

gene (or a given atom) from its specific category; the different isotopes of sulphur are all sulphur atoms and the different alleles of white are all genes at the white locus.

ROMAN¹⁷ calls the phenomenon 'nonreciprocal recombination' with no reference to the definitive papers of LINDEGREN and his associates. BEADLE¹⁸, writing in 1957, describing the work of M. B. MITCHELL¹⁹, says 'Recently (20 years after RENNER) phenomena have been observed that have been interpreted as indicating intragenic crossing over. They can, however, also be interpreted in terms of a process that differs significantly from crossing over.' He originally called it 'transmutation'¹⁸, but subsequently²⁰ accepted the term gene-conversion. BEADLE's explanation (miscoopying) is inadequate since it fails to account for tetrads described by LINDEGREN which produce four recessive or four dominant progeny. H. K. MITCHELL²¹, M. B. MITCHELL¹⁹ and LAWRENCE and BONNER²² are among those who have accepted WINKLER's original terminology. BRINK²³ describes a 'genic change' which occurs in the heterozygous state in maize but not in the homozygous condition. He does not give the phenomenon a name but it clear from his description that it is operationally indistinguishable from the phenomenon called gene-conversion by WINKLER, RENNER, and LINDEGREN.

A mathematical proposition may be proved by a single stroke of genius or invalidated by the demonstration of a single fallacy but no biological concept becomes acceptable on the basis of a single event or a single experiment. Repeated, consistent, and overwhelming accumulations of data are necessary to establish it. Conversely, refutation of a biological theory must consider the total mass of accumulated evidence. The attempted refutation of gene-conversion by BEADLE, WINGE, EMERSON, and ROMAN all fail to cite RENNER and MUNDKUR (WINGE treats a single paper by MUNDKUR in which MUNDKUR²⁴ demonstrates an error in WINGE's argument) and cite either one or two papers by LINDEGREN and his associates from a total of more than 15. Aside from the fact that this casual procedure is condescending and insulting it is arbitrary and dogmatic; in addition to being impolite it is also unscientific. Such an approach might be less unacceptable if it demonstrated a fundamental antipathy to the entire concept, e.g., the attitude of a deeply religious man toward evolution, but it becomes suspect and, hence, improper when it is used not to invalidate the theory but only a different demonstration of it.

In view of the numerous observations of genic interaction in heterozygotes and the failure of all the observers to quote the previous literature adequately, this communication will achieve its objective if it demonstrates the necessity for according proper priority to the discovery of gene-conversion and proper respect for priority rights of WINKLER and RENNER.

¹⁷ H. ROMAN, Ann. Génét. 1, 11 (1958).

¹⁸ G. W. BEADLE, Sym. *The Chemical Basis of Heredity* (Ed. by W. D. McELROY and B. GLASS, John Hopkins Press, Baltimore 1957), p. 3.

¹⁹ M. B. MITCHELL, Proc. nat. Acad. Sci., Wash. 41, 215 (1955).

²⁰ G. W. BEADLE, Proc. Int. Genetics Symp., Japan 1 (1957).

²¹ H. K. MITCHELL, Sym. *The Chemical Basis of Heredity* (Ed. by W. D. McELROY and B. GLASS, John Hopkins Press, Baltimore 1957), p. 94.

²² P. ST. LAWRENCE and D. M. BONNER, Sym. *The Chemical Basis of Heredity* (Ed. by W. D. McELROY and B. GLASS, John Hopkins Press, Baltimore 1957), p. 114.

²³ R. A. BRINK, Science 127, 1182 (1958).

²⁴ B. D. MUNDKUR, Current Science 19, 84 (1950).

This work has been supported by a research grant from the U.S. Public Health Service C-2140.

C. C. LINDEGREN

Biological Research Laboratory, Southern Illinois University, Carbondale (Illinois), June 3, 1958.

Zusammenfassung

Die 1932 von WINKLER aufgestellte Hypothese der Genkonversion wurde bereits 1937 von RENNER und 1949 von LINDEGREN und MUNDKUR bestätigt. Seit 1955 haben auch eine Reihe weiterer Autoren über Befunde berichtet, welche operationsmäßig nicht von dem von WINKLER beschriebenen Phänomen der Genkonversion zu unterscheiden sind, doch haben sie es ohne Ausnahme unterlassen, RENNERS übereinstimmende Befunde zu zitieren.

Application de méthodes d'analyse biochimique à une étude taxonomique: les corégones du lac de Neuchâtel

II. Cytologie et dosage de DNA

Dans une précédente notice¹, nous avons rendu compte de quelques recherches immunologiques se rapportant à deux formes très voisines de Salmonidés appartenant au genre *Coregonus*. Nous résumons ici des travaux qui ont trait au patrimoine héréditaire de ces mêmes poissons.

Nombres chromosomiques. Les dénombrements ont été effectués sur disques germinatifs d'œufs de palées et de bondelles, au terme d'une période d'incubation de 10 à 20 degrés × jours. En dépit du grand nombre de préparations examinées (quelques centaines), il ne nous fut pas possible de découvrir des cineses d'où soient rigoureusement exclues toutes incertitudes dans le compte des chromosomes. Nous pouvons cependant attribuer les valeurs suivantes: palée (*Coregonus fera Jurine*) $2N = 78 \pm 2$, bondelle (*Coregonus macrophthalmus Nüsslin*) $2N = 78 \pm 3$. Ces valeurs sont très proches, sinon identiques, à celles que SVÄRDSON² assigne aux corégones

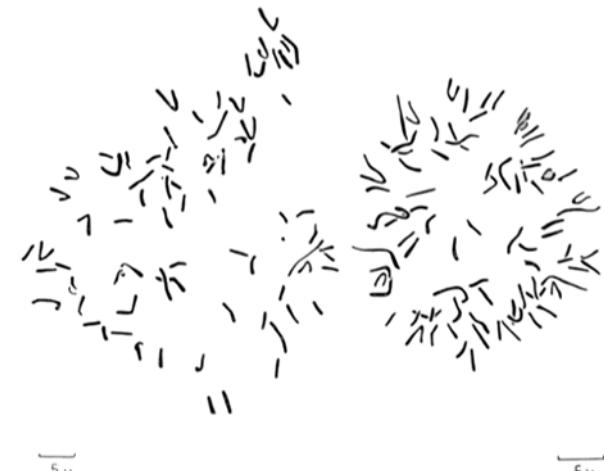


Fig. 1. A. Palée, $2N = 78 \pm 2$. B. Bondelle, $2N = 78 \pm 3$. Métaphases mitotiques d'embryons de 10 à 20° × jours.

Prétraitement: 15 min eau distillée; fixation: 20 min carmin acét.; squash, recoloration par la méthode Feulgen.

¹ J. P. BARGETZI, Exper. 14, 187 (1958).

² G. SVÄRDSON, Rep. Inst. Fre-Wat. Fish. Res., Drottningholm 23, 1 (1945).

Tableau I. Dosage chimique du DNA

Matériel examiné	Nombre de dosages	DNA par noyau, moyennes		σ	S. e.	V
		$(\times 10^{-9} \text{ mg})$	$m (\times 10^{-9} \text{ mg})$			
Truite (<i>Salmo irideus</i>)						
spermatozoïdes	3	2,48				
érythrocytes	2	5,02	4,99	0,13	0,06	2,6
Palée (<i>Coregonus fera</i>)						
spermatozoïdes	3	2,85				
érythrocytes	3	5,80	5,75	0,14	0,06	2,6
Bondelle (<i>Coregonus macrourus</i>)						
spermatozoïdes	3	3,02				
érythrocytes	3	6,02	6,03	0,30	0,12	5,0

m : moyenne spécifique; σ : écart-type; S. e.: erreur-type.

$100 \sigma/m = V$; coefficient de variation.

scandinaves, 2 $N = 80$, et le nombre des métacentriques + submétacentriques semble correspondre également (8 paires). Dans la mesure où les chromosomes étaient dénombrables, nous n'avons rencontré que de très rares images dont le décompte approximatif s'écartait nettement des valeurs ci-dessus. Ces exceptions peuvent s'expliquer, dans notre cas, par les désordres que provoque l'écrasement (squash) dans la disposition et la conformation initiales des cellules. Entre palée et bondelle, l'éventualité d'une différence dans le degré de polyploidie, analogue à celle constatée par KUPKA³ pour les corégones du lac de Zurich, est donc exclue, et la répartition des chromosomes en quatre garnitures semblables ne nous paraît pas évidente. Ces remarques s'accordent avec la réfutation que présente AMBÜHL⁴ des thèses de Svärdson, qui considère les corégones nordiques comme des octoploïdes.

Nous devons à un hasard climatique favorable, et à la complaisance du pisciculteur de notre station cantonale, d'avoir pu essayer le croisement palée ♂ × bondelle ♀, qui a parfaitement réussi (janvier 1956). Nous n'avons pu, toutefois, pour des raisons pratiques, élever ces hybrides au-delà d'un an et demi, et prouver leur fécondité.

Dosage chimique du DNA. La méthode utilisée est celle décrite par VENDRELY⁵. Cette méthode, qui dérive de celle de Schneider, a dû être adaptée à notre matériel par quelques modifications de détail, pour tenir compte de l'extrême fragilité des érythrocytes de corégones. Nos examens, destinés non seulement à fixer la valeur absolue des teneurs en DNA (acide désoxyribonucléique), mais aussi à faire apparaître une différence possible entre les deux formes de corégones, ont été conduits avec le souci constant d'obtenir la plus grande exactitude.

La numération des suspensions est le stade critique à cet égard, et nous avons préparé, à chaque analyse, 6 dilutions différentes au moins, et exécuté sur chacune d'elles 4 ou 5 comptages indépendants, avec 3 cellules à numérotation. Toute suspension qui présentait le moindre signe d'agglutination a été éliminée. Comme échalon, nous avons employé d'abord une solution trichloracétique de titre connu, contrôlée à diverses reprises par des dosages directs de P. Les extraits dans ATC n'étant pas absolument stables, nous avons eu recours à un échantillon de DNA sec, possédant d'excellentes caractéristiques en P, N et P/N. Ces deux échalons ont été fournis par les Drs VEN-

DRELY⁶. Une nouvelle vérification a pu être opérée à la suite d'une série de 7 dosages de matériel de truite (*Salmo irideus*), espèce pour laquelle la constante de DNA est bien fondée.

Le Tableau I récapitule nos résultats:

Il convient de remarquer que la dispersion des mesures indiquée par σ , faible dans les deux premiers cas (2,6%), est double pour la bondelle, ce qui n'autorise – provisoirement – aucune conclusion certaine quant à la validité de la différence observée entre cette forme et la palée. Cette dispersion est due uniquement aux trois valeurs enregistrées pour les spermatozoïdes de bondelle, et s'explique par l'extrême rareté du sperme, et la nécessité de doser des quantités trop petites.

Dosage microphotométrique du DNA. Alors que chaque dosage chimique est l'expression, en valeur absolue, d'une estimation moyenne pour une série de 10 à 25 poissons, la technique cytophotométrique ne s'applique qu'aux déterminations relatives, mais avec l'avantage d'une information individuelle par noyau, et d'une grande sensibilité.

L'appareil que nous avons construit est une réplique du modèle de POLLISTER⁷, amélioré selon les recommandations d'ALFERT⁸, avec, pour source lumineuse, un monochromateur DU Beckman. Les noyaux soumis à cette investigation sont ceux d'érythrocytes, en étalements desséchés à l'air et aussitôt exposés pendant 10 min aux vapeurs de formol pour uniformiser le contenu, puis fixés 5 min au méthanol-formol 9:1. La truite (*Salmo irideus*) sert encore de référence. Tous les frottis et leur fixation ont été exécutés en même temps, à bord du bateau de pêche, et toutes les lames traitées en bloc, pour pallier à toute inégalité opératoire.

En microphotométrie, l'exactitude des dosages est conditionnée avant tout par celle des mensurations du noyau, et la part d'approximation qui intervient dans le calcul de son volume. Au vu du diagramme Figure 2, de l'examen microscopique direct, et de l'aspect de préparations ou de répliques au formvar ombrées à l'or, nous avons convenu d'assimiler les noyaux à des cylindres à base elliptique. Ces dernières méthodes ont, en outre, rendu possible une délimitation des variations de hauteur des

³ E. KUPKA, Rev. suisse Zool. 55, 285 (1948).
⁴ H. AMBÜHL, Schweiz. Z. Hydrol. 15, 221 (1953).
⁵ C. VENDRELY, Bull. Biol. Fr. Belg. 86, 1 (1952).

⁶ A. W. POLLISTER, Lab. Invest. 1, 106 (1952).

⁷ M. ALFERT, communication personnelle (1957).

Tableau II. Dosage microphotométrique du DNA
Matériel: noyaux d'érythrocytes (étalements) Coloration: Feulgen $\lambda = 550 \text{ m}\mu$

Spécies	Nombre de mesures	Axes, moyennes (μ)	Quantité DNA m	σ	S. e.
Truite (<i>Salmo irideus</i>)	40	7,48/3,78	5,68	0,44	0,07
Palée (<i>Coregonus fera</i>)	62	7,72/4,17	6,66	0,54	0,07
Bondelle (<i>Coregonus macrophthalmus</i>)	31	7,86/4,78	7,04	0,49	0,09

noyaux dans les zones utilisées pour les mesures photométriques. Ces indications concordent avec celles du microscope interférentiel pour assigner aux noyaux une épaisseur de $0,7 \mu$, et des variations négligeables, au regard de l'erreur faite sur le relevé des autres dimensions (erreur $< 0,2 \mu$).

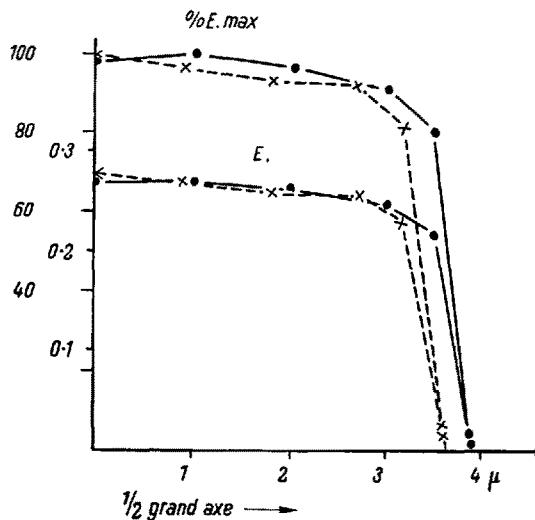


Fig. 2. Variations d'extinction de noyaux d'érythrocytes de palée, suivant le demi-grand axe. (Etalements secs fixés, coloration Feulgen.)
«plug»: $0,6 \mu$ $\lambda = 550 \text{ m}\mu$

La conversion en valeurs absolues des unités arbitraires du Tableau II, sur la base de 4,95 pour la truite, indique pour la palée 5,80 et pour la bondelle 6,13 ($\times 10^{-9} \text{ mg DNA par noyau}$). Nous avons procédé à une analyse mathématique portant sur toutes les valeurs individuelles et les moyennes émanant des dosages microphotométriques. Un calcul des constantes γ_1 et γ_2 vérifie que, dans les trois cas, la distribution ne s'écarte pas de la forme normale, puis un «test de t », appliqué aux différences de moyennes, démontre qu'elles sont toutes, et sans ambiguïté, statistiquement significatives, y compris celle qui caractérise le système palée-bondelle ($P < 0,1\%$). Les rapports de variance attestent que ces conclusions ne peuvent pas procéder d'une disparité significative des variances. L'erreur systématique, que le calcul statistique n'enregistre pas, se trouve à peu près compensée dans l'estimation des différences de moyennes, toutes les opérations ayant lieu dans les mêmes conditions techniques. Ces mesures s'appuient sur trois individus seulement par espèce. Néanmoins, aucun écart notable n'a pu être décelé. Considérant que la constante de DNA des érythrocytes de poissons est une notion reconnue, et que nos résultats photométriques coïncident avec ceux des dosages chimiques, nous pouvons admettre que les différences enregistrées sont aussi démonstratives à l'échelle des popula-

tions. De la confrontation des deux techniques émanent les valeurs suivantes: palée $= 5,8 \times 10^{-9} \text{ mg DNA par noyau}$; bondelle $= 6,1 \times 10^{-9} \text{ mg DNA par noyau}$. Le présent travail était achevé lorsque nous avons eu connaissance de l'article de LIEDER⁸ qui attribue 60 chromosomes à *Salmo irideus* - à égalité avec le saumon -, valeur qui les isole du groupe des 9 autres espèces de «truites» et de corégones décrits comme possédant 80 chromosomes environ. Un tel écart est parfaitement compatible avec les teneurs mesurées en DNA, pour le rapport *Salmo irideus/corégones*. Pour ces derniers, par contre, le désaccord entre constantes de DNA devrait se traduire, vraisemblablement, par une disproportion des régions hétérochromatiques, ou par une hétéromorphie des caryotypes. L'hybridation interspécifique expérimentale, relativement aisée chez les Salmonidés, suppose une certaine aptitude à la conjugaison des génomes, et un degré assez élevé d'homologie. Cette constatation, jointe aux principes que postule l'hypothèse robertsonienne, rendrait alors assez probable une différence polypénique.

Ce travail est au bénéfice d'un subside du Fonds national suisse de la recherche scientifique.

J.-P. BARGETZI

Institut de Zoologie, Université de Neuchâtel, le 30 septembre 1958.

Summary

Two closely related forms of *Coregonus* from Lake Neuchâtel were examined cytologically and biochemically, in order to ascertain the chromosome number and the DNA content of haploid and diploid nuclei. *Coregonus fera* has $2N = 78 \pm 2$ chromosomes, and a DNA content (diploid) of $5.8 \times 10^{-9} \text{ mg}$; *Coregonus macrophthalmus*, $2N = 78 \pm 3$, DNA content of $6.1 \times 10^{-9} \text{ mg}$. The difference between the two DNA constants is statistically significant. These results do not support the hypothesis which postulates that polyploidy may be a determining factor in the speciation of these fishes.

⁸ U. LIEDER, Z. Fischerei [N. F.] 4, 589 (1955).

Experimentelle Untersuchungen über die hormonalen Grundlagen der Implantation des Säugerkeimes

Die hormonalen Grundlagen der Implantation des Säugerkeimes in die Uteruswand (Nidation) sind noch nicht restlos abgeklärt. Die Tatsache, dass es Tierarten gibt, bei denen die Nidation physiologischerweise während längerer Zeit unterbleibt, in der die Blastocyste im Uteruslumen suspendiert bleibt, ohne sich einzunisten, bietet eine günstige Gelegenheit zur experimentellen Untersuchung der Frage. Es sind dies neben den Tieren mit