

ILL Request



REG-10074792

MDUNIH

NLM -- W1 Z0614 (Gen); Film S03003; E-Journal w/ILL access

National Institutes of Health (NIH)
 NIH Library
 10 Center Drive, MSC 1150
 Building 10 Room B1L306
 Bethesda, MD 20892-1150

ATTN:	SUBMITTED:	2016-12-23 17:09:09
PHONE: 301-594-6476	PRINTED:	2016-12-27 09:35:19
FAX:	REQUEST NO.:	REG-10074792
E-MAIL: edelivery@nih.gov	SENT VIA:	DOCLINE
	EXTERNAL NO.:	2603
	OPAC NO.:	AAAOACH

REG	NORMAL	Copy	Journal
-----	--------	------	---------

TITLE:	ZOOLOGISCHER ANZEIGER
PUBLISHER/PLACE:	Elsevier Amsterdam :
VOLUME/PAGES:	1969;183():168-176 168-176
DATE:	1969
AUTHOR OF ARTICLE:	Lueken, W. and Foerster
TITLE OF ARTICLE:	CHROMOSOMENUNTERSUCHUNGEN BEI FISCHEN MIT EINER VEREINFACHTE
ISSN:	0044-5231
OTHER NUMBERS/LETTERS:	NLM Unique ID: 0031351 39572882
SOURCE:	Unique Key
MAX COST:	\$4.00
COPYRIGHT COMP.:	Law
CALL NUMBER:	W1 Z0614 (Gen); Film S03003; E-Journal w/ILL access

ILL Request



REG-10074792

REQUESTER INFO: Ciufu - TN: 2603
DELIVERY: Odyssey: 206.107.44.214
REPLY: E-mail: edelivery@nih.gov

This document contains 9 pages. This is NOT an invoice.

Questions? Contact NLM: www.nlm.nih.gov/illcontact

THIS MATERIAL MAY BE PROTECTED BY COPYRIGHT LAW (TITLE 17, U.S. CODE)

the Department of Zoology Tribhuvan University Kathmandu, at the eve of the Ecological Seminar on the Tropical Highlands encouraged the author for the publication.

References

- AGARWAL, J. C.: Sexual dimorphism and eversion of the hemipenes in *Uromastix hardwickii*, Gray. Agra Univ. J. Research, III (1954) 535.
- BOAS, J. E. V.: Zur Morphologie der Begattungsorgane der amnioten Wirbeltiere. Morph. Jb. 17 (1891).
- CHAUBE, S.: The morphology of the urinogenital system of *Uromastix hardwickii*, Gray, the spiny-tailed lizard. Proc. 40th Indian Sci. Congress, part III (1952).
- COPE, E. D.: Hemipenes of the sauria. Proc. Acad. Sci. Nat. Philadelphia 1896.
- DAS, S. M.: A comparative functional study of the urinogenital system in *Uromastix hardwickii*, *Ptyas mucosus* and *Eryx conicus*. Proc. Nat. Acad. Sci. sec. B. Vol. XXX part I (1960) 59—78.
- GADOW, H.: Cloaca and copulatory organs of the Amniota. Phil. Transact. Roy. Soc. London 178 B (1887).
- GEGENBAUR, C.: Vergleichende Anatomie. 1., 2. und 3. Aufl. (1859—1901).
- HOFFMANN, C.: Zur Entwicklungsgeschichte der Urogenitalorgane der Reptilia. Z. wiss. Zool. 48 (1889).
- MAJUPURIA, T. C.: The anatomy of the hemipenes in *Uromastix hardwickii*, Gray. Agra Univ. J. of Research, III part 2 (1954).
- On the myology, blood vessels and nervous supply of cloaca and hemipenes in *Uromastix hardwickii*, Gray. Proc. 44th Indian Sci. Cong. (1958).
- Mc CANN, C.: The hemipenes in reptiles. J. Bombay Nat. Hist Soc. 46 (1946) 2.
- MÜLLER, JOHN: Über zwei verschiedene Typen im Bau der erektilen männlichen Geschlechtsorgane bei den straußartigen Vögeln und über die Entwicklungsformen dieser Organe unter den Wirbeltieren überhaupt. Abh. Kgl. Akad. Wiss. zu Berlin, aus dem Jahre 1838.
- NAIR, P. V.: Morphology of the urinogenital organs of a less common lizard of Bengal, *Geko geko* (Linn.). Proc. 46th Indian Sci. Congress (1959).
- RATHKE, H.: Entwicklungsgeschichte der Natter. Berlin 1830.
- SMITH, M. A.: Sauria and ophidia. Fauna Brit. India, 1935.
- UNTERHÖSSEL, P.: Kloake und Phallus der Eidechsen und Schlangen. Morph. Jb. 30 (1902).
- WÖPKE, K.: Die Kloake und die Begattungsorgane der männlichen Zauneidechse. Jena. Z. für Nature. Bd. LXV, Verlag Gustav Fischer, Jena 1930.

Aus dem Genetischen Institut der Justus-Liebig-Universität Gießen

Chromosomenuntersuchungen bei Fischen mit einer vereinfachten Zellkulturtechnik

Von

WOLFGANG LUEKEN und WOLFGANG FOERSTER¹

Mit 5 Abbildungen

(Eingegangen am 22. Juni 1968)

Meist stehen systematische bzw. evolutionistische Aspekte bei Untersuchungen an Fischchromosomen im Vordergrund (z. B. CHEN 1966, KARBE 1964.

¹ Priv.-Doz. Dr. Wolfgang Lueken und Wolfgang Foerster, Genetisches Institut, 63 Gießen, Leihgesterner Weg 112—114.

KAUR and SRIVASTAVA and ATKIN 1968, MURAMOTO, CHRETIAN and ZANANDREA e CAVALLO tumorbildenden Zellen (a. FREYE und ZELNER hier durch RÜDLING 1967). Um die gezielte Züchtung zu können, ist es notwendig, die Rückkreuzungsgene für die bisher bekannter Chromosomen konzentrisch offen, durch ein Hybrid aufzuklären.

Bei der Inaktivitätskaryotypanalyse (Karyotypen). Das liegt vor allem an der strich- oder Querstrich- (1966) eingeführt worden. Trotz der genügend erfolglos hat bereits zu seiner Gewebekultur herangezogen und manuellen zur Bearbeitung, das fächerförmige Exemplare die Ermittlung weiterer Untersuchungen seltene Anwendbarkeit folgenden behan-

Ausgangsmaterial (oder aus der Suspension (PBS) nach Lösung von PFITZNER und Kantenlänge zerlegt) in Ver- lösungen haben

a) NaCl 8,4 g/l
1100 ml H₂O

KAUR and SRIVASTAVA 1965, KOBAYASI 1965, LIEDER 1963, MURAMOTO, OHNO and ATKIN 1968, NAYYAR 1966, NOGUSA 1960, OHNO and ATKIN 1966, OHNO, MURAMOTO, CHRISTIAN and ATKIN 1967, POST 1965, ROBERTS 1964, SCHEEL 1966, ZANANDREA e CAPANA 1964). Eine gänzlich andere Problemstellung liegt bei tumorbildenden interspezifischen *Xiphophorus*-Bastarden (Poeciliidae) vor (s. a. FREYE und ZERNAHLE 1967). Die Intensität des malignen Wachstums kann hier durch Rückkreuzung gesteigert werden (Zusammenfassung s. ANDERS 1967). Um die genetischen Bedingungen für die Tumormanifestation verstehen zu können, ist es wesentlich zu wissen, welche Chromosomen jeder Spezies in Rückkreuzungsbastarden verschiedener Generationen enthalten sind. Markierungsgene für die Chromosomen sind dafür jedoch kaum auszunutzen, da die bisher bekannten Farbfaktoren bei den Zahnkarpfen auf ganz bestimmte Chromosomen konzentriert sind (s. KALLMAN and ATZ 1966). So blieb nur der Weg offen, durch eine cytologische Analyse die chromosomale Konstitution der Hybriden aufzuklären.

Bei der Inangriffnahme der Arbeit zeigte es sich jedoch, daß die bei der Karyotypanalyse von Fischen bisher angewendeten Methoden nicht ausreichen. Das liegt vor allem an der geringen Ausbeute geeigneter Stadien bei Austrich- oder Quetschverfahren. Zwar ist dies durch die von McPHAIL und JONES (1966) eingeführte Verwendung von Kiemenepithelzellen entscheidend verbessert worden. Trotzdem erwies sich in unseren Versuchen erst eine Methode als genügend erfolgreich, die auf der Zellkultur in vitro basiert. ROBERTS (1964) hat bereits zu seiner Analyse von Centrarchiden-Karyotypen die gebräuchliche Gewebekultur herangezogen. Sie erfordert jedoch einen erheblichen materiellen und manuellen Aufwand. Unser Ziel ist es daher gewesen, ein Verfahren auszuarbeiten, das die günstigen Eigenschaften der in vitro-Zellkultur auf einfacherem Wege auszunutzen erlaubt. Es sollte ebensogut mit alten wie mit jungen Exemplaren von Fischarten durchzuführen sein, und die Fische sollten die Ermittlung ihres Karyotyps möglichst schadlos überleben, damit sie für weitere Untersuchungen zur Verfügung bleiben. Diese Methode, ihre universelle Anwendbarkeit, und die ersten damit gewonnenen Ergebnisse werden im folgenden behandelt.

Methodik

Ausgangsmaterial sind Flossenteile, zweckmäßigerweise aus der Rücken- oder aus der Schwanzflosse. Sie werden in einer phosphatgepufferten Salzlösung (PBS) nach DULBECCO und VOGT (1954), die entsprechend den Angaben von PFITZNER und GRÜTZNER (1964) verdünnt ist, in Stücke von etwa 2 mm Kantenlänge zerschnitten. Die PBS wird jeweils vor Gebrauch aus drei Stammlösungen im Verhältnis a : b : c wie 8 : 1 : 1 gemischt und steriltrifert. Die Lösungen haben folgende Zusammensetzung:

a) NaCl 8,0 g; KCl 0,2 g; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{ H}_2\text{O}$ 2,9 g; KH_2PO_4 0,2 g in 1100 ml H_2O .

- b) CaCl_2 0,1 g in 137,5 ml H_2O .
 c) $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ 0,1 g in 137,5 ml H_2O .

Zur Desinfektion enthält die PBS je ml 200 IE Penicillin sowie 20 γ Streptomycin. Nach etwa 30minütigem Aufenthalt werden die Explantate auf sterile Deckgläser übertragen und mit einem kleinen Tropfen Nährmedium bedeckt. Es muß so über das Deckglas verstrichen werden, daß das Explantat fest auf der Oberfläche haftet, weil andernfalls ein Auswaschen der Zellen meist unterbunden wird. Das Nährmedium setzt sich zusammen aus 20 Teilen Medium 199, 4 Teilen Kälberserum (beides von der Fa. Difeo) und 9 Teilen bidestilliertem Wasser, sowie 100 IE Penicillin und 10 γ Streptomycin je ml. Jedes Deckglas wird in ein Reagenzglas eingeschoben, das durch einen dichtschießenden Stopfen verschlossen wird. In einem Brutschrank entsprechender Temperatur müssen die Reagenzgläser in genau horizontaler Lage gehalten werden. Das Auswandern von Zellen beginnt nach einer bestimmten Latenzzeit, die artspezifisch ist und von wenigen Stunden bis — selten — ein bis zwei Tage dauert. Um das Austrocknen der Kulturen zu verhindern, empfiehlt es sich, einen Tropfen Wasser an die Reagenzglaswandung zu geben.

Dieses Kulturverfahren ist die unmittelbare Basis für die Chromosomendarstellung selbst. Wenn Zellen in dünner Schicht um das Explantat herum auf dem Deckglas ausgebreitet sind, wird mit Hilfe einer Pasteur-Pipette frisches Nährmedium aufgetropft, in dem Colchicin im Verhältnis 1 : 50 000 bis 1 : 100 000 gelöst ist. Nach genügender Einwirkungsdauer (drei Stunden haben sich als günstige Zeit erwiesen) wird das Präparat mit hypotonischer Lösung vorbehandelt (Hsu and POMERAT 1953). Dazu wird das Nährmedium durch Hinzufügen von destilliertem Wasser verdrängt. Ein Rest anhaftenden Mediums sorgt dafür, daß dabei eine stark verdünnte Lösung entsteht, die noch alle Ingredienzien des ursprünglichen Milieus enthält. Nach 45 min wird in Alkohol-Essigsäure (3 : 1) fixiert. Auf die Fixation folgt ein völliges Trocknenlassen des Präparats an der Luft (ROTHFELS and SIMINOVITCH 1958). Schließlich wird mit Orcein-Essigsäure gefärbt. Vor dem Auflegen des Deckglases auf einen Objektträger wird das Explantat am besten entfernt, damit die Schichtdicke der Färbelösung reduziert und eine Schräglage des Deckglases verhindert wird.

Die Ausbeute an Mitosestadien ist gewöhnlich schon 6 bis 48 Stunden nach dem Ansetzen der Kulturen hoch genug. Das hat, wie Versuche gezeigt haben, den Vorteil, daß es meist nicht erforderlich ist, unter völlig sterilen Bedingungen zu arbeiten. Denn die Präparate werden schon aufgearbeitet, bevor Bakterien die Kulturen zerstören können. Das gilt besonders bei der Untersuchung von Kaltwasser-Fischen, deren Zellen schon bei Zimmertemperatur oder darunter auswandern und sich teilen. Die Methode ist also auch außerhalb eines gut eingerichteten Laboratoriums sehr wohl anwendbar. Es sei auch noch darauf hingewiesen, daß sie äußerst ökonomisch ist, da bei Einsatz einer Filtrierspritze jeweils nur wenige Tropfen Nährmedium je Deckglas, das mehrere Explantate enthalten kann, verbraucht werden.

E
 Die universelle A
 systematischer Stellur
Ameiurus nebulosus
Anguilla anguilla

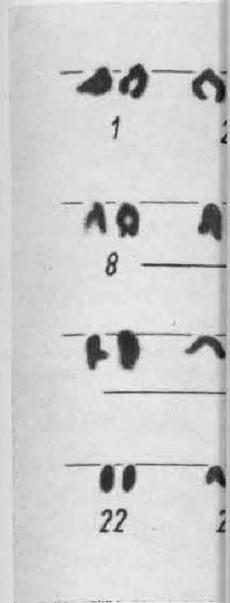
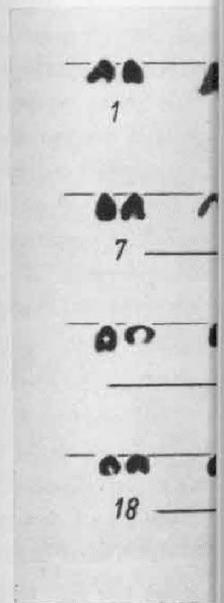


Abb. 1. Karyogramm von Xsomen-Nummern w



Ergebnisse und Diskussion

Die universelle Anwendbarkeit wurde an folgenden Spezies verschiedener systematischer Stellung getestet (Nomenklatur nach STERBA 1959):

- Ameiurus nebulosus* (Le Sueur, 1819)
- Anguilla anguilla* (Linné, 1758)

wie 20 γ Streptoantate auf sterile medium bedeckt. explantat fest auf allen meist unteren Teilen Medium 0 Teilen bidestilliert je ml. Jedes inen dichtschlieprechender Temgehalten werden. Latenzzeit, die n bis zwei Tage mpfiehl es sich,

e Chromosomen-Explantat herum steur-Pipette fri bis 1 : 50 000 bis i Stunden haben onischer Lösung rmedium durch nhaftenden Mehtsteht, die noch 45 min wird in alliges Trocken- (1958). Schließlich Deckglases auf mit die Schichtglases verhindert

bis 48 Stunden Versuche gezeigt öllig sterilen Bebearbeitet, bevor bei der Unter- mtemperatur auch außerhalb Es sei auch noch insatz einer Fil- as, das mehrere

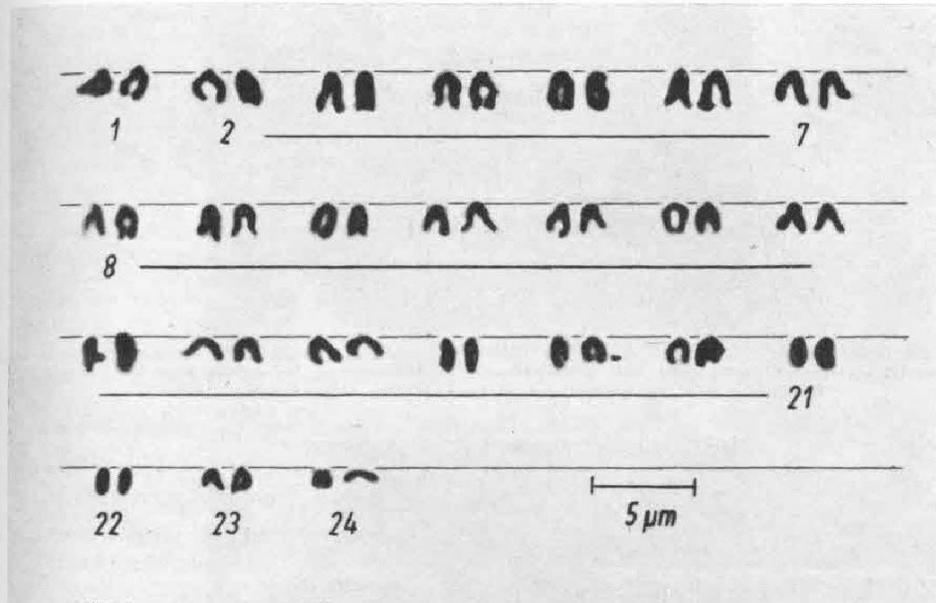


Abb. 1. Karyogramm von *X. montezumae* ssp. *cortezi* (♀). (Durch Verbindungslinien zwischen den Chromosomen-Nummern werden Gruppen nicht weiter unterschiedener Chromosomen gebildet.)

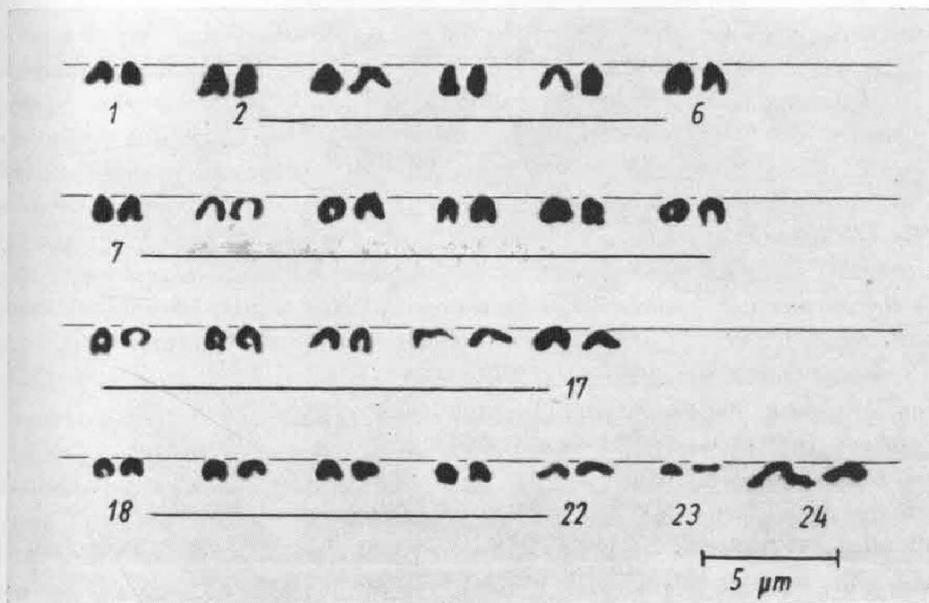


Abb. 2. Karyogramm von *X. ziphidium* (♂); s. a. Abb. 1

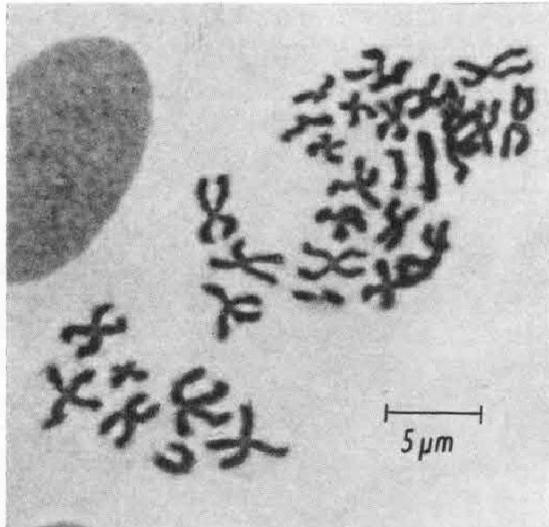


Abb. 3. C-Metaphaseplatte von *Hyphessobrycon innesi* (♂). Die Mehrzahl der Chromosomen ist metazentrisch. Das ist an diesen noch nicht voll kontrahierten Chromosomen besonders klar zu erkennen; später trennen sich die Tochterchromosomen häufig voneinander. $2n = 36$

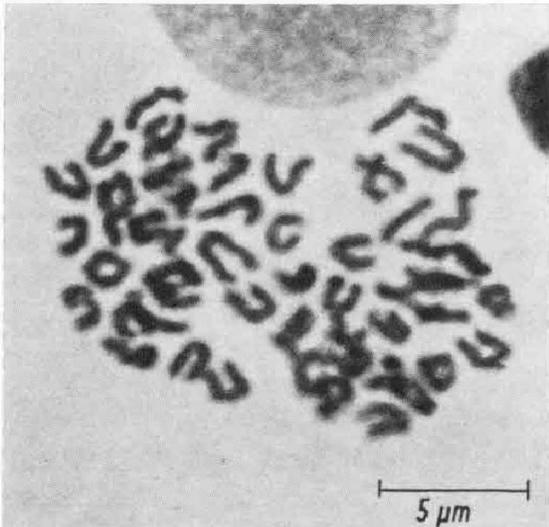


Abb. 4. C-Metaphaseplatte von *Hemigrammus erythrozonus* (♀). Nur wenige metazentrische Elemente.
 $2n = 48$

Gasterosteus aculeatus Linné, 1758

Hemigrammus erythrozonus Durbin, 1909

Hyphessobrycon innesi Myers, 1936

Idus idus (Linné, 1758)

Lebistes reticulatus (Peters, 1859)

*Petromyzon planeri*² Bloch, 1784

² HEFTI GRESSMANN vom Zoologischen Staatsinstitut in Hamburg sei für die Beschaffung der Tiere herzlich gedankt.

Abb. 5. C-Metaphaseplatte von

Pterophyllum s.
Rasbora hetero
Xiphophorus he
X. maculatus (C
X. montezumae
X. variatus (Me
X. xiphidium H

Von diesen Fis
suche angesetzt, um
auswachsen und au
Materials (nur die
in fast allen Fällen
Struktur der geprüf
betonen, daß sowoh
angegebenen Zusan
ihrer Konzentration
sung an bestimmte z
Besprechung einiger
lichen Zielsetzung, z

Aus den bisher
ging hervor, daß all
Diese weisen zwar t
miteinander verbun
einzelnen Spezies w
1966, FREYE und Z
neuen Methode doch

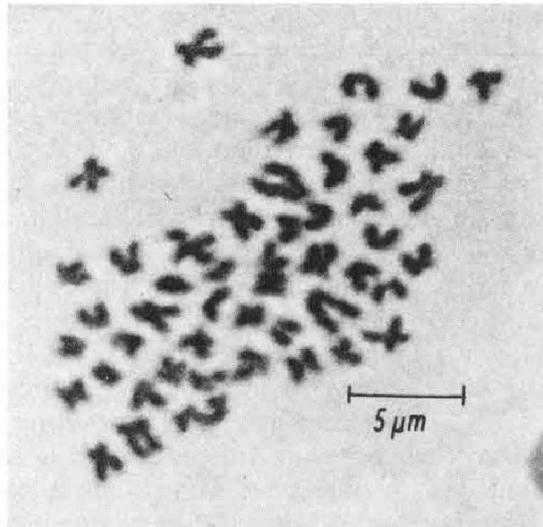


Abb. 5. C-Metaphasplatte von *Idus idus* (juv.). Trotz der hohen Zahl der Chromosomen ($2n = 52$) viele metazentrische Elemente

- Pterophyllum scalare* (Lichtenstein, 1823)
Rasbora heteromorpha Duncker, 1904
Xiphophorus helleri Heckel, 1848
X. maculatus (Günther, 1866)
X. montezumae Jordan and Snyder, 1900
X. variatus (Meek, 1904)
X. xiphidium Hubbs and Gordon.

Von diesen Fischen wurden im allgemeinen lediglich orientierende Versuche angesetzt, um zu prüfen, ob unter den gegebenen Bedingungen Zellen auswachsen und auch Mitosen durchführen. Trotz des geringen eingesetzten Materials (nur die *Xiphophorus*-Arten wurden intensiver untersucht) konnte in fast allen Fällen ein Erfolg erzielt, d. h. ein Bild über die chromosomale Struktur der geprüften Tiere gewonnen werden. Dabei ist noch besonders zu betonen, daß sowohl die Salzlösung als auch das Nährmedium in den oben angegebenen Zusammensetzungen angewendet wurden. Durch Modifikation ihrer Konzentrationen ließe sich, wenn nötig, sogar noch eine bessere Anpassung an bestimmte zu untersuchende Formen erreichen. Bei der nun folgenden Besprechung einiger der erzielten Resultate wird, entsprechend der ursprünglichen Zielsetzung, zunächst auf die Zahnkarpfen eingegangen.

Aus den bisher veröffentlichten Metaphasebildern von *Xiphophorus*-Arten ging hervor, daß alle Formen einheitlich 48 terminale Chromosomen besitzen. Diese weisen zwar unterschiedliche Längen auf, sind jedoch durch Übergänge miteinander verbunden. Eine Differenzierung zwischen den Karyotypen der einzelnen Spezies war danach nicht möglich (neuere Literatur: OHNO and ATKIN 1966, FREYE und ZERNAHLE 1967). Demgegenüber sind jetzt mit Hilfe der neuen Methode doch feine Unterschiede sichtbar geworden. Zur Erleichterung

der Demonstration sind die Chromosomensätze von *X. montezumae* ssp. *cor-tezi* Rosen und von *X. xiphidium* in Form von Karyogrammen wiedergegeben (Abb. 1 und 2). Bei beiden Arten ist jeweils das erste Paar der Chromosomen von allen übrigen auf Grund der deutlich subterminalen Lage der Centromeren abgehoben. Diese individualisierbaren Elemente einer Art sind darüber hinaus von denen der anderen an Hand der Armlängen-Indices zu unterscheiden. Bei den übrigen Chromosomen ergeben sich für die behandelten Arten unterschiedliche Verteilungen auf die Größengruppen, d. h. die Anzahlen der jeweils größten und der kleinsten Elemente differieren. Und schließlich zeichnet sich noch *X. xiphidium* im männlichen Geschlecht durch den Besitz eines Heterosomen-paares mit einem besonders langen Partner aus. Auch bei den anderen untersuchten Spezies liegen die Karyotyp-Unterschiede in diesen Bereichen (s. a. FOERSTER und LUEKEN 1968). Eine umfassende Darstellung der Ergebnisse von *Xiphophorus*-Arten ist in Vorbereitung. Auf jeden Fall lassen die hier skizzierten Resultate erkennen, daß es möglich sein wird, mindestens einen Teil der Chromosomen eines Bastards den Ausgangsarten zuzuordnen.

Von den anderen Untersuchungsobjekten werden einige Befunde mitgeteilt, die für Fragen der Karyotypevolution bei Fischen bedeutsam sind. Die Abbildungen dazu wurden in erster Linie im Hinblick auf die Darstellung der Chromosomenmorphologie ausgewählt. Aus Abb. 3 läßt sich ablesen, daß die Anzahl der Chromosomen von *Hyphessobrycon innesi* erheblich geringer ist als 48, die Zahl, die übereinstimmend für mehrere andere Arten derselben Gattung angegeben ist (s. Post 1965). Sie liegt bei 36. Diese Abweichung von der Zahl 48 innerhalb einer Gattung ist vor allem deshalb auffällig, weil diese Zahl im allgemeinen selbst bei weit entfernt voneinander stehenden Fischgruppen konstant ist. Da von den anderen Spezies der Gattung nur Chromosomen aus der Meiosis analysiert wurden, die alle mehr oder weniger punktförmig erscheinen, läßt sich leider nicht entscheiden, ob die Reduktion der Zahl bei *H. innesi* durch Verschmelzung von Elementen zustande gekommen ist. Die große Zahl von \pm metazentrischen Chromosomen legt diesen Gedanken an sich nahe. Es sei noch darauf hingewiesen, daß Heterogenität der Chromosomenzahlen innerhalb einer Gattung bei den Fischen recht selten ist, sie ist vor allem von Gattungen der Rivulinae bekannt (SCHEEL 1966).

Von noch zwei weiteren Arten konnte erstmals die Chromosomenzahl bestimmt werden. Dazu gehört *Hemigrammus erythrozonus* (Characidae) (Abb. 4), der wie verwandte Arten (s. Post 1965) diploid 48 Chromosomen besitzt. Die zweite Spezies ist *Idus idus* (Cyprinidae) mit $2n = 52$ (Abb. 5). Diese Zahl stimmt überein mit den von LIEDER (1954) für verwandte Arten ermittelten Zahlen, doch zeigt sich erst jetzt, daß unerwartet viele metazentrische Elemente vorliegen.

Wie aus allen Abbildungen ersichtlich ist, können innerhalb einer Spezies die Metaphasechromosomen sehr erhebliche Größen- und Gestaltdifferenzen aufweisen. Dieser Befund steht im Widerspruch zu der von Post (1965) an Hand von Meiosechromosomen aufgestellten Annahme von weitgehender Gleichartigkeit der Chromosomengestalt bei Fischen, die eine wesentliche Rolle

für seine Vorstellung spielt. Es zeigt sich als kleren Gestaltveränderungen. Daß insgesamt bei den an Chromosomentypen Abb. 1 und 3 hervorgehobenen 52 Chromosomen zentrische Elemente bei einer geringeren Gesamtzahl. Dasselbe gilt für andere, sicher keine einfachen nach der Roberts der Anzahl der Chromosomen Überlegungen.

A method for cloning based on a simple cell slips without use of incubated in a glass have grown out. The later the cell layer is left dry, and stained with *montezumae* and *X. innesi* as well as morphological differences have been stated: *Hyphessobrycon innesi*. Shape differences of higher than has been s

Herrn Prof. Dr. F. die Arbeitsmöglichkeiten wissenschaftliche Hilfe zu gro WUTSCHKA für die Bereitst

- ANDERS, F.: Tumour formation. *Experientia* 2
CHEN, T.: Comparative cytology. D. Diss., Biology, N
DULBECCO, R., and M. VOORHOUT. VIRUSES. *J. exp. Me*
FOERSTER, W., and W. LUEKEN. *Culatus* (Poeciliidae)
FREYE, H.-A., and K. ZEPHERUS. *Cilus maculatus* u
(1967) 267-275.

für seine Vorstellung über die Evolution der Karyotypen bei den Fischen spielt. Es zeigt sich also, daß die Chromosomen während der Meiosis doch stärkeren Gestaltveränderungen unterliegen, als bisher meist angenommen wurde. Daß insgesamt bei den Fischen eine erhebliche unerwartete Mannigfaltigkeit an Chromosomentypen vorhanden ist, geht besonders aus einem Vergleich der Abb. 1 und 3 hervor. Dabei muß noch betont werden, daß z. B. *Idus idus* bei seinen 52 Chromosomen — für Fische eine relativ hohe Zahl — viele \pm metazentrische Elemente besitzt, während *Hemigrammus erythrozonus* bei einer geringeren Gesamtzahl (48) nur wenige metazentrische Chromosomen aufweist. Dasselbe gilt für andere Formen, z. B. die *Xiphophorus*-Arten. Es liegen also sicher keine einfachen Beziehungen zwischen Chromosomenzahlen und -formen nach der Robertsonschen Regel vor. Aus allen Befunden folgt, daß neben der Anzahl der Chromosomen auch verstärkt ihre Morphologie bei phylogenetischen Überlegungen mit herangezogen werden muß.

S u m m a r y

A method for chromosome preparation of fishes is described, which is based on a simple cell culture technique: explants from fins are placed on cover slips without use of plasma, covered with a drop of nutritional medium and incubated in a glass tube in horizontal position for 24–48 hours, until cells have grown out. Then colchicine-containing medium is added, and 3 hours later the cell layer is treated with hypotonic solution, fixed with acetoalcohol, left dry, and stained with aceto-orcein. In this way, caryotypes of *Xiphophorus montezumae* and *X. xiphidium* (Poeciliidae) have been established, and numbers as well as morphological features of chromosomes of the following species have been stated: *Hemigrammus erythrozonus* (Characidae), $2n = 48$; *Hyphessobrycon innesi* (Characidae), $2n = 36$; *Idus idus* (Cyprinidae), $2n = 52$. Shape differences of chromosomes between species turned out to be much higher than has been supposed until now.

Herrn Prof. Dr. F. ANDERS, Direktor des Genetischen Instituts, danken wir herzlich für die Arbeitsmöglichkeiten und ständiges förderndes Interesse. Frau KNOLL sind wir für gewissenhafte Hilfe zu großem Dank verpflichtet, desgleichen Fräulein KLINKE und Herrn WEISCHKA für die Bereitstellung der Fische.

S c h r i f t t u m

- ANDERS, F.: Tumour formation in platyfish-swordtail hybrids as a problem of gene regulation. *Experientia* **23** (1967) 1–10.
- CHEN, T.: Comparative caryology of selected deepsea and shallow water teleost fishes. Ph. D. Diss., Biology, Yale Univ. 1966.
- DULBECCO, R., and M. VOGT: Plaque formation and isolation of pure lines with poliomyelitis viruses. *J. exp. Med.* **99** (1954) 167–182.
- FOERSTER, W., and W. LUEKEN: Caryotype analysis of a cyprinodont fish, *Xiphophorus maculatus* (Poeciliidae) 1968 (in Vorber.).
- FREYE, H.-A., and K. ZERNAHLE: Das Chromosomenbild von *Xiphophorus helleri*, *Platypoecilus maculatus* und den Bastarden (Xiphophorini, Pisces). *Biol. Zbl.* **86** (Suppl.) (1967) 267–275.

- Hsu, T. C., and C. M. POMERAT: Mammalian chromosomes in vitro II. A method for spreading the chromosomes of cells in tissue culture. *J. Hered.* **44** (1953) 23—29.
- KALLMAN, K. D., and J. W. ATZ: Gene and chromosome homology in fishes of the genus *Xiphophorus*. *Zoologica* **51** (1966) 107—141.
- KARBE, L.: Die Chromosomenverhältnisse bei den Coregonen des Bodensees und einiger weiterer voralpiner Seen, ein Beitrag zum Problem der Speziation in der Gattung *Coregonus*. *Z. zool. Syst. Evolut.-Forsch.* **2** (1964) 18—40.
- KAUR, D., and M. D. L. SRIVASTAVA: The structure and behaviour of chromosomes in five fresh-water teleosts. *Caryologia* **18** (1965) 181—191.
- KOBAYASHI, H.: A chromosome study in inter-family hybrids between the funa and the loach. *Nucleus* **8** (1965) 1—6.
- LIEDER, U.: Chromosomenstudien an Knochenfischen. II. Über die Chromosomenzahl und -morphologie der Plötze (*Leuciscus rutilus* L.) und einiger ihrer Bastarde mit anderen Cypriniden. *Z. Fischerei u. Hilfswiss. N. F.* **3** (1954) 375—382.
- Über den gegenwärtigen Stand und die Methodik der Chromosomenuntersuchungen bei Fischen. *Z. Fischerei u. Hilfswiss. N. F.* **11** (1963) 673—684.
- McPHAIL, J. D., and R. L. JONES: A simple technique for obtaining chromosomes from teleost fishes. *J. Fish. Res. Bd. Canada* **23** (1966) 767—769.
- MURAMOTO, J., S. OHNO and N. B. ATKIN: On the diploid state of the fish order Ostariophysi. *Chromosoma (Berl.)* **24** (1968) 59—66.
- NAYYAR, R. P.: Karyotype studies in thirteen species of fishes (Cyprinidae). *Genetica* **37** (1966) 78—92.
- NOGUSA, S.: A comparative study of the chromosomes in fishes with particular considerations on taxonomy and evolution. *Mem. Hyogo Univers. of Agricult.* **3** (Biol. Ser. 3), No. 1 (1960) 68 S.
- OHNO, S., and N. B. ATKIN: Comparative DNA values and chromosome complements of eight species of fishes. *Chromosoma (Berl.)* **18** (1966) 455—466.
- , J. MURAMOTO, L. CHRISTIAN and B. ATKIN: Diploid-tetraploid relationship among old-world members of the fish family Cyprinidae. *Chromosoma* **23** (1967) 1—9.
- PFFIZNER, I., und L. GRÜTZNER: In vitro-Züchtung des Gonaden- und Schwimmblasengewebes von *Tinca vulgaris* Cuv. (Schleie) in trypsinierten Einschichtgewebekulturen. *Zbl. f. Baktkde., I. Orig.* **191** (1964) 474—485.
- POST, A.: Vergleichende Untersuchungen der Chromosomenzahlen bei Süßwasser-Teleostern. *Z. Zool. Syst. u. Evolut.-Forsch.* **3** (1965) 47—93.
- ROBERTS, F. L.: A chromosome study of twenty species of Centrarchidae. *J. Morph.* **115** (1964) 401—418.
- ROTHFELS, K. H., and L. SIMENOVITCH: An air-drying technique for flattening chromosomes in mammalian cells grown in vitro. *Stain Technology* **33** (1958) 73—77.
- SCHIEEL, J. J.: Taxonomic studies of African and Asian tooth-carps (Rivulinae) based on chromosome numbers, haemoglobin patterns, some morphological traits and crossing experiments. *Vidensk. Medd. Dansk. Naturh. Foren.* **129** (1966) 123—148.
- STERBA, G.: Süßwasserfische aus aller Welt. Berchtesgaden: Zimmer und Herzog (1959) 638 S., 1193 Abb.
- ZANANDREA, G., ed E. CAPANA: Contributo alla carilogia del genere *Lampetra*. *Boll. Zool.* **31** (1964) 669—676.

Zur Biologie des *lidae*), unter bes

Die Familie der
schmetterlinge. Der I
Nordeuropa nur vorü
Jahr aus wärmeren
das ganze Jahr hindu
Beispiel des Kleinen
1968). Die vorliegen
pfaueauges (*Inachis*
ausgesetzter markiert

Auf dem Wande
achtet worden. Es üf
phalide zu den mitte
muß dabei jedoch bec
2. die Wanderwege
wandernde Tagpfaue
gegnert, wo sie nicht v

Finnische Enton
Tagpfaueauges Aufu
land regelmäßig wan
merhalbjahr durch Zi
nenter Stamm hält, v
migration schildert P
Halbinsel Hankonien
16.30 Uhr fortlaufen
sten Tage des Monat
Wind wehte aus we

¹ Herrn Prof. Dr. C

² Dr. Hubert Roer
53 Bonn, Adenaurallee