

имели кариотипы и Г-полосы трех пар две-плечных ауто-сом одинаковый и этими Северо-Американского *O. canadensis mexicana* ($2n = 54$) В *O. musimon* \times *O. canadensis* Φ_1 и Φ_2 гибриды гомологи которые составляли три пары две-плечных ауто-сом были легко опознаваемы и были неразличимые. Изу-

чение мейозис в Φ_2 гибриде показало 27 бивалентных. Эволюционное значение гомологических две-плечных в баранах через Голарктик было обсуждено.

C. F. NADLER, R. S. HOFFMANN and
A. WOOLF¹⁸

Department of Medicine, Northwestern University
Medical School, 303 East Chicago Avenue,
Chicago (Illinois 60611, USA);
Museum of Natural History, University of Kansas,
Lawrence (Kansas 66044, USA); and
Rachelwood Wildlife Research Preserve, New Florence
(Pennsylvania 15944, USA), 22 June 1972.

¹⁸ Supported by National Science Foundation Grant No. GB 32114X and the Sprague Foundation. We thank Dr. T. C. Hsu for assistance in making the chromosome preparations and for advice and encouragement. The Trustees of the Rachelwood Wildlife Research Preserve generously allowed the biopsy of specimens of their custody. Mr. ARTHUR POPHAM kindly provided the specimens from Iran while Dr. R. M. ROBINSON obtained biopsies from the desert sheep.

Effet conidiogène sélectif de la thymine chez un mutant «serineless» de *Neurospora crassa*

Les mutants «serineless» (sérine-1 et -2) de *Neurospora crassa* ont un blocage de synthèse au niveau de la transamination du précurseur 3-phosphohydroxypyruvate; ils ne peuvent donc croître qu'en présence de sérine ou de son précurseur aminé en C_2 , la glycine^{1,2}. Nous avons cependant observé que ces mutants sont «leaky», c'est à dire croissent faiblement sur milieu minimal³. Le peu de sérine-glycine synthétisé dans ces conditions doit être incorporé dans les protéines et les précurseurs puriques et pyrimidiques des acides nucléiques, répondant ainsi aux besoins immédiats d'un minimum de croissance végétative. En effet, un léger mycélium se développe en profondeur dans le milieu synthétique minimal liquide et ce n'est que sur la zone amaigrée du même milieu agarisé, au haut des tubes de cultures, que nous pouvions observer de rares groupes de conidies peu pigmentées (induction par affaiblissement).

La sérine ne fonctionne pas seulement en tant que molécule entière mais aussi comme donatrice de groupe C_1 actif pour la méthylation du précurseur pyrimidique phosphorylé (dUMP) en acide thymidylique⁴; elle joue donc un rôle critique dans la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et par conséquent la division nucléaire. Or, chez *N. crassa*, la question s'est posée de la relation entre divisions nucléaires et conidiogénèse⁵; un certain nombre de figures de mitose avaient été observées dans les chaînettes proconidiennes, ce que confirme une nouvelle étude (en cours avec le Dr. M. CORTAT), basée sur la détection des fuseaux mitotiques. Il devient donc important de préciser le degré de relation entre ces mitoses proconidiennes et le besoin prévisible d'une synthèse accrue d'ADN et, par conséquent, de ses précurseurs critiques, qu'elles doivent entraîner.

Il nous est apparu que le mutant sérine-1, amené en milieu minimal à n'investir le peu de sérine synthétisée qu'en croissance végétative, pourrait répondre à un apport supplémentaire de son «produit de luxe», la thymine, par la réaction: davantage d'ADN \rightarrow mitoses supplémentaires \rightarrow conidiogénèse sur mycélium restreint. Le correspondant pyrimidique améthylé de la thymine, l'uracile, devrait par contre rester inefficace. Les résultats préliminaires ayant répondu positivement aux prévisions, nous avons décidé de les présenter ici comme base pour une investigation biochimique plus poussée.

Le mutant «serineless» ser-1 (H 605a, No 118 du FGSC, Arcata, Calif., USA) a été cultivé en milieu synthétique minimal liquide de WESTERGAARD et MITCHELL⁶ (WM), distribué à raison de 50 ml dans des flacons Pyrex de 250 ml. La D, L-sérine, la thymine et l'uracile (puriss., Calbiochem) ont été stérilisés avec le milieu dont le pH a été ajusté à la valeur 7,0. L'inoculation a été réalisée avec 4 gouttes d'une légère suspension aqueuse de conidies du mutant récoltées au haut des tubes de cultures sur milieu WM agarisé. Les mycéliums ont été récoltés après 7 jours d'incubation à 25°C en semi-obscurité. Les éventuelles conidies formées ont été séparées et mises en suspension par agitation des mycéliums dans de l'eau distillée alcoolisée à 30% et contenant 0,01% du mouillant Tween 80; leur nombre a été estimé par mesure de densité optique à 600 nm en volume connu. Les taux spécifiques de conidiation ont été calculés en unités optiques (UO) rapportées au g de mycélium sec de la culture correspondante; les valeurs fournies ont été corrigées par rapport à celles des cultures témoins sur milieu minimal, considérées comme nulles par l'absence de conidies en surface, vérifiée au microscope. Les poids secs des mycéliums ont été mesurés à poids constant (sur-silicagel) après dessiccation à 95°C.

Nos résultats, groupés dans le Tableau, montrent bien qu'à dose suffisante ($10^{-2}M$), la sérine exerce un double effet de restitution, plasmogène et conidiogène, ramenant ainsi le mutant à un aspect comparable à celui du type sauvage sur milieu minimal. Il est cependant significatif qu'en concentration suboptimale ($10^{-3}M$), la sérine n'est pratiquement plus investie qu'en matériel végétatif prioritaire et que le mutant ser-1 se comporte ainsi, dans ces conditions, en mutant oligo- voire aconidien.

Effets conidiogènes versus plasmogènes de précurseurs nucléiques chez le mutant ser-1 de *Neurospora crassa* cultivé 7 j à 25°C

Compléments au milieu minimal WM liquide (pH 7,0)	Effets	
	Poids sec total (mg)	Nombre spécifique de conidies (UO à 660 nm)
—	23	0 ^a
Uracile $10^{-2}M$	25	240
Thymine $10^{-2}M$	28	10 800
Sérine $10^{-2}M$	194	2 450
Sérine $10^{-3}M$	107	320

^a Petits amas conidiens latéraux déduits.

¹ F. P. HUNGATE, Doctoral thesis, Stanford University, USA (1946).

² A. MEISTER, Adv. Enzymol. 16, 185 (1955).

³ G. COMBÉPINE et G. TURIAN, Path. Microbiol. 28, 1018 (1965).

⁴ H. R. MAHLER et E. H. CORDES, Biological Chemistry (Harper International Edition 1969).

⁵ D. E. BIANCHI and G. TURIAN, Experientia 23, 192 (1967).

⁶ M. WESTERGAARD and H. K. MITCHELL, Am. J. Bot. 34, 573 (1947).

L'intérêt de l'effet de la thymine, c'est qu'elle exerce une forte action conidiogène sans accroissement préalable de la croissance. Cette conidiation ne contribuant que quelques mg supplémentaires de poids sec final (il en a été tenu compte dans les résultats) couvre l'entière surface du fin mycélium porteur; elle se réalise aux extrémités

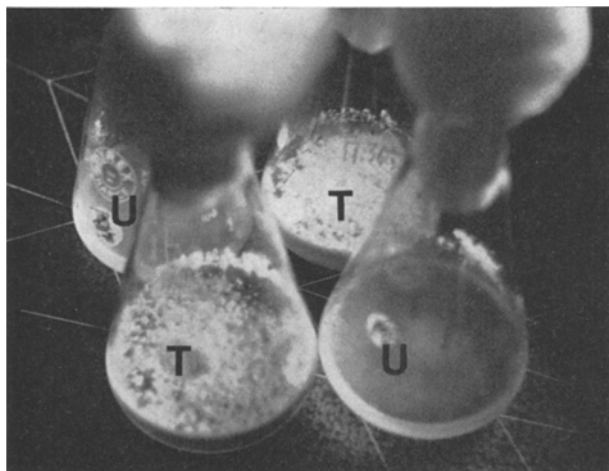
d'hyphes aériens très courts (Figure), ce qui doit correspondre à une économie de croissance si on la compare à celle du mutant sur sérine optimale, intervenant sur une couronne de longs et touffus hyphes aériens.

L'inactivité de l'uracile suggère que la thymine exerce un effet morphogène spécifique par la voie d'une synthèse accrue de l'ADN. Celle-ci ne peut toutefois s'exercer par incorporation directe (après conversion en D-thymidine) car *Neurospora* est dépourvu de thymidine kinase⁷. L'on peut donc penser que la thymine offerte est re-circuitee par déméthylation⁸, et activité subséquente de la polynucléotide méthyltransférase⁹.

Summary. Thymine, but not uracil, induces conidiation without supplementary growth, while suboptimal serine increases mycelial mass only, in the leaky serine-1 mutant of *N. crassa* grown aconidially in liquid minimal medium.

G. TURIAN¹⁰

Laboratoire de Microbiologie générale,
Université de Genève, Place de l'Université 3,
CH-1211 Genève 4 (Suisse), 24 août 1972.



Cultures du mutant sérine-1 de *Neurospora crassa* photographiées au 7ème jour de leur croissance, à 25°C, sur milieu minimal WM liquide enrichi de thymine (T) $10^{-2}M$ ou d'uracile (U) $10^{-2}M$. Observer la surface entièrement conidiée sur thymine et les rares amas conidiens latéraux sur uracile.

⁷ A. R. GRIVELL and J. F. JACKSON, J. gen. Microbiol. 54, 307 (1968).

⁸ R. M. FINK and K. FINK, J. biol. Chem. 237, 2289 (1962).

⁹ E. FLEISSNER and E. BOREK, Proc. natn. Acad. Sci. U.S. 48, 1199 (1962).

¹⁰ Nous remercions Mlle MARILYN HARRINGTON de son aide technique et le Fonds national suisse de la Recherche scientifique de son appui.

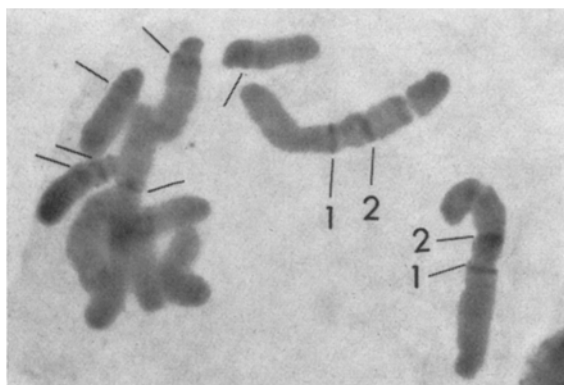
Visualization of Metaphase Heterochromatin in *Vicia faba* by the Denaturation-Renaturation Giemsa Staining Method

In *Vicia faba* specific regions of metaphase chromosomes are differentially stained by various methods¹⁻⁶. These regions are considered to correspond to chromocenters in interphase nucleus and are called heterochromatic segments (H segment)^{1,2}. Differential staining of heterochromatic and euchromatic segments produced by various methods is supposed to reflect the chemical differentiation along the length of metaphase chromosomes. Most of the H segments in *Vicia faba*, which are revealed by cold treatment¹⁻³ or treatment with HCl-

acetic acid³⁻⁵, appear as non- or pale-staining segments (-H segment), but the H segment adjacent immediately to the nucleolus organizing stalk of the M chromosome², which does not respond to cold treatment or treatment with HCl-acetic acid, becomes discernible as more darkly stained segment (+H segment) after treatment with trichloroacetic acid followed by treatment with HCl-acetic acid⁶. The visualization of +H segment by the specific treatment suggests that detection of some other chromosome regions which behave like H segment, i.e. further unveiling of chemical differences along chromosomes, could be possible by using new techniques which produce differential staining of specific metaphase chromosome regions.

It has been shown that, after various treatments which supposedly denature and anneal chromosomal DNA in cytological preparations, Giemsa staining preferentially stains centromeric heterochromatin and/or produces specific banding patterns in mammalian metaphase chromosomes⁷⁻¹⁵. We attempted to see whether the known H segments in *Vicia faba* metaphase chromosomes are differentially stained by the denaturation-renaturation Giemsa staining method and whether the specific chromosome regions which behave like H segment are newly found by this method.

Main root-tips of *Vicia faba* (Nagasaya Soramane) were excised and fixed for 1 h in ethanol-acetic acid (3:1) after pretreatment with 0.05% colchicine for 2 h. They were briefly rinsed in running tap-water and macerated for 2 h at 20°C in the enzyme solution which contained 5% macerozyme 4S and 5% cellulase 'Onozuka' 4S (both from Kinki Yakult Co.) and was adjusted to pH 5.5 with



Metaphase chromosome complement stained with the denaturation-renaturation Giemsa staining method showing the +H bands indicated by arrows. Number 1 and 2 denote the No. 1 and No. 2 site of the -H segments of M chromosome.