

figus (CAZAL¹). L'aspect des corpora allata des Leptophlebiidæ rappelle, en beaucoup plus étendu, l'organe décrit par CHAUDONNET² chez *Thermobia domestica* Pack. sous le nom de corps jugal et assimilé par cet auteur à un corpus allatum.

Les Leptophlebiidæ que nous avons examinées possèdent donc des corpora allata de type épithélial; cette structure est généralement considérée comme primitive et il y a lieu de rappeler que les données biogéographiques font considérer la famille des Leptophlebiidæ comme étant fort ancienne (DESPAX³).

Quant aux différences que montre l'examen des individus parvenus aux divers stades du développement, elles représentent la preuve d'une fonction sécrétrice des corpora allata. Les auteurs cités au début de ce travail insistent sur l'absence de tout aspect de sécrétion chez les Ephéméroptères précédemment étudiés et nous-mêmes n'en avons pas trouvé chez les Ecdyonuridæ. Or, l'évolution des cellules des corpora allata et des concrétions centrales démontre que ces organes sont le siège, chez les Leptophlebiidæ, de phénomènes sécrétoires analogues à ceux qui ont été décrits par PFLÜG-FELDER chez *Carausius*.

Conclusion. La structure des corpora allata chez quatre représentants des Leptophlebiidæ répond à un type très primitif. En effet, ces organes sont représentés par des tubes épithéliaux creux, dont la lumière contient un produit de sécrétion acidophile. Les modifications des corpora allata au cours du développement post-embryonnaire démontrent que ces organes sont le siège, chez les Leptophlebiidæ examinées, d'un cycle sécrétoire.

LUCIE ARVY et M. GABE

Laboratoire d'anatomie et histologie comparées de la Sorbonne, Paris, le 24 août 1951.

Zusammenfassung

Bei vier Vertretern der Leptophlebiidæ (*Leptophlebia vespertina* L., *Leptophlebia marginata* L., *Paraleptophlebia submarginata* Steph. und *Habrophlebia fusca* Curt.) wird eine von den anderen Ephemeroptera verschiedene und im allgemeinen bei Pterygota seltene Struktur der Corpora allata festgestellt. Diese Organe sind bei den erwähnten Eintagsfliegen epitheliale Röhren, deren Lumen eine azidophile Substanz enthält. Die Untersuchung verschiedener Stufen der postembryonalen Entwicklung lässt eine sekretorische Tätigkeit der Corpora allata vermuten.

¹ P. CAZAL, Bull. biol. France Belgique, Suppl. 32, 1 (1948).

² J. CHAUDONNET, Bull. Soc. zool. France 74, 164 (1949).

³ R. DESPAX, *Ephéméroptères* dans: Traité Zool. Paris 9, 279 (1949).

Production of Heterozygous Diploids in Filamentous Fungi

In most filamentous fungi the nuclei are haploid throughout the life cycle except for the zygote nucleus which is usually diploid and which immediately undergoes meiosis. Undoubtedly, as an accident of nuclear division, polyploid nuclei (that is, diploid or higher in the hyphae, tetraploid or higher in the zygote) may occur as they do in other organisms. Indeed, the artificial production

of polyploids has been claimed¹. In none of these cases is there conclusive evidence of polyploidy, though in one case¹ there is some. If polyploid nuclei arise, or can be induced to arise, as rare accidents in division, the problem is how to recognise the hyphae carrying them and how to make sure that these nuclei are polyploid. These conditions have been fulfilled in the development of a technique for the production of polyploids in the homothallic *Aspergillus nidulans*. This technique has now been applied with consistent results to the production of polyploids heterozygous for known genetic markers; it can be applied, undoubtedly, to any other filamentous fungus in which heterokaryosis occurs and in which there are uninucleate vegetative cells at some stage in the life cycle.

The technique is based on the following reasoning. When heterokaryotic cells are formed between two strains, differing in two nutritional requirements and/or two morphological characters, the two types of nuclei are segregated into individual uninucleate cells (for instance the conidia in *Aspergillus nidulans*). Following plating, these conidia give origin to colonies which are of either one or the other parental type. If, however, a conidium has been formed which carries a diploid nucleus with one chromosome complement from each parent strain, a colony will arise which differs in characters from both parent strains. In most cases one can reasonably guess in which way the diploid heterozygote should differ from the parents. For instance, if one parent requires one growth factor and the other parent a different growth factor and each of these requirements is known to be genetically conditioned the diploid will probably require neither growth factor. Similarly if one parent differs from normal (green) in having yellow conidia and the other in having white conidia and the two differences are known to be determined by mutation in two different autonomous genes, the diploid (which is heterozygous for both) will probably have green conidia. The reasonable assumption in both cases is that the mutant characters—requirement versus non-requirement mutant colour versus normal colour—are recessive. The diploid will, therefore, be distinguishable from the parental types; it may also be selected out of the mass of parental types by using non-supplemented media.

An example, out of many, in which both colour of conidia and nutritional requirements were used as markers will illustrate the technique in operation. A heterokaryon between a strain requiring lysine and having yellow conidia and one requiring adenine and having white conidia was treated for 5 hours at 37° with d-camphor vapour. Conidia developed after treatment were plated on a medium lacking adenine and lysine. Out of several hundred thousand conidia only a few colonies grew and these had green conidia and, obviously, did not require either growth factor. A variant of this technique is that of treating with camphor vapour a heterokaryotic colony and letting it grow after treatment: in this case the diploid may arise as sectors of green colour in the part of the colony developed after treatment.

That the strains obtained by this technique actually carry diploid heterozygous nuclei is shown by:

- (1) the phenotype of the strains;
- (2) analysis of the ascospores, among which the expected recombinant types are found;
- (3) the fact that all diploid heterozygotes so far produced undergo rare somatic recombination resulting

¹ R. BAUCH, Naturwissenschaften 29, 503 (1941).—E. R. SANSOME, Nature 157, 843 (1946).—E. S. BENEKE and G. P. WILSON, Mycologia 42, 519 (1950).

¹ E. R. SANSOME, Trans. Brit. mycol. Soc. 32, 305 (1949).

in further diploids homozygous for one or more of the "markers" and still segregating for the others¹;

(4) the diameter of the conidia which is approximately 1.3 times that of the parent (haploid) strains;

(5) verification of the number of chromosomes at meiosis²;

(6) the fact that the diploid strains, though tending to become homozygous for any markers for which they were originally heterozygous, remain diploid on indefinite subculture by means of conidia or hyphae, but not always on subculture by means of ascospores.

Haploid strains of *Aspergillus nidulans* invariably produce eight spored asci. The above mentioned diploids show in their young perithecia a large number of zygotes in meiosis which, however, result in few mature asci. These asci, unexpectedly, have mainly sixteen spores. The extremely low viability of the ascospores from diploids has not made possible a quantitative genetical analysis of tetraploid inheritance, but it has shown that both haploid and polyploid ascospores are formed.

J. A. ROPER

Department of Genetics, University of Glasgow,
September 5, 1951.

Résumé

En exposant aux vapeurs de camphre un mycélium de l'*Aspergillus nidulans* hétérocaryotique pour deux types de noyaux génétiquement marqués, on a obtenu des noyaux diploïdes hétérozygotes. Il est probable que ces noyaux diploïdes sont produits par l'inclusion dans un seul noyau de deux groupes haploïdes de chromosomes-fils résultant de la division de deux noyaux de types différents. On a réalisé ainsi une sorte de caryogamie artificielle. Des souches diploïdes sont obtenues par l'isolement au micromanipulateur de conidies uninucléées diploïdes. On peut vérifier le fait que les souches sont diploïdes en observant

- 1° leur phénotypes;
- 2° le nombre de chromosomes;
- 3° la ségrégation et la recombinaison des gènes dans les ascospores;
- 4° la recombinaison somatique;
- 5° le diamètre des conidies.

¹ G. PONTECORVO and J. A. ROPER, J. gen. Microbiol. (in the press).

² G. PONTECORVO (unpublished).

L'accorciamento dei cromosomi nella mitosi e nella meiosi

Osservazioni sulle cellule germinali maschili di *Anacridium aegyptium* L., *Orthoptera*, *Acrididae*

Le modificazioni morfologiche dei cromosomi nel corso della mitosi e della meiosi si possono considerare quantitativamente innanzitutto come allungamenti ed accorciamenti dei filamenti cromatici. Le osservazioni ed i dati quantitativi che si hanno sono relativamente pochi (SPARROW e collaboratori¹, MANTON², SVÄRDSON³).

¹ A. H. SPARROW, C. L. HUSKINS e G. B. WILLIAMS, Canad. J. Res. 19, 323 (1941).

² I. MANTON, Ann. Bot. London N. S. 9, 155 (1945); Biol. Rev. 25, 486 (1950).

³ G. SVÄRDSON, Swedish State Inst. Fresh-Water Research, Drottningholm; Rep. No 23 (1945).

Più numerose sono le interpretazioni di queste variazioni, che si basano sulla riscoperta dell'avvolgimento elicoidale dei cromatidi (FUJII; KUWADA e NAKAMURA¹), e sulla ipotesi strutturale, più o meno accettata, di DARLINGTON², il quale ha messo in rapporto i vari stadi delle variazioni della struttura cromosomica con la comparsa e le caratteristiche della disposizione elicoidale dei cromatidi.

Poichè accanto ad osservazioni sulla composizione chimica e sulla struttura molecolare di alcuni dei componenti cromosomici, mancano invece dati quantitativi sulla morfologia dei cromosomi stessi in stadi definiti della cariocinesi, credo che i risultati, qui riferiti, delle osservazioni sul grado di accorciamento dei cromosomi nella mitosi e nella meiosi delle cellule germinali maschili di *Anacridium aegyptium* L. possano essere interessanti.

Sono stati misurati i singoli cromosomi di nuclei di spermatogoni, e di spermatociti in diverse fasi cariocinetiche su preparati per schiacciamento di follicoli testicolari di animali adulti, e colorati colla Feulgen.

I dettagli di tecnica vengono qui omessi per brevità e saranno riportati nel lavoro per esteso; sostanzialmente sono state misurate le lunghezze dei cromosomi su disegni fatti con la camera lucida.

Le variazioni della somma delle lunghezze di tutti gli autosomi sono riportati nella tabella I.^a (*L'Anacridium aegyptium* L. ha 11 autosomi telomitici ed 1 eterocromosoma, che non viene considerato per il suo comportamento diverso.)

Il grado di accorciamento risulta più evidente dal rapporto dei valori delle lunghezze dei cromosomi nei diversi stadi della mitosi e della meiosi.

Nella tabella II.^a sono riportati i rapporti delle lunghezze totali e di quelle dei singoli cromosomi riconosciuti attraverso la seriazione per lunghezza.

Nella mitosi spermatogoniale l'accorciamento dalla profase alla metafase vera e propria è di circa $\frac{1}{3}$ (a/d), quello dalla premetafase di $\frac{1}{2}$ (b/d). Dal diplotene alla I.^a metafase meiotica (c_1/d_1) l'accorciamento è pure di $\frac{1}{2}$. Nella seconda divisione meiotica l'accorciamento dalla profase alla metafase (a_{11}/c_{11}) è approssimativamente eguale a quello della mitosi spermatogoniale. Considerando i singoli cromosomi, si vede che dalla premetafase alla metafase mitotica l'accorciamento dei cromosomi più lunghi è maggiore di quello dei cromosomi più corti; nella meiosi, dallo zigotene al pachitene l'accorciamento è maggiore nei più corti, negli altri stadi si accorciano di più i cromosomi più lunghi. Calcolando la correlazione (spuria) tra lunghezze e rapporti, questa constatazione è confermata.

Naturalmente vanno fatte delle riserve sul riconoscimento dei cromosomi poichè quasi sicuramente le modificazioni cromosomiche non sono sincrone entro uno stesso nucleo ed il riconoscimento degli stadi è soggettivo; l'esame complessivo e l'andamento dei dati, che qui non possono essere riportati per esteso, mostrano che i valori su riportati sono probativi, almeno per lo scopo della ricerca.

Complessivamente i dati qui riportati possono essere inquadrati con le conoscenze attuali sul comportamento dei cromosomi nella mitosi e nella meiosi; un esame dettagliato verrà presentato quando saranno completate le ricerche in corso su questo argomento.

G. COLOMBO

Istituto di Zoologia e di Anatomia Comparata dell'Università di Padova, il 2 agosto 1951.

¹ Y. KUWADA e T. NAKAMURA, Cytologia 6, 78 (1934).

² C. D. DARLINGTON, Proc. Roy. Soc. [B] 128, 33 (1935).