

segregation. In nitrogen mustard treated forms, this phenomenon was first seen 8 h after treatment; but large numbers of affected anaphases showing clear bivalent segregation were seen much later, and up to 5 days after injection. Sodium nucleate treated forms also exhibit the same phenomenon. 12 h after injection a few nuclei show bivalent segregation. The number increases gradually until, by about 30 h, a very large percentage exhibits this peculiarity.

the poles. It seems more probable that the chemicals affect the centromere rather than the spindle. This view obtains additional support from the fact that occasionally a few bivalents occur on the spindle in a disorientated manner. The conclusion seems irresistible that the chemical has inactivated the centromeres or in some way rendered them ineffectual so that the bivalents are carried passively to the poles or are left behind on the spindle. An upset in the nucleic acid charge in the chromo-

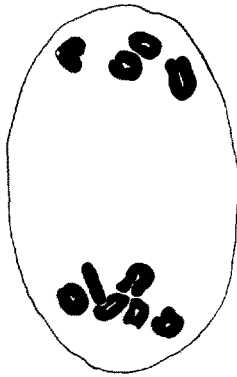


Fig. 1.—Segregation of bivalents.
6 h after injection with
2% urethane solution.

× 1600.



Fig. 2.—Segregation of bivalents;
autosome lagging. 12 h after
injection with 0.1% solution
of sodium ribose nucleate.

× 1600.



Fig. 3.—Segregation of bivalents.
X-chromosome lagging 8 h after
injection with 0.1% solution of
nitrogen mustard.

× 1600.

The segregation might involve all nine bivalents so that they become distributed between the two poles, the X-chromosome also segregating as in normal anaphase (Fig. 1). Most often, the segregation ensures a distribution of 5 and 4 bivalents to the poles but occasionally a distribution of 6 and 3 is also found. In a number of instances, one bivalent (Fig. 2), and sometimes the X-chromosome (Fig. 3), is left behind on the spindle.

To our knowledge, this phenomenon of bivalent segregation has no parallel. The only comparable instance is that reported by AUERBACH¹ in *Drosophila* where, as a result of treatment with nitrogen mustard, the treated X-chromosome and untreated normal X-chromosome move to the same pole during oogenesis. In the present case, however, it must be presumed that all chromosomes in the cell are affected by the chemical. It seems difficult to account for this segregation except on the basis of a change brought about in the centromeres of the bivalent in their attraction-repulsion relationships with reference to the centrosomes. DARLINGTON's² views that the formation of the spindle and the successful orientation and movement of the chromosomes on it depend on a balance in the strength and timing of the cycles and repulsion of the centromeres and centrosomes, lead one to conclude that in the present case the non-separation of the univalents and the bodily movement of the bivalents to the poles must be due to an upset of these relationships. That the spindle is acting more or less normally is clear from the movement of the bivalent to

somes rendering the univalents unable to separate seems also possible.

B. R. SESHACHAR and P. K. NAMBIAR

Department of Zoology, University of Mysore, Central College, Bangalore (India), August 30, 1955.

Zusammenfassung

Urethan, Senfgas und Ribose-Nukleat-Natrium scheinen alle die Meiose der Heuschrecke auf eine interessante Art und Weise zu beeinflussen. In Anaphase I verursachen sie eine Abspaltung von zweiwertigen Einheiten, die, anstatt sich in einwertige Einheiten zu teilen, als Ganze nach den Polen wandern.

On the Multiple Sex Chromosome Mechanism in a Lygaeid, *Oxycarenus hyalinipennis* (Costa)

Multiple sex chromosome mechanisms have been described in numerous species of heteroptera belonging to at least ten different families¹ of which the families Reduviidae and Nepidae have afforded maximum evidence. In the family Lygaeidae, only few examples of such a mechanism have been reported from the subfamilies Lygaeinae^{2,3} and Rhyparochrominae³, the

¹ C. AUERBACH, *Genetics* 32, 3 (1947).

² C. D. DARLINGTON, *Recent Advances in Cytology* (Churchill, London 1937), 2nd ed.

¹ F. SCHRADER, *Evolution* 1, 134 (1947).

² S. D. SCHACHOW, *Anat. Anz.* 75, 1 (1932).

³ E. VON PFALER-COLLANDER, *Acta zool. Fenn.* 30, 1 (1941).

majority of lygaeids studied being found to possess a simple sex determining mechanism of the $XX:XY$ type¹. The present report giving an account of meiosis in *Oxycarenus hyalinipennis* is the first recorded instance of a multiple sex chromosome mechanism for the subfamily Oxycareninae to which this species belongs.

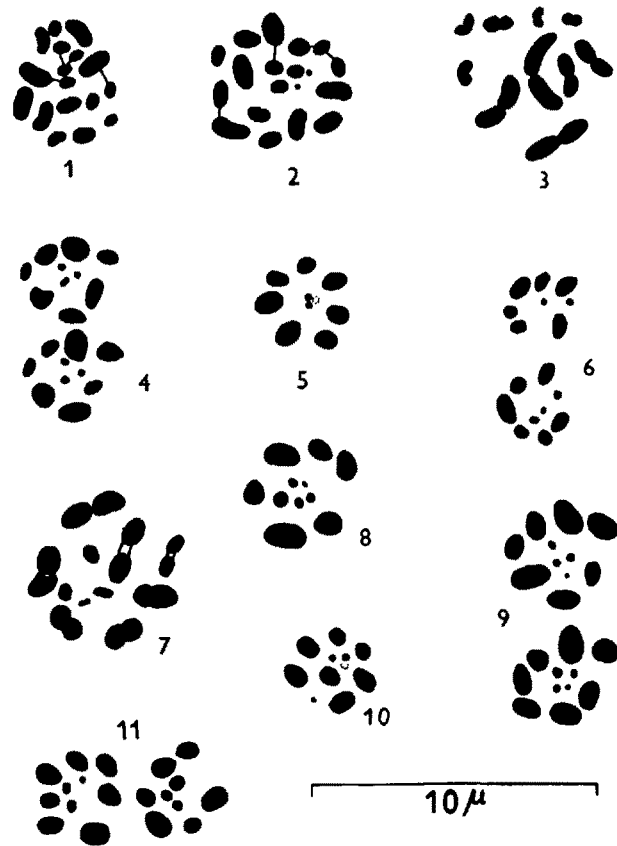


Fig. 1.—Spermatogonial metaphase showing 17 chromosomes.

Fig. 2.—Spermatogonial metaphase showing 19 chromosomes.

Fig. 3.—Diakinesis showing 7 bivalents and 3 univalents.

Fig. 4.—Anaphase I stage.

Fig. 5.—Metaphase II (polar view).

Fig. 6.—Anaphase II stage.

Fig. 7.—Diakinesis from a 19 chromosome cell.

Fig. 8.—Metaphase I.

Fig. 9.—Anaphase I.

Fig. 10.—Metaphase II (polar view).

Fig. 11.—Anaphase II.

Testes of specimens collected from the cotton plantations of the Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, were dissected out in Ringer 'A' solution, fixed in San Felice's fixative and sectioned at 12 micra in thickness. Crystal violet stain was found to be very suitable.

The resting stages of the spermatogonial cells are seen to possess 3 distinct and small heteropycnotic bodies which probably represent the sex chromosomes. At the spermatogonial metaphase 2 different sets of cells, one set containing 17 (Fig. 1) and the other containing 19 chromosomes (Fig. 2) are observed. The complement of 17 chromosomes is seen to be constituted of 6 large, 8 medium and 3 small elements. In the cells showing 19 chromosomes, besides the 17 elements stated, 2 *m*-chromosomes are also observed.

It is also seen that in a few of the cells showing spermatogonial metaphase, these 2 *m*-chromosomes appear to be closely apposed to 1 another giving the impression of a single element.

In the first set of cells showing 17 chromosomes, diplotene and diakinesis stages show 10 elements, of which 7 are distinctly bivalents and 3 appear to be univalents and quite small in size (Fig. 3). The same condition is revealed in the side view of first division metaphase. At first division anaphase (Fig. 4) the 3 small univalent elements are found to be equational while the 7 bivalents reductional in division. The polar view of the second division metaphase shows 9 elements with the 3 univalent chromosomes arranged as a pseudotrivalent (Fig. 5) and in anaphase II the 2 sister cells are seen to possess 9 and 8 chromosomes respectively (Fig. 6).

In the second set containing 19 chromosomes, the diplotene and diakinesis stages are seen to be constituted of 11 elements (Fig. 7) and the first division metaphase also shows the same number (Fig. 8). At the first division anaphase (Fig. 9) the 2 cells show 11 chromosomes each, while the polar view of the second division metaphase shows 10 elements (Fig. 10). During the second division anaphase the 2 cells show 10 and 9 chromosomes respectively (Fig. 11).

The account of meiosis in *Oxycarenus* clearly indicates the existence of a multiple sex chromosome mechanism, showing the nature of the diploid complement to be composed of 14 autosomes and 3 sex chromosomes, i.e. $X_1 X_2 Y$. In the observations made on the 19 chromosome cells the behaviour of the two *m*-chromosomes is interesting. It has been stated¹ that with the exception of the tribe Lygaeini of the subfamily Lygaeinae, the rest of the lygaeids so far studied possess *m*-chromosomes, and therefore, *Oxycarenus* belonging to the subfamily Oxycareninae should be no exception to the rule. But during our observations, we have found that these *m*-chromosomes are found only in cells of some individuals but not in all, which is quite contrary to the usually stable type of *m*-chromosomes found in other heteropterans. Moreover, in all the cells at either diplotene or diakinesis stages these 2 *m*-chromosomes are found to be coupled to form a bivalent. Also recorded are a few first division anaphase stages showing 12 chromosomes in each of the sister cells which probably indicate a failure to pair on the part of these *m*-chromosomes. While maintaining the existence of *m*-chromosomes as a universal feature in the chromosomal constitution of most lygaeids, the coupling behaviour combined with the fact that these *m*-chromosomes have not become stabilized as members of the regular karyotype, point out a unique instance where the *m*-chromosomes may be supposed to behave like the supernumerary chromosomes observed in various other insect populations². In connection with the behaviour of *m*-chromosomes it is felt necessary to recall a particular instance in *Acanthocephala* (= *Metapodius*) *femoratus* reported by WILSON³, where the single supernumerary chromosome observed is found to be structurally similar to the usual pair of *m*-chromosomes and that it couples with the 2 *m*-chromosomes forming a trivalent. It is hoped that a further study of the populations of the same insect collected from different territories might throw some light as to the role these extra bodies play in the population dynamics of the species in question.

¹ G. K. MANNA, Proc. zool. Soc. Bengal 4, 1 (1951).

² M. J. D. WHITE, *Animal Cytology and Evolution*, 2nd Ed. (Cambridge University Press, 1954).

³ E. B. WILSON, J. exper. Zool. 9, 53 (1910).

¹ G. K. MANNA, Proc. zool. Soc. Bengal, 4, 1 (1951).

The author is greatly indebted to Dr. M. L. BHATIA, for providing the necessary facilities to carry out this investigation and to Dr. REECE I. SAILER, National Museum, Washington, D. C., for kindly identifying the specimen. Sincere thanks are due to Dr. M. K. DUTT for guidance and helpful criticism.

P. S. MENON

Department of Zoology, University of Delhi, India,
September 3, 1955.

Résumé

Oxycaremus hyalinipennis (Costa) possède vraisemblablement des chromosomes sexuels multiples du type $X_1 X_2 Y$. Les métaphases diploïdes renferment, soit 17, soit 19 éléments. Les 2 éléments supplémentaires des cinèses à 19, bien que comparables aux *m*-chromosomes des autres *Lygèides*, diffèrent de ces derniers en certains points de leur comportement qui évoque celui des «surnuméraires» trouvés chez d'autres insectes. La méiose est du type habituel chez les Hétéroptères.

Die Wirkung energiereicher Strahlen auf die Atmungsfermentkette

In früheren Mitteilungen haben wir gezeigt, dass isoliertes Cytochrom *c* in 10^{-4} molarer wässriger Lösung relativ leicht durch Röntgenstrahlen oxydiert werden kann. Dabei wird wahrscheinlich die Struktur des Cytochrom-Moleküls irreversibel verändert¹. Die Möglichkeit, dass in einer lebenden Zelle einzelne Cytochrome oder andere Glieder der Atmungsfermentkette durch eine Bestrahlung ähnlichen Veränderungen unterworfen sind, musste in Betracht gezogen werden. Da die Cytochrome relativ leicht durch Spektroskopie nachzuweisen sind, lag es nahe, zu untersuchen, ob sie auch in der lebenden Zelle durch eine Bestrahlung oxydiert werden, bzw. ob das Gleichgewicht zwischen oxydiertem und reduziertem Cytochrom auf die oxydierte Seite verlagert wird.

Eine Störung der Sauerstoffaufnahme der bestrahlten Zellen hat sich bisher nicht sicher nachweisen lassen; die von BARRON und seinen Mitarbeitern² beobachtete Atmungshemmung konnten andere Beobachter nicht bestätigen³. Doch lässt sich aus der Grösse des Sauerstoffverbrauches noch nicht unbedingt auf einzelne Reaktionsschritte der Atmungsfermentkette schliessen.

Material und Methode

Zellsuspensionen. Wir verwendeten Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) und *Escherichia coli*. Die Hefe war Bäckerhefe der Hefefabrik Oberkotzau, sie wurde 2mal in kalkarmem Leitungswasser gewaschen und 15%ig in $m/30$ KH_2PO_4 suspendiert. Bei *E. coli* handelte es sich um Stamm B. Beimpfte Bouillon-Agar-Platten wurden 24–48 h bei 37° b. brütet und die Keime mit einem Spatel abgeschabt. Im allgemeinen liessen sich von einer

Agarplatte 40–50 mg frische Colibakterien gewinnen. Die Bakterien wurden einmal mit Leitungswasser gewaschen, zentrifugiert (10 min, 5000 U./min) und 8%ig in $m/30$ Phosphatpuffer, pH 6,2 suspendiert. Da wir eine Oxydation des gelösten Cytochroms vor allem im sauren Bereich gesehen hatten, wählten wir die beschriebenen pH-Werte von 6,2 bei *E. coli* und 4,7 (KH_2PO_4) bei Hefe.

Spektroskopie. Ihre Methodik wurde bereits in unserer früheren Mitteilung¹ beschrieben. Vor jeder elektrischen Messung betrachteten wir die Zellsuspensionen mit dem Handspektroskop nach der Methode von WARBURG². Bei der elektrischen Messung wurde das Licht einer Xenonlampe durch einen Monochromator zerlegt und die Intensität dieses monochromatischen Lichtes durch einen empfindlichen Multiplier gemessen. Der Küvettenhalter zwischen Lichtquelle und Multiplier fasste 2 Küvetten. Durch eine einfache Schiebvorrichtung konnte man rasch die eine oder andere Küvette in den Strahlengang bringen. Die Zellsuspensionen wurden während der Messung mit Sauerstoff oder Stickstoff durchströmt, ihre Schichtdicke betrug 2,0 cm.

Bestrahlungstechnik. Apparatur der Firma C. H. F. Müller, Hamburg, Modell M G 150, 150 kV, 15 mA, ohne Filter, HWS 0,4 mm Cu. Dosiszufluss 500–2000 r/min. Die Bestrahlung wurde in den Messküvetten vorgenommen, die vorgekühlten Gefässe standen dabei im Eiswasser, die Temperatur des Küvetteninhaltes betrug während der Bestrahlung etwa + 2°.

Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität nach LINDENMANN³. Es wird die Menge Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) bestimmt, die von einer bestimmten Menge Bakterien reduziert wird. Ansatz: etwa 10^9 Bakterien (2 cm^3 einer 0,1%igen Suspension) in $m/15$ Phosphatpuffer pH 6,2; 2,0 mg Glukose; 1,0 mg TTC; 37,0°C; Versuchsdauer 30 min. Das normale Reduktionsvermögen dieses Ansatzes betrug bei $n = 20$

$$400 \pm 4 \gamma \text{ TTC.}$$

Messung der Cytochrombanden in den lebenden Zellen. Betrachtet man mit dem Handspektroskop eine 15%ige Suspension gewaschener Hefe, so kann man folgende Absorptionsbande erkennen (Abb. 1a):

605 $m\mu$, ziemlich schmal	Bande a_α
563 $m\mu$, stark	Bande b_α
550 $m\mu$, stark	Bande c_α
520 $m\mu$, schwach, oft nicht erkennbar	Bande $(b + c)_\beta$

Die Doppelbande 563/550 $m\mu$ ist fürs Auge gut trennbar. Die Banden werden beobachtet in einer ruhenden Suspension, sowie bei Durchströmung mit N_2 . Leitet man Sauerstoff durch die Küvetten, verblassen die Banden, wie es bereits 1885 von McMUNN und später von WARBURG und KEILIN⁴ ausführlich beschrieben worden ist. Voraussetzung ist allerdings, dass die Zellsuspension gut gewaschen ist, also wenig Substrat zur Verfügung hat. Betrachtet man nämlich ungewaschene Hefe oder fügt noch ein wenig Glukose zur Suspension, verblassen die Bande bei O_2 -Durchströmung fast gar nicht. Die Abnahme der Intensität betrifft vor allem die Bande a_α und c_α . Die Bande b_α bleibt dagegen selbst bei starker O_2 -Zufuhr fast unverändert (Abb. 1b). *E. coli* besitzt

¹ U. HAGEN, Z. Naturforsch. 10b, 210 (1955); Naturwissenschaften 42, 185 (1955). – E. S. G. BARRON und V. FLOOD, Arch. Biochem. Biophys. 41, 203 (1952).

² E. S. G. BARRON, B. GASVODA und V. FLOOD, Biol. Bull. 97, 51, 144 (1949). – E. S. G. BARRON und I. SEKI, J. gen. Physiol. 35, 865 (1952).

³ E. J. BOELL, J. cell. comparat. Physiol. [39. Suppl.] 2, 19 (1952). – D. BILLEN, G. E. STAPLETON und A. HOLLAENDER, J. Bacteriol. 65, 131 (1953). – M. LE MAY, Proc. Soc. exper. Biol. Med. 77, 337 (1951). – H. LASER, Nature 174, 753 (1954).

⁴ U. HAGEN, Z. Naturforsch. 10b, 210 (1955); Naturwissenschaften 42, 185 (1955).

² O. WARBURG, Schwermetalle als Wirkungsgruppen von Fermenten (Editio Cantor, Aulendorf i. Wttbg. 1949).

³ J. LINDENMANN, Schweiz. Z. allg. Path. Bakt. 17, 311 (1954).

⁴ D. KEILIN und E. F. HARTREE, Proc. roy. Soc. London [B] 127, 167 (1939).