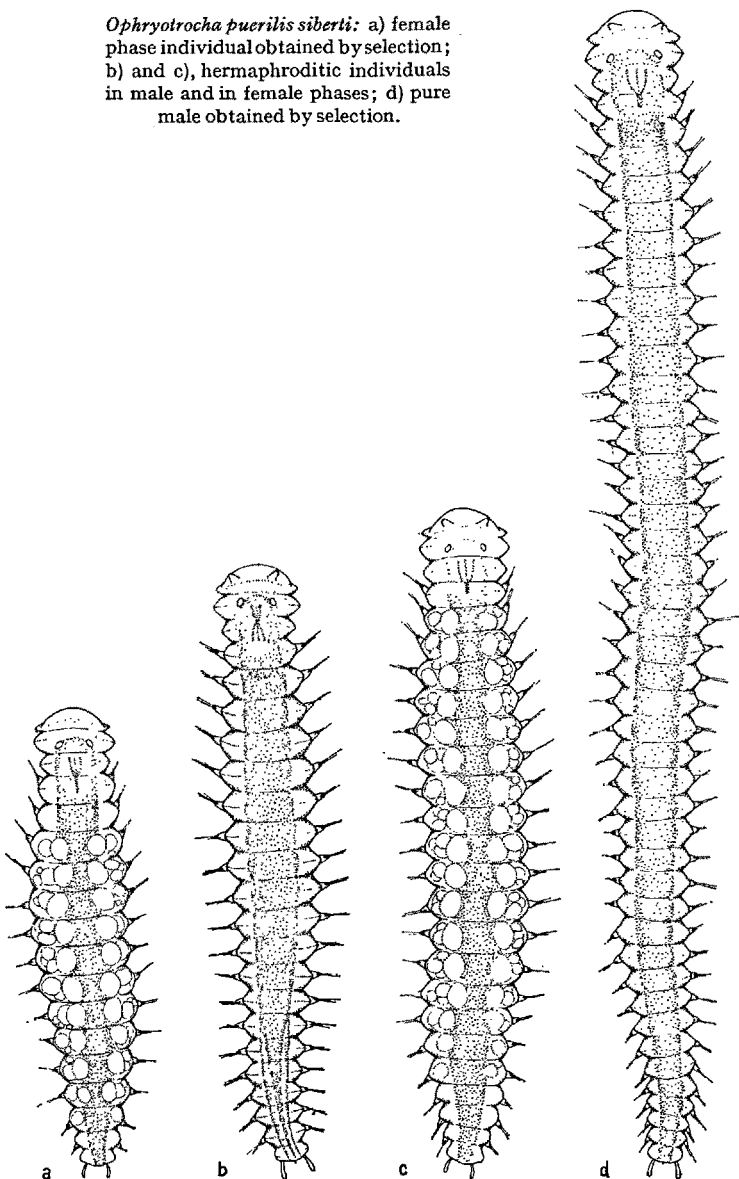


Ophryotrocha puerilis siberti: a) female phase individual obtained by selection; b) and c), hermaphroditic individuals in male and in female phases; d) pure male obtained by selection.



belong have already shown oocytes at a mean length of 23 segments. This mean will reach a higher value when other male phase individuals have passed to the female phase. It must also be pointed out that, although oocytes appear rather early in some of the individuals of the group, they are very scarce as compared with the oocytes developing in female phase individuals that have not been selected for the prolongation of the male phase.

Individuals that change to the female phase at 13 segments have appeared (Fig. a) in a group of 52 individuals that begins to show oocytes at a mean length of 16 segments. Although they cannot be considered as pure females, they undergo a male phase of very short duration.

It can therefore be concluded that selection of multiple sex genotypes has certainly produced pure females in a strain of the Mediterranean subspecies⁵ and it has originated females with an extremely reduced male phase in the present experiments. Pure males have now been produced and males that died at 26 segments in previous experiments were also probably pure males carrying some deleterious mutants, as already pointed out⁵.

The progressive reduction of female or of male phase at each generation, until male or female individuals appear, demonstrated the possibility of evolution of predominantly male or female strains (in short of monogenic strains) from hermaphroditic strains showing polygenic sex determination. The problem of the relative duration of sex phases in hermaphrodites is thus converted into a problem of sex ratios, which was already explained by a similar genetic mechanism⁷. Developmental patterns peculiar to each species decide whether polyfactorial (or polygenic) sex determination will give rise to unbalanced hermaphrodites⁸ or to gonochoric species showing peculiar sex ratios.

Riassunto. La selezione di genotipi sessuali multipli in ceppi originariamente ermafroditi di *Ophryotrocha puerilis* conduce alla produzione di maschi e di femmine pure. La determinazione polifattoriale del sesso può pertanto modificare sia la durata relativa delle fasi sessuali che il rapporto sessi. Ermafroditi non bilanciati e specie monogeniche sono ugualmente originate da un meccanismo di poligametia sessuale.

G. BACCI and O. BORTESI

Istituto di Zoologia dell'Università di Modena (Italy), January 16, 1961.

⁷ K. KOSSWIG, Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul 4, 1 (1939).

⁸ G. BACCI, Arch. Zool. Ital. 34, 49 (1949).

Xanthindehydrogenase in Organen von *Drosophila melanogaster*¹

Nicht-autonome Erbmerkmale sind der phänogenetischen Analyse besonders leicht zugänglich. Denn hier können durch extrazelluläre Einflüsse die Merkmalsbildungen beeinflusst und eventuell auch Folgen von Erbschäden überwunden werden. Daraus sind Einblicke in die Genwirkung zu erwarten.

Unter den *Drosophila*-Mutanten, die den Pterinstoffwechsel beeinflussen, erwiesen sich *rosy* (*ry*^{2,3}), *maroon-like* (*ma-l*⁴), *bronzy* (*bz*⁴) und *sepioid* (*sed*⁵) im Transplantationsexperiment als nicht-autonom. Die vier Mutanten sind chemotypisch insofern sehr ähnlich, als sie nur geringe Mengen von Drosophterinen und kein (*ry*, *ma-l*, *bz*)

bzw. wenig (*sed*) Isoxanthopterin bilden. Der völlige Mangel von Isoxanthopterin bei *ry*, *ma-l* und *bz* beruht auf dem Fehlen von Xanthindehydrogenase-Aktivität⁶⁻⁸. Implan-

¹ Ausgeführt mit Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

² E. HADORN und G. E. GRAF, Zool. Anz. 160, 231 (1958).

³ E. HADORN und I. SCHWINCK, Z. Vererbungslehre 87, 528 (1956).

⁴ H. URSprung, im Druck.

⁵ E. GOLDSCHMIDT und E. HADORN, J. Embryol. exp. Morphol. 7, 316 (1959).

⁶ H.-S. FORREST, E. GLASSMAN und H. K. MITCHELL, Science 124, 725 (1956).

⁷ E. GLASSMAN und H. K. MITCHELL, Genetics 44, 153 (1959).

⁸ E. GLASSMAN, Science 131, 1810 (1960).

tation von larvalem Fettkörper, Malpighischen Gefässen bzw. Augenanlagen des Wildtyps normalisiert den Drosophteringehalt der *ry*-Wirte³; zudem wird in den Wirtshoden Isoxanthopterin gefunden. Das Ausmass dieser Normalisierung ist abhängig von der Menge des implantierten Wildtypgewebes² und damit der Menge eines unbekannten «*rosy*⁺-Stoffes»³. Als «*ry*⁺-Stoff» kommt Isoxanthopterin selbst kaum in Frage, da Injektion von Isoxanthopterin in *ry*⁹ bzw. *ma*-l¹⁰ den Isoxanthopteringehalt der Wirtsaugen nicht beeinflusst. Der «*ry*⁺-Stoff» könnte eher das Enzym Xanthindehydrogenase sein². Zur Prüfung dieser Hypothese wird in der vorliegenden Arbeit die Enzymaktivität in den transplantierten Organen bestimmt. Eine ähnliche Untersuchung wurde unlängst¹⁰ mit etwas anderen Methoden durchgeführt.

Wir verwendeten im wesentlichen die von GLASSMAN und MITCHELL⁷ angegebene Methode. Die Organe (Wildstamm *Sevelen*) wurden in Insekten-Ringer¹¹ freipräpariert und in 0,3 ml eiskalter Sigma-Tris-Pufferlösung von pH 8,00 homogenisiert. Das Homogenat wurde mit 5–10 mg Carbo adsorbens (Siegfried) versetzt und 15 min bis 1 h bei 0° stehengelassen, dann 20 min bei 0° mit 6000 g zentrifugiert. Zur Kontrolle der Adsorption der fluoreszierenden Stoffe an die Kohle wurde 0,1 ml vom Überstehenden auf Chromatographiepapier aufgetragen. Der Rest wurde mit je 0,02 ml 2-Amino-6-oxypteridin ($10^{-3} M$) und Methylenblau ($10^{-3} M$) bei 25°C während 4–5 h inkubiert. Vom Reaktionsgemisch wurden sodann 0,1 ml auf Chromatographiepapier aufgetragen. Chromatographie in Propanol: 1% Ammoniak (2:1) aufsteigend. Die Messung des entstandenen Isoxanthopterins erfolgte direkt vom Papier¹².

Bei einer ersten vergleichsmässigen Untersuchung fanden wir in den Organen von 30 verpuppungsreifen Larven folgende Enzymaktivitäten (ausgedrückt in willkürlichen Fluoreszenzeinheiten des entstandenen Isoxanthopterins, in eckigen Klammern): Hoden [0], Malpighische Gefässe [15], Darm [24], Fettkörper [44], Rest [90], Seziertropfen mit Hämolymphe und Fettzellen [44]. In der Folge beschränkten wir die Untersuchung auf Hoden, Malpighische Gefässe und Fettkörper. Die Hoden von 75 verpuppungsreifen Larven zeigten eine geringe [7] Aktivität. Nun haften aber den Hoden dieses Stadiums immer einzelne Fettzellen an, die ohne Beschädigung des Hodens nicht entfernt werden können. Wir prüften deshalb eine Probe von Fettzellen, die annähernd der an 150 Hoden haftenden Fettmenge entspricht; und fanden darin fast gleiche Aktivität [5]. Das Enzym ist also höchstwahrscheinlich in larvalen Hoden nicht vorhanden. In den Hoden von 40 2tägigen Imagines fanden wir zunächst eine ansehnliche Enzymaktivität [13]. Nun wurden aber in einer weiteren Untersuchung solche Hoden mehrmals in Pufferlösung ausgewaschen; am Schlusse wurden dann sowohl die Hoden als auch die Waschflüssigkeit auf Enzymaktivität geprüft. Dabei zeigte sich, dass in den Imaginal-Hoden selbst nur eine sehr geringe Restaktivität vorhanden ist [9], [1,5], deren Signifikanz gegenüber dem Nullniveau mit unseren Methoden kaum geprüft werden kann. In den Malpighischen Gefässen von 40 verpuppungsreifen Larven fanden wir in drei Versuchen Aktivitäten von [65], [46], [44] Einheiten. Die Aktivität imaginaler Malpighischer Gefässe scheint etwas geringer zu sein [22]. Sie nimmt bei mehrmaligem Auswaschen auf [11] ab. Die entsprechende Waschflüssigkeit weist indessen keine Aktivität mehr auf, so dass die [11] Einheiten höchstwahrscheinlich auf die Malpighischen Gefässe selbst zurückzuführen sind. Betrachtlich höhere Aktivität wurde gefunden im larvalen Fettkörper. Schon das Fett von 5 verpuppungsreifen Larven ergibt Isoxanthopterin-

mengen von [50]–[115] Einheiten (2 Versuche); dabei ist in der jeweiligen Waschflüssigkeit keine Spur von Aktivität mehr festzustellen.

Zusammenfassend stellen wir fest, dass larvale und imaginale Hoden kaum, Malpighische Gefässe höchstwahrscheinlich und larvaler Fettkörper sicher als Lieferanten von Xanthindehydrogenase in Betracht kommen. Wir müssen auch bedenken, dass in der Transplantationspraxis die verwendeten Organe nicht sorgfältig gewaschen werden; die eingeführte Aktivität wird also eher höher sein, als von den neuen Ergebnissen zu erwarten wäre. Zudem bleiben die transplantierten Organe ja im Wirtorganismus am Leben. Die «Inkubation» erfolgt im Nicht-Autonomie-Experiment also während mehrerer Tage, so dass die geringe Menge eingeführten Enzyms ausreichen dürfte zur Bildung der – ebenfalls geringen – Menge Isoxanthopterin im mutierten Wirt. Von diesem Standpunkt aus könnte somit Xanthindehydrogenase durchaus identisch sein mit «*ry*⁺-Stoffen». Das Enzym würde durch Fettkörper und Malpighische Gefässe des Wildtyps in die Mutante eingeführt und die dort akkumulierte Vorstufe 2-Amino-6-oxypteridin in Isoxanthopterin umwandeln. Das dabei freiwerdende DPNH (= «*ry*⁺-Stoff» nach HUBBY und FORREST¹⁰) könnte vielleicht die vermehrte Drosophterinsynthese ermöglichen, wie es die beiden Autoren vorgeschlagen haben. Zwar führte Injektion von DPNH in verpuppungsreife Larven von *ma*-l nicht zu einer Erhöhung des Drosophteringehaltes (unveröffentlicht); diese Beobachtung ist jedoch nicht schlüssig, da die Drosophterinsynthese erst etwa 70 h¹³ nach der Injektion beginnt. Die Annahme, dass die Xanthindehydrogenase mit dem postulierten «*ry*⁺-Stoff» identisch ist, würde auch sehr gut das geschlechtsspezifisch-nicht-autonome Auftreten von Isoxanthopterin in transplantierten Hoden¹⁴ erklären, die nach unseren neuen Befunden das Enzym ja selbst nicht enthalten. Dasselbe dürfte für den geschlechtsspezifischen Unterschied im Isoxanthopteringehalt von Augentransplantaten¹⁵ gelten. Man müsste annehmen, dass die über eine massgebende Entwicklungsphase verteilte und akkumulierte totale Enzymaktivität im Männchen grösser sei als im Weibchen. Entsprechende Untersuchungen sind im Gange.

Summary. High activity of the enzyme, xanthindehydrogenase, was detected in larval fat-body of wild type *Drosophila melanogaster*. The Malpighian tubules of both larvae and adults exhibit activity, too, though rather little. No activity was detected in larval testes, while probably insignificant traces were found in adult testes. The results are discussed with regard to non-autonomy of mutants deficient in the enzyme.

H. URSPRUNG¹⁶ und E. HADORN

Zoologisch-vergleichend anatomisches Institut der Universität Zürich (Schweiz), 30. Januar 1961.

⁹ G. E. GRAF, E. HADORN und H. URSPRUNG, J. Ins. Physiol. 3, 120 (1959).

¹⁰ J. L. HUBBY und H.-S. FORREST, Genetics 45, 211 (1960).

¹¹ B. EPHRUSSI und G. W. BEADLE, Amer. Naturalist 70, 218 (1936).

¹² E. HADORN und A. KÜHN, Z. Naturforschung 8b, 582 (1953).

¹³ E. HADORN und I. ZIEGLER-GÜNDER, Z. Vererbungslehre 89, 221 (1958).

¹⁴ E. HADORN, G. E. GRAF und H. URSPRUNG, Rev. Suisse Zool. 65, 335 (1958).

¹⁵ Gegenwärtige Adresse: Mergenthaler Laboratory for Biology, The Johns Hopkins University, Baltimore (Maryland).