

## 酢酸カーミン法による細胞学の研究史

湯 浅 明\*

細胞学、特に植物細胞学の発展は1900年前後からであり、水を媒体とした顕微鏡による生体観察は、しだいに固定染色法によるものと代り、二次の世界戦争をへて、新しい技術と方法による観察法が用いられるようになった。特に生体についての観察が再び盛んになる一方、固定染色法によるものも、染色体の band 観察のように、全く新しい染色法も考案された。

このような光学顕微鏡による観察が進められている間に、電子顕微鏡の使用が盛んになり、生物体の微細構造の研究が分子レベルに接近しつつ進められた。

この間を通じて1880年頃から採用された酢酸カーミン液による固定染色法は、固定と染色を同時に、しかも急速に行い、染色質を濃厚に染め、さらに、生体を余り損なわずに染めだすなどの利点と、その方法や技術が簡単であることのために、しだいに改良を加えられつつ、ある時はパラフィン法を凌駕しつつ、またあるときは補助的方法として盛んに利用され、Belling (1921) や Taylor (1931) の改良その他によって新しい進路を開発した。

二次の世界戦争中、戦争に関係ある諸国では、器具、試薬、薬品の欠亡や不十分さのために、簡単な酢酸カーミン法が専ら用いられる傾向であった。

酢酸カーミン液 (aceto-carmine solution) は、45% 酢酸を煮沸し、これにカーミン (carmine) の粉末を飽和するまで溶かし、冷却してから濾したもので、染色体数の算定や染色体のラセン構造の観察には、なくてはならないものである。鉄イオンが少し入ると、さらに暗紅色に染色質を濃染する便利さがある一方、染色質以外のミトコンドリアや色素体などを淡染する便利さもある。

多く植物細胞の染色に用いられたが、動物細胞にも利用でき、たとえば唾腺染色体の観察や、カエルのおたまじゃくしの尾の細胞の観察などにはすぐれた効果をあげている。動物細胞の場合には、カーミンの代りにオルセイン (orcein) が用いられ、aceto-orcein solution としてつかわれることが多いが、逆にこの方法が植物にも利用されている。

カーミンの代りにメチル緑 (methyl green) を用い、酢酸メチル緑溶液として用いられることもあるが、染色質の染色が淡く、対照も不十分なので、あまりつかわれない。

カーミンを初めて用いたのは Schneider (1880) で、45% 酢酸 100cc 中に 1/2g 以下のカーミンを入れたものを動物の核の染色に用いたのがはじめてである。1897年に石川 (千代松) もネギの染色体研究になすりつけ法で酢酸カーミン液や、酢酸メチル緑液を用い、染色体はよく染るが、細胞や染色体をふくらませ、永久的でないとしている。

しかし、その簡便にして効果のよいことから、酢酸カーミン法が、しだいに観察法の中に浸透していった。1921年に Belling が酢酸カーミン液に鉄イオンの痕跡を加えることに

\* 一般教育教授 生物学

よって、染色質の固定染色にきわめて好結果をえてから、これを利用する研究者が多くなった。

Belling (1921) は Schneider の方法に鉄イオンを加えるのに、材料を鉄の針などでスライド・ガラスになすりつけるか、水酸化鉄 (ferric hydrate) 水溶液の 2～3 滴を 45% 酢酸カーミン液に加えて、溶液の色が暗色になったものを用いた。

染色体を見るために花粉母細胞を用いる時は、材料をスライド・ガラスになすりつける方法 (smear method) か、スライド・ガラス上に落した 1 滴の酢酸カーミン液中で材料をおしつぶす、おしつぶし法 (squash method) がつかわれる。

Belling 法は Heitz (1926), Taylor (1931), Newton (1927) などによって改良が加えられ、変法を生じた。

Heitz 法は、材料 (葯など) を Carnoy 液 (無水アルコール 2 または 3 + 氷酢酸 1) で固定し、スライド・ガラス上において酢酸カーミン液をかけ、カバー・ガラスをかけて押しつける。マイクロ・バーナーの上で手早く煮沸する。染色体は濃赤色に、細胞質は染らない。Heitz の煮沸法 (Zupf-Koch-Methode) ともいう。

Taylor 法は、材料をスライド・ガラスになすりつけ、これに酢酸カーミン液ではなく、固定液 (Taylor 液) をかけて、固定し、Heidenhain の鉄明礬ヘマトキシリンで染色するもので、なすりつけ法が酢酸カーミン液以外の場合にも有効であることを示した。

Newton (1927) は、なすりつけ法による材料を La Cour 液その他で固定し、1% ゲンチアナ紫水溶液で染色し、ヨード沃化カリ液で処理してから無水アルコールに入れ、クロール油で染分けを充分にし、キシロールを通してから、カナダ・バルサムに封することを示し、なすりつけた材料をゲンチアナ紫水溶液で染色した後に、永久プレパラートとしうることを明示した。この考えによって、酢酸カーミン液で染色した材料がスライド・ガラスについたまま、あるいはカバー・ガラスについたまま 10% 酢酸に入れ、80% アルコールから無水アルコールを通してシダー油に入れ、カナダ・バルサムに封じて永久プレパラートとする方法が考案された。

1933年に Painter や Heitz・Bauer によって唾腺染色体の意義が明確にされて、その固定染色剤として酢酸カーミン液がクローズ・アップされたが、同時に、酢酸オルセイン液が称揚された。従来、この液は動物細胞学に用いられ、核や染色体の染色にしばしば用いられ、染色体を濃紫色に染める。

酢酸オルセイン液が酢酸カーミン液と同様に、植物の核や染色体染色に利用できることは、La Cour (1941) によって提唱され、篠遠 (喜人) (1946) は、このことを日本に紹介し、逆に酢酸カーミン液が動物細胞学に利用しうることは、1947年に牧野 (佐二郎) が提唱した。

カーミンは、コチニール (cochineal) から精製したものであるが、コチニールはカイガラムシの 1 種黴脂虫 (*Coccus cacti coccinillifera*) の体を乾燥して粉にしたものであり、赤色の色素粉末である。オルセインは地衣類の 1 種 *Lecanora parella* から抽出した色素で弱酸性の紫色の色素粉である。

1665年 (寛文 5年) Robert Hooke が "Micrographia" 中に発表した細胞観察の記録は、観察媒体として水を用い、ペンナイフでコルフの一部をとって見たり、ニワトコ、パルプ、ウィキョウ、ニンジン、ナバナ、シダなどの髄、木炭などを見ている。

桂川甫周が 1802年 (享和 2年) に "顕微鏡用法" を著作しているが、水を媒体として示

し、1811年（文化8年）の栗本瑞見の“千虫譜”，1828年（文政11年）の岩崎瀧園の“本草図譜”の中にも顕微鏡による自己の観察があり、その媒体として水を用いている。

宇田川榕菴は1833年（天保4年）に“植学啓原”を著わして、その中に“細胞”という言葉をはじめて記しているが、やはり顕微鏡を用いて観察し、媒体に水をつかっている。

1824年（文政7年）に Dutrochet は“Recherches anatomique et physiologiques sur la structure inteme des animaux et des végétaux et sur leur motilité”を著述して、細胞説に先じて、生物の構成単位は細胞で、生物体は細胞およびその産物から成ることを示唆し、生長や分化発育を決定する重要な単位は細胞であろうという卓見を発表したが、顕微鏡観察には水を媒体として用いている。

1838年（天保9年）に Schleiden は“Beiträge zur Phytogenesis”を、1839年には Schwann が“Mikroskopische Untersuchungen über die Uebereinstimmung in der Strsketur und dem Wachstum der Tiere und Pflanzen”を発表して、細胞説が成立したが、2人とも研究に水を媒体としている。

1844年（弘化元年）には von Mohl が植物細胞の構造を研究し、マツ、コケ、ニワトコなどの細胞の観察に媒体としてヨード沃化カリを用い、植物の毛の観察に水を、ウラボシの細胞の観察に硫酸を用いている。この観察で細胞中に細胞を生ずるといふ異常な細胞分裂を強張している。1855年（明治18年）には von Mohl が葉緑体の観察を行っているが、この研究にも媒体は水をつかった。

1848年に Hofmeister はムラサキツユクサの花粉母細胞に、はじめて染色体を見ているが、媒体には水を用い、しかも、観察はきわめて精細である。さらに Hofmeister は1849年（嘉永2年）に被子植物の胚形成を研究し、胚嚢中に入った花粉管が花粉管の雄性核を送り出すようすを見ているが、観察の媒体は水である。

1844年（弘化元年）、1846年に Nägeli は細胞は細胞に由来することを述べ、1855年（安政2年）には Virchow が有名な“Omnis cellula e cellula!”を主張したのも、水を媒体とする観察を基礎としている。Virchow はなお、1857年に核分裂について観察している。この翌年1856年（安政3年）に飯沼慾齋は“草本図説”草部20巻を完成しているが、この際の顕微鏡も水を媒体としている。

これらの研究に少しおくれて、1880年（明治13年）に Baranetzky が水でムラサキツユクサの花粉母細胞の染色体に、はじめて染色体のラセン構造を見ているのは興味あることである。

### 酢酸カーミン法の導入

水を媒体とする生体観察から、材料を固定して染色する方法が1900年代の後期におこなわれるようになり、それと同時に材料をうすい切片とする方法が論じられた。

固定染色しながら切片としない方法の一つとして酢酸カーミン液が考えられ、1800年代の終り頃から利用されたが、まだ充分な発展をしない中に、固定してから切片として染色する、いわゆるパラフィン法（paraffin method）すなわち永久プレパラート法（permanent preparation method）が急速に発展し、切片をつくるための器械が考案された。

1870年（明治3年）ごろに Minot がいわゆる Minot 式マイクロームを考案して、この要望に答えた。Zimmermann がこれを製作し、この頃から切片をつくるためにマイクローム（microtome）という器械が出現した。1882年（明治15年）に Flemming が、Fle-

mming 固定液を考案し、“Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung”を著述して、“Omnis nucleus e nucleo!”と唱えたのも、固定に Flemming 液を用い、切片とするのにマイクロトームを使用した結果であった。

マイクロトームの出現によって、固定染色による研究法が著しく進捗し、各種の固定液が考案されて、染色法も研究された。

マイクロトームがはじめて日本の植物学教室に伝えられたのは、1888年(明治21年)のことで松村(任三)がドイツ留学から持帰ったものである。松村は分類学、形態学の学生実験にマイクロトームを使用し、植物学教室に出入する学生に、その使用法を指導し、そのためにマイクロトームが研究に盛んにおこなわれるようになった。

したがって1880年頃にはマイクロトームを用いた幾多の研究が欧米でおこなわれたが、その中で Strasburger (1888年)がアオミドロ、その他を1%クロム酸、Flemming クロム・オスミューム固定液、1%ソーダ液などで固定し、マイクロトームを用いずに染色したり、水やグリセリンを媒体として観察したりして、“Histologische Beiträge I. Ueber Kern und Zellteilung im Pflanzenreich, nebst einem Anhang über Befruchtung”を著わしているのは一偉彩である。

マイクロトームの日本への輸入は、生物学の中でも特に細胞学や組織学の研究を推進し、1896年(明治29年)には平瀬(作五郎)のイチョウ、池野(成一郎)のソテツにおける精子発見の刺激となり、さらに1898年には平瀬、池野によるそれぞれイチョウとソテツの受精現象、精子形成における細胞学的研究となった。また、前述のように1897年(明治30年)には石川がネギの減数分裂研究にマイクロトームをつかった。

石川(1897)の研究は、減数分裂研究の先駆的のものであり、なすりつけ法が主として用いられている。材料をスライド・ガラスになすりつけてから Flemming 強液、弱液、アルコール酢酸液などで固定し、染色にアラウン・カーミン、Grenacher のヘマトキシリンなどを用いた。また、Flemming 液や1%クロム酸液を用い、染色に、メチル緑酢酸、Schneider の酢酸カーミン液なども用いた。酢酸カーミン液が用いられはじめた基礎的研究である。しかも、石川は、メチル緑酢酸液や Schneider の酢酸カーミン法は、最も簡単で、殊に染色体の観察に適するが、細胞や染色体をふくらませる上に永久的でないとして述べている。

これより前、平瀬は1894年(明治26年)にイチョウの花粉管中の中心細胞の分裂に中心体を見ているが、生体で水を媒体として観察し、あるいは Merker 液で固定しただけで、観察している。また、池野(1894年)はホンミドロ(*Zygnema*)の接合を観察しているが、ピクロクロシン液中に一夜入れてから、稀グリセリンで洗う方法を取り、1%クロム酸水溶液で固定後、Delafield のヘマトキシリンで染める方法を用いて成功している。

1898年(明治31年)にイチョウの受精に関する平瀬の論文が東京大学理学部紀要に、ソテツに関する池野の論文が同誌および *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik* に掲載されたが、いずれもマイクロトームを用い、また固定に平瀬は Flemming 液を用い、池野は Flemming 液、Merkel 液、Kaiser 液、昇汞アルコール液などを用い、染色に Delafield ヘマトキシリン、Heidenhain ヘマトキシリン、Rosen の酸フクシンとメチレン青の二重染色法を用いている。

このように、固定染色法にマイクロトームが導入されて、パラフィン法が発展し、1900年前後から以後は、この方法が細胞学の研究の主流をなすようになったが、その補助的研究

法として、酢酸カーミン法がしだいに研究者の間に浸透していった。

1921年に Belling が酢酸カーミン法を改良し、その変法も研究者によって考案され、この使用は二次の世界戦争頃まで続いたが、その他に Flemming, Bouin, Carnoy その他の固定と Heidenhain ヘマトキシリンその他の染色によるパラフィン法がなお盛んにつかわれた。しかし、酢酸カーミン法の便利さのため戦前、戦後にかけて、1930年頃から1950年頃まではつねに使用され、殊に二次の世界戦争の前後は薬品機具の不足から、簡便な方法として酢酸カーミン法が盛んに利用された。

1950年頃からパラフィン法はやや下火となり、新しい機具薬品と新しい技術を用いて生体観察することや、B-, C-, G-band など染色体の band 染色がいちぢるしく進み、新しい方法と技術によって核型などが研究された。

これと平行して電子顕微鏡的研究が進んで、光学顕微鏡による研究を圧倒する形となった。しかし、染色体や細胞構造の一般的観察には光学顕微鏡は欠かせないものであり、染色体数や核型の決定、染色体の行動の追跡には酢酸カーミン法は重要な研究手段として現在もなお、使用しつづけられている。

#### 二次の世界戦争前後まで

日本の細胞学の研究史を見ると、平瀬 (1894: 明治27) のパラフィン法によるイチョウの“牽引球”(今日を中心体)の観察、池野 (1894) のホンミドロの接合研究、平瀬 (1896) のイチョウの精子発見、池野 (1896) のソテツの精子発見、石川 (1897) のネギの減数分裂、平瀬 (1898) のイチョウの受精、池野 (1898) のソテツの受精、藤井 (1899) のイチョウの精子観察、三宅 (驥一) (1899) のマキノゴケ (*Makino*) の精子観察、岡村 (金太郎) (1899) のヒビミドロ属 (*Ulothrix*) の生殖法、池田 (伴親) (1901) のホトトギス (*Tricyrtis*) の重複受精、池野 (1901) の *Taphrina* (子囊菌類) の孢子形成の細胞学的研究、石川 (1901) のカラマツ (*Larix*) の減数分裂、三宅 (1901) の *Pythium* (卵菌類) の受精、山内 (繁雄) (1901) のテッポウユリ (*Lilium*) の減数分裂など研究が初期の、基礎的なものとして非常な勢いで進展していった。

これらの研究には、生体の固定染色した材料、固定染色によるパラフィン法が主としてつかわれていた。欧米における研究も、その方法は、これと類似したものであった。

1926年に藤井は細胞学の進歩と研究方法を述べて、その中に Belling (1921) の酢酸カーミン法、Heitz (1926) のなすりつけ法などを紹介しており、欧米では、これに先立って、すでにこれらの方法がつかわれていた。

1927年に坂村 (徹) はムラサキツユクサ (*Tradescantia*)、エンレイソウ (*Trillium*) その他の花粉母細胞を煮沸湯で固定して、染色体のラセン構造を見たが、このようなラセン構造はすでに、それ以前に酢酸カーミン法その他によって、Baranetzky (1880), Janssens (1901), Bonnevie (1908, 1911), Vejdovsky (1911~1912) などによって見られていたものである。

つづいて、Kaufmann (1926) は *Tradescantia pilosa* の染色体構造、さらに *Podophyllum peltatum* の染色体構造を酢酸カーミン法で観察し、Newton (1924, 1927), 桑田・杉本 (唯三) (1927) も同様な研究をおこなった。

下斗米直昌 (1927) はヤブラン (*Liriope*)、ツルボ (*Scilla*) の減数分裂を、Belling (1928, 1929) はユリ (*Lilium*) やヒアシンズ (*Hyacinthus*) の染色体の構造を、稲荷山 (資生)

(1928) はキボウシ (*Hosta*) の染色体ラセン構造を、片山 (義勇) (1928) はインゲンマメ属 (*Phaseolus*) やネギ属 (*Allium*) の染色体数を、桑田・杉本 (1928) は染色体の染色性を、高木 (フミ) (1928) はテンジクアオイ (*Pelargonium*) の染色体数を、保井 (コノ) (1928) はアサガオ (*Pharbitis*) の染色体を、Sharp (1929) は体細胞染色体の構造を、主として酢酸カーミン法によって研究した。

1931年石井 (友幸) は酢酸カーミン法によって染色体ラセン構造を研究し、Nebel (1932) のムラサキツユクサ、Koshy (1933) のタマネギ (*Allium*)、桑田・中村 (1934) のムラサキツユクサ (*Tradescantia*)、新家 (1934) のアギナシ (*Sagittaria*)、Taylor (1931) の *Gasteria* (ユリ科)、Telezynski (1930) のムラサキツユクサ、Darlington (1931)、芳賀 (恣) (1937) のツクバネソウ (*Paris*)、Huskins (1932)、Straub (1936)、Wilson (1933)、Darlington (1935)、Huskins・Smith (1935) のエンレイソウ (*Trillium*)、桑田 (1938) のムラサキツユクサ、松浦 (一) (1938) のエンレイソウ、Sax (1930)、Sax (1935) のムラサキオモト (*Rhoco*)、Sax・Humphrey (1934) のムラサキツユクサ、Sax・Sax (1935)、Beal (1936) のユリにおける研究などが、いずれも主として酢酸カーミン法によっておこなわれた。

さらに松浦 (1934) はオウバナノエンレイソウの減数分裂の各染色体 ( $n=5$ ) のラセン回転数は一定で、その長さに比例することを Taylor のゲンチアナ紫なすりつけ法、酢酸カーミン法で示した。桑田・中村 (1935) は、ムラサキツユクサ花粉母細胞を、アンモニア蒸気で前処理してから酢酸カーミン液で処理してラセン構造を研究した。片山 (1936) はネギ属の二倍体 ( $2n=16$ ) および四倍体 ( $4n=32$ ) の染色体を酢酸カーミン法で研究した。

山本 (幸雄) (1936) はコムギの半数性 ( $n=21$ ) と2倍性 ( $2n=42$ ) の双子生植物の染色体を La Cour, Carnoy-Flemming で固定、Newton のゲンチアナ紫で染めるパラフィン法および酢酸カーミンなすりつけ法で細胞学的研究おこなった。

松浦 (1937) はエンレイソウの染色体研究を固定染色・パラフィン法と酢酸カーミンなすりつけ法でおこない、1940年には、水で前処理してから酢酸カーミン法で研究した。

二次の世界戦争中に出た論文およびその直後に出たもので、研究に酢酸カーミン法をつかったものは多いが、Broothroyd (1940) のエンレイソウの染色体のはめこみ、Sparrow・Wilson (1940) のエンレイソウの染色体ラセン、芳賀 (1944) のツクバネソウのキアズマ形式、松浦 (1944) のエンレイソウの染色体はめこみ、その他があり、戦争直後から論文数はしだい増していった。

篠遠 (1946) のオルセインと酢酸オルセイン法の紹介、湯浅 (1946, 1947, 1949, 1951) の染色体ラセン構造説の展望、松浦 (1946) の動原体の役わり、松浦・倉林 (1946) の基質とラセン系との関係、Lowe (1946) のトウモロコシの根端の酢酸カーミンなすりつけ法、Cutter (1946) の子囊菌類の染色体なすりつけ観察法、岩田 (二郎) (1949) の *Alstroemeria* (スイセン科) の染色体構造、原田 (市太郎) (1949) のタコノキ属 (*Pandanus*)、ミクリ属 (*Sparganium*)、ガマ属 (*Typha*) の染色体、栗田 (1949) のトウゴマ (*Ricinus*) の染色体二次接合などの研究がある。

辰野 (誠次) (1951) は苔類の染色体を Carnoy (2:1) 固定、酢酸カーミン法で染色し、ツルチョウチンゴケ (*Mnium Maximowiczii*) は ♀  $n=7=V(H)+3V+J+l+m$  (h), ♂  $n=7=V(H)+3V+J+l+m$  (h), コツボチョウチンゴチ (*Mnium trichomanes*) では  $n=7=V(H)+3V+J+l+m$  (h) であることを決定した。田中 (信徳)・篠遠

(1951) のムラサキツユクサの核分裂へのカフェインの影響, 竹中 (要) (1951) のタバコ属 (*Nicotiana*) の細胞遺伝学, 中島 (吾一) (1951) のコムギ属 (*Triticum*) とライムギ属 (*Secale*) の雑種  $F_1$  の細胞遺伝学, 瀧沢 (仙次) (1951) の禾本科植物の多価染色体, Goldie・Felix (1951) の液状腫瘍, 牧野 (佐二郎)・加納 (恭子) (1951) の腹水がん, 田中・加納 (1952) の吉田肉腫, 大浦 (五郎兵衛) (1952) の減数分裂などの研究に酢酸カーミン液がつかわれた。

#### 新観察法の採用と酢酸カーミン法

二次の世界戦争後37年を経て, 現在の細胞学的研究には新技術, 新機具, 新薬剤が用いられるようになり, 新しい観察法が考案されたが, パラフィン法は依然として研究の基礎を成し, また, その補助的手段として酢酸カーミン法がつかわれている。

現在の細胞学的研究, 特に染色体研究にはインドの研究者のものがかなり多く, それらはいずれも Carnoy 液固定 (3 : 1 または 2 : 1 または 6 : 3 : 1), 酢酸カーミン液によるなすりつけ法または押しつぶし法が多く, Mehra・Choda (1978), Sharma・Sharma (1979), Shanthanuerthy・Rangaswamy (1979), Joshi・Singh・Sawhney (1981), Kumar・Paria・Basak (1981), Vij・Chaudhary (1981), Srihari Reddy・Rao (1981), Cherian・Stephan (1981), Arora・Madhusoodanan (1981), Sheriff・Rao (1981), Meshraun・Narkhede・Deshmukk (1981), Srivastav・Raina (1981), Singh・Gapta (1981) など数多くの論文が出ている。

インド以外で酢酸カーミン法または, これに準ずる研究も数多く, 田中・田中 (信徳) (1979), 田中 (1981), Guest (1981), Camacho・Orozco・Pascual (1981), Bowker・Halloran (1981), Cheng・Bassett (1981), Suda・Faden (1981), Beppu・Takimoto (1981), Barlow (1981), Furuta (1981), Gaurila・Sorani・Ahmad・Bercea・Spîrchez・Tăcină (1981) その他がある。たとえば, Furuta (1981) はライムギの染色体構造変異を見ているが, 薬を acetoethanol で固定し, 酢酸カーミンの押しつぶし法を用いた。Beppu・Takimoto (1981) はアオウキクサ (*Lemna paucicostata* Hegelm.) ( $2n=66\sim 84$ ,  $2n=40$ ,  $2n=50$ ) の地理的分布と細胞学的変異を見ているが, 薬を室温で Carnoy 液 (3 : 1) で固定1週間, 硫酸鉄アンモニウム (2%) で1日処理して, 1% 酢酸カーミン液で染色した。

また, Cheng・Bassett (1981) は, インゲンマメ (*Phaseolus vulgaris* L.) の減数分裂における染色体形態を研究しているが, 蕾を Carnoy (6 : 3 : 1) に24時間入れ, 70% アルコール中に保存し, 薬をとり出して, 45% 鉄プロピオン酸カーミンの3滴を加え, 室温で濃度を高め, 45% 鉄プロピオン酸カーミンでスライド上に移し, 押しつぶして観察した。Al-Allaf・Godward (1979) はヒマワリ (*Helianthus annuus* L.) の核型を研究し, 薬を Carnoy 液 (6 : 3 : 1) で固定, 60°C の INHCl で加水分解し, おしつぶし法で Feulgen 染色または酢酸カーミン液で染色した。

カーミンの代りにオルセインを用い, 酢酸オルセイン液として固定染色する方法が, かなり利用されたことはすでに述べたが, 次のような人々の研究がある。

Sampath Kumar (1979), Chennaveeraiah・Hiremath (1979), Madhusoodanan・Arora (1979), Sarbhoy (1978), Gupta・Gupta (1978), Jorapur・Kulkarni (1979), Guest (1981), Tanaka, Noriyuki (1981), Tanaka, N・Tanaka, (Nobunori) (1979),

Suda・Faden (1980), Yonezawa (1981), その他の研究がある。

例えば, Tanaka・Tanaka, (信) (1979) はシライトソウ属 (*Chionographis*) の染色体研究に, 材料を45%酢酸で固定し, INHCl と45%酢酸の2:1混液中で解離し, 酢酸オルセイン液で染色した Sampathkumar(1979)は南インドのヒルガオ科の核学的研究で, 蕾を20°Cの0.002M hydroquinoline で1~2時間前処理してから, Carnoy液(3:1)で固定し, 酢酸カーミン液または酢酸オルセイン液で染色した。

従来, 染色体の数や形, 核型は酢酸カーミン染色によることが多かったが, 新しい染色技術として, 染色体の banding すなわち, C-band, G-band, Q-bandなどを染出する方法が進められ, Stallings・Kieffer (1980), Marechi・Mezzanotte・Ferrucci (1980), Manago・Spina・Becker (1980), Sato (Seiichi) (1981), Yoshida (Toshihide) (1980), Weide・Dev-Rupert (1981), Sato (Seiichi)・Kuroki・Ohta (1979), Bickham (1979), Dowjak・Kawick (1979), Al-Sheikh・Hussain・Elkington (1978), Tambasco・Giannoni・de Azevedo Moreira (1979), Scheres (1972), Yoshida (Toshihide) (1979) その他の研究がある。

## 要 約

酢酸カーミン法は Schneider (1880) に始まり, Belling (1921) の改良後, 細胞学, 特に植物細胞学に盛んに用いられ, 1900年以後のパラフィン法のかげに, つねに利用され, また, その変法もいろいろ考案された。

二次の世界戦争中, およびその前後は, 機具薬品の不足から, 簡便な酢酸カーミン液が盛んにつかわれ, 時にカーミンの代りにオルセインが使われた。

戦後, 新しい機具薬品による新しい染色法が用いられ, パラフィン法はやや衰えた感があるが, その基盤には酢酸カーミン液が依然として, 利用され, 細胞学研究の良き固定染色法としてつかわれている。

## 参考文献

- Agarwal, P. K., Roy, R. P. and Mishra, D. P. 1979: Artificial triploids in *Luffa echinata* Roxb. *Cytologia* 44: 739-743.
- Al-Allaf, S. and Godward, M. B. E. 1979: Karyotype analysis of four varieties of *Helianthus annuus* L. *Cytologia* 44: 319-323.
- Al-Sheikh, Hussain, L. A. and Elkington, T. T. 1978: Giemsa C-band karyotypes of diploid *Allium caeruleum* and their genomic relationship. *ib.* 43: 405-410.
- Arora, O. P. and Madhusoodanan, K. J. 1981: Nature of tetraploidy in *Matricaria*. *ib.* 46: 773-779.
- Arrighi, F. and Hsu, T. C. 1971: Localization of heterochromatin in human chromosomes. *Lancet* 2: 971-972.
- Baranetzky, J. 1880: Die Kernteilung in den Pollenmutterzellen einiger *Tradescantia*. *Bot. Zeitung* 38:241-247, 265-274, 281-290.
- Barlow, B. A. 1981: *Viscum album* in Japan: chromosomal translocations, maintenance of heterozygosity and the evolution of dioecy. *Bot. Mag Tokyo* 94:21-34.
- Barton, D. W. 1950: The pachytene morphology of the tomato chromosomes complements. *Amer. J. Bot.* 37:639-643.
- Beppu, T. and Takimoto, A. 1981: Geographical distribution and cytological variation

- of *Lemna paucicostata* Hegelm. in Japan. Bot. Mag. Tokyo 94: 11-20.
- Bickham, J. W. 1979: Banded karyotypes of 11 species of American bats (genus *Myotis*). Cytologia 44: 789-797.
- Bowker, W, A. and Halloran, G. M. 1981: A method of examining mitosis in the leaf meristem in the Gramineae. ib. 46: 671-674.
- Broothroyd, E. R. 1940: The interlocking of non-homologous bivalents in *Trillium erectum* L. Genetics Society of America, Chechrismas meeting, philadelphia, 1940.
- Beal, J. M. 1936: Double interlocking of bivalent chromosomes in *Lilium elegans*. Bot. Gaz. 14: 379-388.
- Belling, J. 1921: On counting chromosomes in pollen-mother-cells. Amer. Nat. 55.
- 1921: The behavior of homologous chromosomes in a triploid *Canna*, Proc. Nat, Acad. Sci 7: 197-201.
- 1928: Contraction of chromosomes during maturation divisions in *Lilium* and other plants. Univ. Calif. Pub. Bot. 14: 335-343.
- 1929: Notes and internodes of *Hyacinthus*. ib. 14: 372-388.
- Bonnevie, K. 1908: Heterotypische Mitose als Reifungscharacter. Arch Zellf. 2: 201-278.
- 1911. Chromatinreifung in *Allium*. ib. 6: 190-253.
- Camacho, J. P. M., Orozco, J. C. and Pascual, F. 1981. Chromosomal rearrangement and karyotypic evolution in *Dectinae* (Orthoptera: Tettigonoidea). Cytologia 46: 209-215.
- Caspersson, T. Farbar, S. Faley, G. E., Kudynowski, J., Modest, E. J., Simonsson, E., Wagh, U, and Zech, L. 1968: Chemical differentiation along metaphase chromosoms. Exp. Cell Res. 49: 219-222.
- Modest, E. J., Foley, G. E., Wagh, U., and Simonsson, E. 1969: Chemical differentiation with fluorescent alkylating agents in *Vicia Faba* metaphase chromosomes. ib. 58: 128-140.
- and Modest, E. J. 1970: Fluorescent labeling of chromosome DNA : superiority of quinacrine mustard to quinacrine. Science 170: 762.
- Cheng, S. S. and Bossett, M. J, 1981: Chromosome morphology in common bean (*Phaseolus vulgaris*) at the diplotene stage of meiosis. Cytologia 46: 675-684.
- Chennaveeraiah, M. S. and Hiremath, S, R. 1979: Karyotype study of different species of *Hordeum*. ib. 44: 305-314.
- Cherian, T. T. and Stephan, J. 1981: Cytology of tea. ib 46: 767-772.
- Cutter, V. M. 1946: Smear methods for the study of chromosomes in Ascomycetes. Stain Technol. 21: 129-131.
- Darlington, C. D. 1931: Meiosis. Biol. Rev. 6: 221-264.
- 1935: The internal mechanics of the chromosomes I, II and III. Proc. Roy. Soc. London, Ser. B, 118: 33-96.
- and La Cour, L. F. 1960: The Handling of Chromosomes. George Allen and Unwin Ltd.
- Dowjat, K. and Kawick, J, 1979: Karyotypic analysis of two L 1210 Murine Leukemia lines growing in vitro. Cytologia 44: 927-934.
- Dhillon, S. S. 1979: Cytological studies in *Scrophularia*: presence of B-chromosome. ib. 44: 211-214.
- Dutrochet, R. J. H. 1824: Recherches Anatomiques et Bhysiologiques sur la Structure

- Inteme des Animaux et des Vegeteux sur leur Motilite. Paris.
- Flemming, W. 1879: Ueber das Verhalten des Kernes bei der Zelltheilung, etc. Virchow's Arch. 77.
- 1882: Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung. Leipzig.
- Faruqm, S. A., Quraish, H., and Halai, N. 1979: Chromosome number and morphological characteristics of some *Andropogoneae* of Pakistan. Cytologia 44: 585-605.
- Furuta, L. 1981: Chromosome structural variation in *Aegilops ovata* L. Jap. J. Genet. 56: 287-294.
- Gallagher, A., Hewitt, G. and Gibson, D. 1973: Differential Giemsa staining of heterochromatic B-chromosomes in *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb.) (Orthoptera: Acrididae). Chromosome (Berl.) 40: 167-172.
- Gavrila, L., Soran, V., Ahmad, S., Bercea, V., Spirde, C-ta and Tăcină, F. 1981: The genetic organization in Dinoflagellates and Euglenoids. A comparative cytogenetic and cytophotometric study. Cytologia 46: 1-13.
- Godward, M. B.E. 1942: The life cycle of *Stigeoclonium amoenum* Kuetz. New Phyt. 41: 293-301.
- 1948: The iron-alum acetocarmine method for algae. Nature 161: 20.
- Gohil, R. N. and Kaul, A. K. 1978: Structural hybridity in *Allium consanguineum*. Cytologia 43: 217-235.
- Gold, J. R. 1974: A fast and easy method for chromosome karyotyping in adult telosto. Progr. Fish-Cult. 36: 169-171.
- Goldie, H. and Felix, M. D. 1951: Cancer Res. 11: 73-80. (After Tanaka and Kano 1952.)
- Guest, W. C. 1981: The relationship of *Drosophila exoana* to the *virilis* group of species. Cytologia 46: 635-642.
- Gupta, R. and Gupta, P. K. 1978: Karyotypic studies in the genus *Grotalaria* Linn. ib 43: 357-369.
- Haga, T. 1937: Karyotype polymorphism in *Paris hexaphylla* Cham., with special reference to its origin and to the meiotic chromosome behavior. ib.: Fujii Jub. Vol: 681~700.
- 1944: Meiosis in *Paris* I. Mechanism of chiasm formation Jour. Fac. Sci., Hokkaido Imp. Univ., Ser. V, 5 (3) : 121-198.
- Haque, Md. S. and Ghoshal, K. K. 1980: Behavior of meiotic chromosomes with special reference to their relationship in pollen sterility in *Salvia* L. Cytologia 45: 743-752.
- Handa, S. M., Kaur, P., Kaul, S. and Bala, N. 1980: Salivary gland chromosomes map of *Parasarcophaga hirtipes* (Sarcophagadae: Diptera) ib 45: 441-446.
- and ———, 1981: Karyotypes and chromosome morphology in the genus *Salvia* Linn. ib. 45: 627-640.
- Harata, I. 1949: Chromosome numbers in *Pandanus*, *Sparganium* and *Typha*. La Kromosomo 5-6: 221-223.
- Heilborn, O. 1930: Temperatur und Chromosomen-Konjugation. Svensk Bot. Tidskrift 24: 12-25.
- Hossain, M. G. 1978: Effects of external environmental factors and pairing in autotetraploid rye. Cytologia 43:21-34.
- Huskins, C. L. 1932: Factors affecting chromosome structure and pairing. Trans. Roy. Soc. Canada, Sect. 5: 1-12.

- and Smith, S. G. 1935: Meiotic chromosome structure in *Trillium erectum*. Ann. Bot. 49: 119-150.
- Heitz, E. 1926: Nachweis der Chromosomen. Zeit. f. Bot. 18: 625-681.
- und Bauer, H. 1933: Beweise für die Chromosomennatur der Kernschleifen in den Knäuelkernen von *Bibio hortulanus*. Zeits. Zellf. mikr. Anat. 17: 67-82.
- Hirase, S. 1896: On the spermatozoid of *Ginkgo biloba* L. Bot. Mag. (Tokyo) 10; (325)-(328).
- 1898: Étude sur la fécondation et l'embryogénie du *Ginkgo biloba*. Second me-moire. Jour. Fac. Sci., Imp. Univ. Tokyo 12: 103-149.
- Hofmeister, W. 1848: Bot. Zeitung 6: 425-434, 671-674.
- Hooke, R. 1665: Micrographia. London.
- Ikeda, T. 1901: On the double fertilization in *Trycyrtilis hirta* Hook. Bot. Mag. (Tokyo) 15: (207)-(213), (233)-(240).
- Ikeno, S. 1896: The spermatozoid of *Cycas revoluta*. ib. 10: (367)-(368).
- 1898: Untersuchungen über die Entwicklung der Geschlechtsorgane und den Vorgang der Befruchtung bei *Cycas revoluta*. Jour. Coll. Sci., Imp. Univ. Tokyo, 12: 151-214.
- 1901: Studien über die Sporenbildung bei *Taphrina Johansonii* Sad. Flora 88: 229-237.
- 1903: Beiträge zur Kenntnis der pflanzlichen Spermatogenese: Die Spermatogenese von *Marchantia polymorpha*. Biol. Beih. bot. Centralbl. 15: 65-88.
- Inariyama, S. 1928: On the spiral structure of chromosomes in *Hosta Sieboldiana*, Engl. Bot. Mag. (Tokyo) 42: 486-489.
- Ishii, T. 1931: On the structure of chromosome (preliminary note) Jap. J. Gen. 7: 128-139.
- Ishikawa, C. 1897: Studies of reproductive elements III. Die Entwicklung der Pollenkörner von *Allium fistulosum* L. Ein Beitrag der Chromosomen-Reduktion im Pflanzenreiche. Jour. Coll. Sci, Imp. Univ. Tokyo, 10: 193-223.
- 1902: Über die Chromosomen-Reduktion bei *Larix leptolepis* (vorl. Mitteil.) Beih. bot. Zentralbl. 11: 6-7.
- Iwata, J. 1949: Observations of chromosome structure in certain species of *Alstroemeria*. La Kromosomo 5-6: 215-219.
- Janssens, F. 1909: La théorie de la chiasmotypie. La Cellule 25: 389-411.
- Jain, K. K. 1978: Cytology of the polymorphic *Plantago major* Linn. Cytologia 43: 345-349.
- Jean, R. et Linder, R. 1979: *Oenothera sazukiana* species nova. ib 44: 757-780.
- Jolly, M. S., Prasad, S. K. and Senguptra, A. K. 1979: Some cytological observations on interspecific hybrid of *A. pernyi* G. M. and *A. roylei* Mr. (Saturniidae) ib 44: 259-263.
- Johnson, G. A. and Jalal, S. M. 1979: Analysis of physiological chromosome aberrations of native *Agropyron* and *Agropordeum* species. ib 44: 287-294.
- Jorapur, S. M. and Kulkarni, A. L. 1979: Cytotaxonomical studies in five species of the genus *Eria* Lindl. ib. 44:
- Jos, J. S. and Naira, S. G. 1979: Pachytene pairing in relation to pollen fertility in five cultivars of *Cassava*. ib. 44: 813-820.
- Katayama, Y. Y. 1936: Chromosome studies in some alliums. J. Coll. Agr., Tokyo Imp. Univ. 13: 431-441.

- 1938: Progenies of some intergeneric hybrids among *Aegilops*, *Triticum* and *Aegilotriticum*. Jap. J. Bot. 9: 335-351.
- Kato, Y. 1951: Meiotic and mitotic irregularities in some *Poa* species. La Kromosomo 9-10: 342-347.
- Klásteriská, I and Natarajan, A. T. 1975: Distribution of heterochromatin in the chromosomes of *Nigella damascena* and *Vicia faba*. Hereditas 79: 154-156.
- Koduru, P. R. K. and Rao, M. K. 1978: Chromosome pairing and desynapsis in spontaneous autopolyploids of *Pennisetum typhoides*. cytologia 43: 445-452.
- Koul, A. K. and Wafal, B. A. 1980: Chromosome polymorphism and nucleolar organization in some species of *Fritillaria* Linn. Cytologia 45: 675-682.
- Kaufmann, B. P. 1926. Chromosome structure and its relation to the chromosome cycle I. Somatic mitosis in *Tradescantia pilosa*. Amer. J. Bot. 13: 59-80.
- Koshy, T. K. 1933: Chromosome studies in *Allium* I. The somatic chromosomes. J. Royal Micros. 53:
- Kulshreshtha, V. B. and Gupta, P. K. 1979: Cytogenetic studies in the genus *Helianthus* L. Cytologia 44: 325-334.
- Kurita, M. 1949: Secondary pairing of chromosomes in *Ricinus communis* L. ib. 5-6: 225-226.
- Kuwada, Y. 1938: Behavior of chromonemata in mitosis VII. A chromosome study by the artificial uncoiling method of the chromonema spirals. ib. 9: 17-22.
- and Sugimota, T. 1928: On the staining reactions of chromosomes. Protoplasma 3: 531-534.
- and Nakamura, T. 1934: Behavior of chromonemata in mitosis II. Artificial unravelling of coiled chromonemata. ib. 2: 244-247.
- and ——— 1935: Ebenda VI. Metaphase and anaphase longitudinal sprit of chromosomes in the homotype division in pollen mother cells in *Tradescantia reflexa*. ib. 6: 314-319.
- Lakshmi, N. 1980: Cytotaxonomical studies in eight genera of *Amaryllidaceae*. ib. 45: 663-673.
- Larik, A. S. and Thomas, H. 1979: Inheritance of chromosome deficiency and duplication in *Avena sativa* L. ib 44: 835-848.
- Lowe, J. 1946: Root-tip smears for maize. Stain Technol. 21: 27-128.
- La-Cour, L. 1931: Improvements in every day techniques in plant cytology. J. Roy. Micr. Sci. 51: 119-126.
- 1941: Acetic orcein: A new stain fixative for chromosomes. Stain Technol. 16: 169-174.
- Madhusoodanan, K. J. and Arona, O. P. 1979 : Induced tetraploidy in *Matri caria chamomilla* L. Cytologia 44: 227-232.
- Makino, S. 1947: Animal chromosomes and the acetocarmine method. La Kromosomo 3-4: 189.
- 1949: A new aceto-carmine technique to see inner structure of chromosomes. ib 5-6: 265.
- Malik, C. P. and Ohri, D. 1979: Breakdown of the classical meiotic system *Rhoeo spathacea* (*Commelinaceae*). Cytologia 44: 91-102.

- Marchi, A., Mezzanotte, R. and Farrucci, R. 1980: Characterization of the metaphase chromosomes in *Anopheles stephensi* (Liston, 1901) by Q-G-and C-banding. *ib.* 45: 549-553.
- Matsuura, H. 1934: On the number of spiral gyres in chromonemata (A preliminary note) *Jap. Jour. Genet.* 9: 143-149.
- 1937: Chromosome studies on *Trillium Kamtsschaticum* Pall. V. Abnormal meiotic divisions due to high temperature. *Cytologia Fujii Jub. Vol.* :20-34.
- 1938: Ebenda XI. A simple new method for the demonstration of spiral structure in chromosomes. *Cytologia* 9: 243-248.
- 1940: ebenda XII. The mechanism of crossing over. *ib.*:10: 390-405.
- 1946: Ebenda XIII. The role of the Kinetochore on the trivalent formation. *Jour. Fac. Sci., Hokkaido Imp. Univ.* 5, Bot, 6: 19-26.
- and Takizawa, S. 1946: Ebenda XX. A statistical analysis on the chromosome association in a triploid species, *T. hagai* *ib.* 6: 37-55.
- and Kurabayashi, M. 1946: Ebenda XXI. On the relation between the matrix and the chromonema in metaphase chromosomes. *ib.* 6:57-60.
- Mehra, P. N. and Chada, S. P 1978: Cytotaxonomical studies in the genus *Euphorbia* L. *Cytologia* 43: 217-235.
- Meshaam, L. D., Narkhede, M. N. and Deshmukk, N. Y. 1981: Spontaneous multiple translocation in *Capsicum*. *ib.* 46: 75-79.
- Miyake, K. 1899: The largest spermeatozoid among Hepaticae. *Bot. Mag. (Tokyo)* 13: (1)-(3).
- 1899: *Makinoa*, a new genus of Hepaticae. 13: 21-24.
- 1899: *Makinoa*, eine neue Gattung aus Japan. *Hedwigia* 38: 201-203.
- 1901: The fertilization of *Pythium*. *Ann. of Bot.* 15:653-667.
- Mohl, H. von 1844, 1846, *Zeitschr. Wiss. Bot.* 1, 3. 1846: Ueber die Saftbewegung im innern der Zelle. *Bot. Zeit.* 4: 73-78, 89. 94.
- Nägeli, C. von. 1946. On the Utricular Structure in the Contents of Cells. Ray Society, 1849.
- Nakajima, G. 1951: Cytological studies of F plants raised between *Triticum dicocum* (n=14) and *Secale cereale* (n=7). *La Kromosomo* 11: 410-415.
- 1951: Cytological studies of (*Triticum turgidum* x *Secale cereale* F<sub>1</sub>) x *Secale cereale* F<sub>1</sub> plants. *ib.* 11: 416-420.
- Nassar, N. M. and de Aguiar, M. L. R. 1978: Instability of chromosome numbers in *Nothoscordum fragrans* Kunth. *Cytologia* 43: 371-376.
- Nebel, B. R. 1932: Chromosome structure in Tradescantiae II. *Zeits. f. Zellf. u. mikrosk. Anat.* 16:285-304.
- Newton, W. G. F. 1927: Chromosome studies in *Tulipa* and some related genera. *J. Linn. Soc. (Bot)* 47: 339-354.
- Oura, G. 1937 (After Kuwada: Structure of Chromosome 1937)
- 1952: Meiotic irregularities in *Equisetum hiemale* L. var. *japonnicum* Milbe. *La Kromosomo* 12-13: 479-483.
- Painter, T. S. 1933. A new method for the study of chromosome rearrngements and the plotting of chromosome maps. *Science* 78: 585-586.

- 1934: Salivary chromosomes and the attack on the gene. *Jour. of Hered.* 25: 465-576.
- Prasa, B. N. and Kumari, V. 1980: Contribution to the cytology of genus *Rhizoctonium*. *Cytologia* 45: 583-591.
- Raghuvanshi, S. S. and Singh, D. N. 1979: Comparative ploidy response of different varieties of *Impatiens balsamija* L. *ib.* 44: 241-247.
- Rai, N., Saxena, A. (Miss) and Chowdhury, H. J. 1979. Ascus cytology and ascocarp development in *Achaetomiella virescens*. *ib.* 44: 49-57.
- Reddy, L. J. 1981: Pachytene analysis in *Cajanus cajan*, *Atylosia lineata*. *ib.* 46: 397-412.
- Roy, S. C. 1978: Polymorphism in Giemsa banding patterns in *Allium sativum*. *ib.* 43: 97-100.
- Ruiz, I. R. G. and Becak, W. 1976: Further studies on polyploid Amphibians V. C-banding in diploid and tetraploid species of *Odontophrynus*. *ib.* 54: 69-74.
- Sakamura, T. 1927. Fixierung von Chromosomen mit siedenden Wasser. *Bot. Mag. (Tokyo)* 41: 59-64.
- 1927: Chromosomenforschung an frischen Material. *Protoplasma* 1: 537-565.
- Sampathkumar, R. 1979: Karyomorphological studies in some South Indian *Convolvulaceae*. *Cytologia* 41: 275-286.
- Sanjappa, M. and Bhatta, R. P. 1978: Cytology of the genus *Alysicarpus*. *Cytologia* 43: 35-44.
- Sapre, A. B. 1978: Karyotype of *Aloe barbadense* Mill.: a reinvestigation. *ib.* 43: 237-241.
- Sarbhoj, R. K. 1978: Cytogenetical studies in genus *Phaseolus* Linn. I and II. Somatic and meiotic studies in fifteen species of Phaseolus (Part I) *ib.* 43: 161-170.
- Sato, Sei., Kuriki, and Ohta, S. 1979: Two-types of color-differentiated C-banding positive segments in chromosomes of *Nothoscordum fragrans*, *Liliaceae*. *ib.* 44: 715-725.
- Sax, K. 1930: Chromosome structure and the mechanism of crossing over. *Jour. Ann. Arb.* 11: 193-220.
- 1935: Chromosome structure in the meiotic chromosomes of *Rhoeo discolor* Hance *ib.* 16: 216-224.
- 1936: Chromosome coiling in relation to meiosis and crossing over. *Genetics.* 21: 324-338.
- and Humphrey, L. M. 1934: Structure of meiotic chromosomes in microsporogenesis of *Tradescantia* *Bot. Gaz.* 96: 353-361.
- Sax, H. J. and Sax, K. 1935: Chromosome structure and behavior in mitosis and meiosis. *Jour. Arn. Arb.* 16: 423-439.
- Scheres, J. M. K. C. 1972: Human chromosome banding. *Lancet* 1: 849.
- Schneider. A. 1873: Untersuchungen über Plateiminthen. *Jahr. d. Oberhess. Gesells. Natur-Heilkunde*, XIV.
- Schleiden, M. J. 1938: Beiträge zur Phylogenesis. *Arch. Anat. Physiol. Wiss. Med.* 137-176.
- Schmidt. W. J. 1932: Der submikroskopische Bau des Chromatids II. Mitteilung: Ueber die Doppelbrechung der Isosporenkern von Sphaezoen. *Arch. f. Protistk.* 77.
- Schwann, Th. 1839: Mikroskopische Untersuchungen über die Uebereinstimmung in der Struktur und dem Wachstum der Thiere und Pflanzen. Berlin. Prelim. statement: *Froriep's Notizen* No. 91: 103. 112. 1938.

- Seabright, M. 1971: A rapid banding technique for human chromosomes. *Lanect* 2 : 971-972.
- Sen, S. 1978. Interspecific differentiation in karyotype of *Lilium*. *Cytologia* 43: 305-315.
- Shanthamurthy, K. B. and Rangaswamy, V. 1979: Cytological effects of paper miles effluents on somatic cells of *Allium cepa*. *ib.* 44: 921-926.
- Sharma, M. L. and Mehra, P. N. 1979: Chromosome numbers in some East Himalayan *Urticaceae*. *ib.* 44: 799-803.
- , Honda, S. M., Kaur, P. and Chopra, K. 1979: Mapping of the salivary gland chromosomes of *Musca domestica* (Muscidae: Diptera) *ib.* 44: 541-547.
- , and Sharma, K. 1979: Cytological studies in the North Indian grasses *ib.* 44: 861-872.
- Sheriff, A. and Rao, U. G. 1981: Cyto geographical studies on *Scilla indica* in India. *ib.* 46: 69-74.
- Shimotomai, N. 1927: Über Störungen der meiotischen Teilungen durch niedrige Temperature. *Bot. Mag. (Tokyo)* 41: 149-160.
- Shinke, N. 1934: Spiral structure of chromosomes in meiosis in *Sagittaria Aginashi*. *Mem. Coll. Sci, Kyoto Imp. Univ., Ser. B*, 9.
- Singh, A. and Gopal, J. 1979: Higher polyploids in *Trigonella foenumgraecum*. *Cytologia* 44: 661-667.
- Singh, U. and Jain, H. K. 1979: Antimetabolites and chiasma formation in *Delphinium*. *ib.* 44: 123-133.
- Singh, S. and Gupta, P. K. 1981. Desynapsis in *Zinnia haegeana* L. *ib.* 46: 63-67.
- Sinha, S. S. N. and Roy, H. 1979: Cytological studies in the genus *Phaseolus*. I. Mitotic analysis in fourteen species. *ib.* 44:191-199.
- and ————1979. Ebenda II. Meiotic analysis of sixteen species. *ib.* 44: 201-209.
- Sinotô, Y. 1946. Technics in the study on plant chromosomes (I). *La Kromosomo* 1: 51.
- Snow, R. 1963: Alcoholic hydrochloric acid-carmin as a stain for chromosomes in squash preparations. *Stain Technol.* 38: 9-13.
- Sparrow, A. H. and Wilson, G. B. 1940: Relational coiling in the chromosome spiralization cycle of *Trillium erectum* L. and *T. grandiflorum* Salisb. *Genetica Society of America, Ghrismas Meeting, Philadelphia, 1940.*
- Sreedevi, P. and Namboodiri, A. N. 1979: Cytology of normal and seasonally aberrant microsporogenesis in *Asclepias* and *Dregea* (*Asclepiadaceae*). *ib.* 44: 377-384.
- Srivastav, P. K. and Raina, S. N. 1981: Cytogenetics of *Tephrosia* I On the differential chromososome Pairing in cochiploid stock of *Tephrosia wallichii*. *ib.* 46: 89-97.
- Stallings, R. L. and Kieffer, N.M. 1980: Chromosome chracterizations in a restricted population of *Geomysbursarius* (Rodentia: Geomydae) *ib.* 45: 545-548.
- Stock, A. D., Arright, F. E. and Stefos, K. 1974 : Chromosome homology in birds : banding patterns of the chromosomes of the domestic chicken, ring-necked dove and domestic pigeon. *Cytogen. Cell Genet.* 13: 410-418.
- Strasburger, E. 1888: Ueber Kern- und Zellteilung im Pflanzenreich nebst einem Anhang über Befruchtung: *Hist. Beitr.* I.
- Suda, Y. and Faden, R. B. 1980: The karyotype of *Streptolirion volubile* Edgeworth (*Commeliaceae*) from Japan. *Bot. Mag. Tokyo* 93: 355-359.

- Summer, A. T. 1972: A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell Res.* **75**: 304-306.
- Swaminathan, M. S., Magoon, M. L. and Mehra, K. L. 1954. A simple propionocarmine PMC smear method for plants with small chromosomes. *Indian J. Genet.* **14**: 87-88.
- Straub, J. 1936: Untersuchungen zu Physiologie der Meiosis II. *Zeits. f. Bot.* **30**: 1-57.
- 
- Takagi, F. 1928: On the chromosome numbers of *Pelargonium*. *Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ.*, 4 Ser Biol., **3**: 665-671.
- Takenaka, Y. 1951. Cytogenetic studies of *Nicotiana* I. *La Kromosomo* **9-10**: 384-392.
- Tambasco, A. J., Giannoni, M. A. and de Azevedo Moreira, L. M. 1979: Analysis of G-band in chromosomes of the *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lepageletier (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae) *Cytologia* **44**: 21-27.
- Tanaka, N. 1981: Studies on chromosome arrangement in some higher plants II. The determining factor of the distribution of centromeric regions in the nucleus. *ib.* **46**: 531-544.
- 1981: Studies on chromosome arrangement in some higher plants I. Interphase chromosomes in three *Liliaceous* plants. *ib.* **46**: 343-357.
- and Tanaka, N. 1979: Chromosome studies in *Chionographis (Liliaceae)* III. The mode of meiosis. *ib.* **45**: 809-817.
- Tanaka, N. and Sinotô, Y. 1951: Effects of caffeine on mitotic cells of *Tradescantia paludosa*. *La Kromosomo* **9-10**: 370-378.
- Takizawa, S. 1951: Multivalent chromosome association and aneuploidy in forage grasses. *La Kromosomo* **12-13**: 446-453.
- Tanaka, T. and Kano, K. 1952: Some stain fixatives for the cytological study of ascites tumors. *ib.* **12-13**: 494-495.
- Tatuno, S. 1951: Über die Chromosomen der Laubmoose, mit besonderer Rücksicht auf ihrer Hetero-chromosomen I. *ib.* **8**: 305-310.
- Telezinsky, H. 1930: Le cycle du chromosome somatique I. Observations vitales sur les poils staminaux de *Tradescantia virginiana*. *Acta Soc. Bot. Polon.* **7**.
- Taylor, W. R. 1931. Chromosome studies on *Gasteria*, III. Chromosome structure during microsporogenesis and the postmeiotic mitosis. *Amer. J. Bot.* **18**: 367-386.
- Tjio, H. and Levan, A. 1950: The use of oxyquinoline in chromosome analysis. *Ann. Estac. Exp. Aula Dei*, **2**: 21-64.
- Vejdowský, F. 1912: Zum Problem der Vererbungsträger. *Prag*.
- Vazquez, A. M., Martinez, C. and Lacadena, J. R. 1980: Sequential analysis of meiotic prophase in grasshoppers. *Cytologia* **45**: 641-649.
- De La Vega, P. and Lacadena, J. R. 1979: Cyto-histological studies on anther and pollen development in Alloplasmic rye. *ib.* **44**: 295-304.
- Vij, S. P. and Chaudhary, J. D. 1981: Cytological investigation in three species of *Cenchrus* L (Gramineae). *ib.* **46**: 661-669.
- Virchow, R. 1855: Cellular-Pathologie. *Path. Anart. Phys.* **8**.
- Weide, L. G. Dev, V. G. and Rupert, C. S. 1981: Nucleolus organizer regions in diploid and heteroploid Chinese hamster cell lines. *Cytologia* **46**: 809-816.
- Wilson, E. B. 1933: Metaphase patterns. *Jour. Morph.* **56**: 357-389.
- Yamamoto, Y. 1936: Ein haplo-diploides Zwillingspaar bei *Triticum vulgare*. VIII.

- Yamanouchi, S. 1901: Einige Beobachtungen über die Centrosomen in den Pollenmutterzellen von *Lilium longiflorum* (vorl. Mitteil.) Beih. bot. Centaribl. 10: 301-304.
- Yasui, K. 1928: Studies on *Pharbitis Nil* Chois. II. Chromosome number. Bot. Mag. (Tokyo) 42: 480-485.
- Yonezawa, Y. 1981: Cytological and cytogenetic studies on the transposition of centromere and the karyotype differentiation in *Haplopappus gracilis* I. A new-shaped chromosome. Cytologia 46: 431-441.
- 1981: Ebenda II. Genetic behavior of the new-shaped chromosome. ib. 46: 443-449.
- Yoshida, T. H. 1979: Genetic aspects of polymorphic C-bands in the chromosomes of black rat (*Rattus rattus tanexumi*) ib 44: 265-274.
- 1980: Karyotype of the Indian spring mouse resulted from tandem fusion of the house mouse chromosomes. ib. 45: 753-762.
- Yuasa, A, 1946: Critical review on the spiral structure of the chromosome (1) La Kromosomo 2: 98-103.
- 1947: Ebenda (2). ib. 3-4: 163-175.
- 1949: Ebenda (3). ib. 5-6: 235-248.
- 1950: Studies on the structure of salivary gland chromosomes I. Spiral structure of salivary gland chromosomes in *Chironomus*, especially of chromosome IV. Oguma Comm. Vol. on Cyt. and Gen. 1950. pp. 63-70.
- 1951: Ebenda (4). ib. 11: 439-440.
- 1952: The effect of K-ions on the structure of the chromosomes. Cytologia 17: 329-335.
- 1953: Ditto III. The spiral structure of the salivary chromosomes in *Chironomus* with special reference to the development. Jap. Jour. Gen. 28: 195-204.