peut observer un abouchement dans le cloaque secondaire (fig. 3). Du côté opéré, l'uretère manque dans la partie du tronc en arrière du transplantat. Il est patent que le proctodæum secondaire a exercé dans ce cas, donné en exemple, une action attractive sur l'uretère primaire. Il n'y a pas de raison de croire que le transplantat a agi seulement comme un obstacle qui a entraîné un parcours anormal de l'uretère.

Les expériences montrent tout d'abord que l'uretère primaire se développe indépendamment du matériel des

¹ R. J. O'CONNOR, J. Anat. 73, 145 (1938); 74, 34 (1940).
² J. VAN GEERTRUYDEN, Ann. Soc. Roy. Zool. de Belg. 73, Fasc. 3, 180 (1942).
³ J. H. M. G. VAN DETH, Research in Holland, Experimental Embryology 20 (1946).
⁴ J. PASTEELS, Exper. 3, 73 (1947).

¹ J. H. BIJTEL, Over de vorming van den staart bij Amphibiën (Diss., Groningen 1929); Roux' Arch. Entw.mech. d. Org. 125, 448 (1931).
² J. H. BIJTEL, Roux' Arch. Entw. mech. d. Org. 134, 262 (1936).

segments successifs et des lames latérales, constatation en accord avec O'CONNOR et VAN GEERTRUYDEN, mais en opposition avec VAN DETH. Les résultats de VAN DETH ayant été communiqués sous forme d'un résumé, il n'est pas possible d'élucider la cause de cette contradiction. D'autre part, il apparaît que l'uretère primaire peut abandonner son trajet normal en présence d'un transplantat contenant un proctodæum secondaire et du matériel somitique et se trouvant à une certaine distance du parcours normal, mais *seulement* au cas où le transplantat était placé sur l'endroit (marque d'un astérisque) de la fig. 1 ou dans les environs de cet endroit.

Quoiqu'on ne puisse encore exclure toute intervention du matériel somitique, les indications actuelles sont nettement en faveur de la notion que le proctodæum greffé exerce une action attractive sur l'uretère primaire. Rien ne paraît s'opposer à ce que cette notion soit transposée à l'étirement normal de ce canal vers la région cloacale. C'est ce que les expériences en cours s'efforceront d'examiner.

J. HUBERTHA BIJTEL

Laboratoires d'anatomie et d'embryologie des Universités de Bruxelles (Belgique) et Groningue (Pays-Bas), le 15. mars 1948.

Summary

A transplant consisting of the rudiment of a cloaca with some somatic material implanted at a certain distance ventral from the normal route taken by the pronephric duct can be the cause of a deviation of the duct from its normal course. The pronephric duct grows towards the secondary proctodæum, whereas the duct is lacking in the part of the body behind the secondary proctodæum. It seems that the proctodæum exercises an attractive effect on the growing pronephric duct.

The results of the experiments, at any rate, are in favour of the conception of O'CONNOR (1938) and VAN GEERTRUYDEN (1942), who found that the pronephric duct develops by its own independent growth. I cannot agree with VAN DETH's opinion (1946), according to which the pronephric duct develops *in situ* out of the dorsal parts of the lateral plate.

Some further Data concerning the Determination of the Mesonephros

(a) Introduction

In this communication some new data will be given to show the great complexity of the relations between the mesonephros on the one hand and the Wolffian duct and pronephros on the other.

The investigation of VAN GEERTRUYDEN¹, 1947, on *Rana fusca* induced me to reinvestigate my experiments on extirpation and transplantation of the pronephros and Wolffian duct rudiment in *Amblystoma* made in the course of my study on the origin of the germ cells in the Urodeles (NIEUWKOOP², 1947).

(b) Normal development

Axolotl larvæ, reared for about 4 weeks, show well-differentiated mesonephros blastemata. The degree of differentiation in successive regions of the trunk, however, markedly decreases in a cranio-caudal direction. Five successive degrees of differentiation may be distinguished.

The most cranial units contain a well-differentiated, much coiled tubule with a nephrostome and an open communication with the Wolffian duct (stage V). In the following rudiment(s) the mesonephros tubule is only beginning to stretch and coil. Communications with the Wolffian duct and the coelomic cavity are not yet present (stage IV). The next rudiments are only beginning to differentiate; they are oblong, and the cells are regularly arranged around a central lumen (stage III). The more caudal parts of the mesonephros show only a rather regular arrangement of the cells in a still massive blastema (stage II) or a first concentration of the presumptive cell-material only (stage I)³.

In normal and experimental animals irregularities in the distribution of the mesonephros rudiments along the longitudinal axis of the trunk can often be observed.

Some experimental animals suggest an explanation. On the operated (R) side of animal 190/1, Fig. 2a, where a rather rudimentary Wolffian duct is present, the degree of differentiation of the successive rudiments alternates *regularly*. Between the highly differentiated units smaller, less differentiated ones are present. They form the "primary" and the "secondary" generations of mesonephros rudiments respectively (cf. HALL², 1904). Irregularities in the localization of the mesonephros rudiments may be caused by relatively late, individual differentiation of mesonephros blastemata, and even by the complete failure of one or more "primary" (e.g. No. 178/9, Fig. 1d, and No. 165/8/9, R side, Fig. 2d) or "secondary" (e.g. No. 192/5/6, Fig. 1c) rudiments to differentiate. In that event, the open space is secondarily filled, wholly or partly, by the adjacent rudiments.

The original "segmental" arrangement of the successive blastemata³ has therefore been more or less disturbed by a secondary shifting in their localization.

(c) *Correlations between the differentiation of the mesonephros rudiments and the presence of the Wolffian duct; dependent (i) and independent (ii) differentiation of the mesonephros blastemata, and the relation of their rate of differentiation to the functional state of the Wolffian duct (iii)*

In the operated animals, in which the pronephros and Wolffian duct rudiments had been wholly or partly extirpated at the early neurula stage⁴, the differentiation of the mesonephros blastemata on the operated side of the trunk varies greatly in individual cases.

(i) A more extensive investigation has brought to light that in half of the cases (6 mesonephros segments in 5 animals) in which, after successful removal of the Wolffian duct rudiment, differentiation of a mesonephros blastema has taken place on the operated side of the trunk, a small part of the Wolffian duct could still be found in the immediate neighbourhood of this blastema (dependent differentiation). Cf. Figs. 1b and d, and 2b and c. In several animals the second or following mesonephros rudiments have differentiated in the presence of a part of the Wolffian duct, whereas the preceding blastema(ta) show(s) no signs of differentiation. Cf. Figs. 1c and d. This shows that the Wolffian duct cells, when they were only in a temporary contact with the presumptive mesonephric cell-material along which they migrated, did not evoke the differentiation of these blastemata. The influence of the Wolffian duct on the

¹ Stage V corresponds to the third phase of development distinguished by VAN GEERTRUYDEN, 1947. Similarly, stages III and IV can be compared with his second, and stages I and II with his first phase of differentiation.

² R.W. HALL, Bull. Mus. comp. Zool. Harvard Coll. 45, 31 (1904).

³ The first three or four "primary" mesonephric rudiments show a uniform "segmental" arrangement, the position of the following ones, however, does not completely agree with that of the segments of the trunk. Cf. HALL², 1904, and GRAY⁵, 1932.

⁴ The operation has been performed on 18 animals; normally on the left side with the exception of two animals marked (R).

⁵ P. GRAY, Quart. J. Micr. Sci. 75, 425 (1932).

¹ J. VAN GEERTRUYDEN, Arch. Biol. 57, 2, 145 (1947).

² P. D. NIEUWKOOP, Arch. Néerl. Zool. 8, 1 (1947).