

kannte *d*-1-Dehydro-cortison (VI)<sup>11</sup>. Razemisches, total-synthetisches Östron (VII)<sup>12</sup> konnte nach einer vor längerer Zeit veröffentlichten Reduktionsmethode<sup>13</sup> mittels Presshefe in *d*-Östradiol-(17 $\beta$ ) (VIII) und *l*-Östron übergeführt werden.

Die genannten experimentellen Ergebnisse sind auch in theoretischer Hinsicht interessant. Seit den klassischen Arbeiten von PASTEUR war es zwar bekannt, dass Enzyme aus Mikroorganismen in stereospezifischer Weise auf razemische Substrate einwirken können, indem die beiden optischen Antipoden oft verschieden rasch umgesetzt werden<sup>14</sup>. Diese Umsetzungen stellten aber meist, wenn sie nicht einfache Hydrolysen oder Decarboxylierungen betrafen, einen völligen Abbau selektiv des einen Antipoden im mikrobiologischen Metabolismus dar. Dabei ging im allgemeinen gerade der erwünschte natürliche Antipode verloren, während der unnatürliche intakt blieb. Ausserdem musste der eine Antipode vollständig angegriffen werden, damit der andere in optisch reiner Form anfiel. Aus allen diesen Gründen fand die enzymatische Auftrennung von Razematen nur ausnahmsweise praktische Anwendung und ist bisher bei totalsynthetischen *d,l*-Steroiden nicht verwendet worden.

Der grosse Vorteil der neuen Methode zur mikrobiologischen Spaltung von razemischen Steroiden besteht nun darin, dass der natürliche *d*-Antipode nicht abgebaut, sondern zu einem an sich erwünschten Reaktionsprodukt umgewandelt wird<sup>15</sup>. Letzteres lässt sich im allgemeinen wegen seiner veränderten Polarität sehr leicht von der nicht umgesetzten *l*-Form des Ausgangsmaterials trennen. Selbst in den Fällen, wo keine völlige Umsetzung der *d*-Form erzielt wird, fällt diese als optisch reines Umwandlungsprodukt an. Nun sind aber heute schon einige mikrobiologische Reaktionen an Steroiden bekannt (vgl. <sup>15</sup>), die praktisch quantitative Umsetzungen in der *d*-Reihe ergeben. Damit lassen sich bei der neuen Razematspaltungsmethode nahezu theoretische Ausbeuten erzielen und können auch die *l*-Antipoden der Ausgangsstoffe in optisch reiner Form erhalten werden.

Bei der Totalsynthese von Steroiden kann mit dieser Methode die oft mühsame und verlustreiche chemische Razematspaltung umgangen werden. An ihre Stelle tritt zum Beispiel eine mikrobiologische Hydroxylierung, Dehydrierung oder Hydrierung geeigneter Zwischenprodukte, wobei neben der für die betreffende Synthese erwünschten Umwandlung Razematspaltung erzielt wird.

Experimentelle Einzelheiten dieser Untersuchung werden in *Helvetica chimica Acta* veröffentlicht.

Die in dieser Arbeit erwähnten Pilzstämme wurden uns von den Herren Prof. E. GAUMANN und Dr. L. ETLINGER, ETH, Zürich, zur Verfügung gestellt, wofür wir auch an dieser Stelle verbindlichst danken möchten. Herrn Dr. E. GANZ, Physikalische Laboratorien der CIBA sind wir für die Aufnahme der IR.-Spektren zu Dank verpflichtet.

E. VISCHER, J. SCHMIDLIN und A. WETTSTEIN

<sup>11</sup> H. L. HERZOG und Mitarbeiter, *Science* 121, 176 (1955). – E. VISCHER, CH. MEYSTRE und A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* 38, 835 (1955). – A. NOBILE und Mitarbeiter, *J. Amer. chem. Soc.* 77, 4184 (1955). – Vgl. auch Note <sup>9</sup>, S. 50.

<sup>12</sup> G. ANNER und K. MIESCHER, *Exper.* 4, 25 (1948); *Helv. chim. Acta* 31, 2173 (1948).

<sup>13</sup> A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* 22, 250 (1939).

<sup>14</sup> Vgl. H. BROCKMANN in K. FREUDENBERG, *Stereochemie* (J. Deudicke, Leipzig und Wien 1933). – V. P. WHITTAKER in W. KLYNE, *Progress in Stereochemistry* (Butterworth, London 1954).

<sup>15</sup> Die Reaktionsmechanismen der mikrobiologischen Umwandlung von Steroiden wurden kürzlich an dieser Stelle in Analogie zur heutigen Auffassung der enzymatischen Reaktionen diskutiert: A. WETTSTEIN, *Exper.* 11, 465 (1955).

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft Basel, Pharmazeutische Abteilung, den 13. September 1955.

### Summary

A racemic intermediate in the total synthesis of *d,l*-aldosterone, the *d,l*-20-oxo-pregnene derivative I, was converted by incubation with a mold hydroxylating in the 21-position into the *d*-20-oxo-21-hydroxy-pregnene derivative II, whereas the *l*-antipode of the starting material remained unchanged. This stereospecific microbiological reaction, comprising a separation of racemic modifications, represents the last remaining step in the synthesis of natural *d*-aldosterone.

Other microbiological conversions of racemic steroids, dehydrogenation and hydrogenation, were also shown to proceed only with the *d*-enantiomer, leaving the *l*-form of the *d,l*-substrate intact.

The advantages of this new microbiological method for the resolution of racemic modifications during the total synthesis of steroids are discussed.

### Extreme Chromosomal Polymorphism in a Coccinellid Beetle<sup>1</sup>

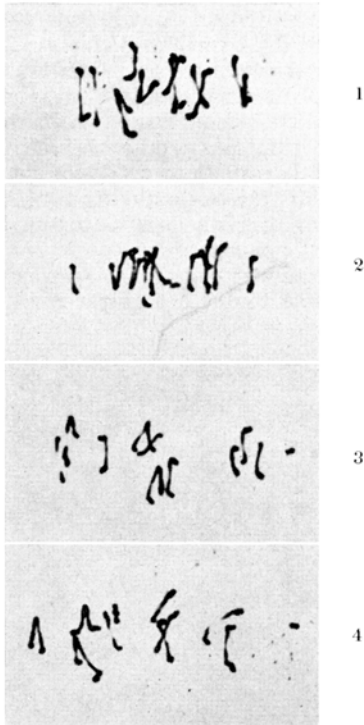
*Chilocorus stigma* Say, a North American predator of scale insects (probably *Chionaspis lintneri* Comst. in this instance), is a species not previously reported in the cytological literature. A single adult male, collected June 19, 1955, from the north shore of Lake Michigan, some 70 miles to the south of Sault Ste. Marie, Ontario, proved to be heterozygous for a "centric fusion" (WHITE<sup>2</sup>): it has  $2n = 26$  chromosomes – 11 bivalents, 1 trivalent, and a single *X* chromosome at the first meiotic metaphase. Further material was unavailable until 2 males were obtained on August 24, 1955, from near the Agawa River, about 100 miles north of Sault Ste. Marie. 1 has  $2n = 25$  chromosomes – 9 bivalents, 2 trivalents, and the *X* chromosome (Figs. 1 and 2), the other  $2n = 24$  – 7 bivalents, 3 trivalents, and the *X* (Figs. 3 and 4). Specimens collected since have all proved to be too old for cytological purposes.

It will be seen from the illustrations of the 24-chromosome male that the 3 trivalents are individually recognizable. If these are labelled *A*, *B*, and *C* from left to right in Figure 4, it is evident that trivalents *A* and *B* occur also in the one with 25 chromosomes. The *A* trivalent alone is present in the Lake Michigan male. It will also be noted that at least 2 of the bivalents accompanying the 3 trivalents are heteromorphic, their unassociated arms being of different sizes. Thus *C. stigma* comprises potentially  $3^5 (= 243)$  chromosomally different types, or twice that number if the *XX* ♀: *XO* ♂ sex-determining mechanism is taken into account. Assuming that the "fusion" homozygotes are all viable, as indeed they must be unless the heterozygotes enjoy an immense selective advantage over the "non-fusion" types, the current evidence points to a numerical chromosome range for the species extending from  $2n = 21$  (♂) to  $2n = 28$  (♀).

<sup>1</sup> Contribution No. 258, Forest Biology Division, Science Service, Department of Agriculture, Ottawa, Canada.

<sup>2</sup> M. J. D. WHITE, *Animal cytology and evolution* (University Press, Cambridge 1954), p. 66, 203.

No other coccinellid is known with a chromosome number in excess of  $2n = 18 + X^2Y$ , although several have lower numbers<sup>3</sup>. In view of (1) the presence of large



Figs. 1-4.—First meiotic metaphases in 2 males of *Chilocorus stigma*.

Figs. 1 and 2.— $9_{II} + 2_{III}$  (A and B) + X.

Fig. 3.— $7_{II}$  (2 at right heteromorphic) +  $3_{III}$  (from left to right B, A, and C) + X.

Fig. 4.— $7_{II}$  (2 near centre heteromorphic) +  $3_{III}$  (from left to right A, B, and C) + X.

Feulgen-light green squash preparations ca.  $\times 750$ .

masses of heterochromatin visible in *C. stigma* at pachytene; (2) the high frequency at diplotene of ring bivalents that resolve into simple rods by metaphase; and (3) the fact that whole chromosome arms or parts thereof can be lost with impunity in the formation of "fusion" products and heteromorphic bivalents, respectively, it seems reasonably certain that a process of centromere misdivision, of the type known in the plant *Campanula*<sup>4</sup>, followed by the accretion of heterochromatin in the acquisition of new arms must have been the means by which the putative  $2n = 27/28$  prototype evolved. If this is so and since the basic chromosome formula of the Coccinellidae is most probably  $18 = X^2Y$ <sup>5</sup>, it appears likely that individuals with 4 trivalents exist, thus extending the theoretical limit of the species downwards to 19 chromosomes. Furthermore, since the chromosomes of this species evidently have a strong predisposition to "fuse", the possibility is open for matings between individuals carrying different combinations of "fused" chromosomes to have given rise to ring complexes analogous to, but structurally different from, those known in several plant genera.

It is, of course, not inconceivable that a similar situation exist in *Gryllotalpa gryllotalpa* and that its baffling numerical differences, which WHITE<sup>2</sup> was loath

to attribute to "centric fusion" because of the meta-centric nature of the chromosomes, might in fact also have arisen by dispensing with genetically inert arms at the time of "centric fusion".

*Postscript.* Since this note was sent to press, material from stock cultures of Californian origin, kindly donated by JOHN J. DREA, Department of Biological Control, University of California, Albany, California, has proved the existence of one of the expected homozygous fusion types in the form of males with the lower diploid chromosome number of 22. At meiosis these are present as two ring bivalents, both homozygous for a centric fusion, and nine rod-shaped bivalents. Of particular interest is the absence of an independent X-chromosome in these stocks: it is fused with one of a pair of autosomes, thus forming a heteromorphic rod-bivalent and constituting a new, neo-XY, sex-determining mechanism (AX:A). This discovery of polymorphism among the sex chromosomes increases the potential number of chromosomally different types of both sexes from  $2 \times 3^5$  to  $5 \times 3^5$ , or 1215, and further extends the range of diploid numbers downwards to a theoretical 18.

I shall be glad to correspond with people who anticipate being able to help extend the geographical range of future studies by supplying living males of this and related species.

S. G. SMITH

Forest Insect Laboratory, Sault Ste. Marie, Ontario, Canada, November 17, 1955.

#### Zusammenfassung

Von drei ♂♂ von *Chilocorus stigma* wies ein Tier eine (A), eines zwei (A, B) und das dritte drei (A, B, C) zentrische Fusionen auf;  $2n$  war 26, 25 und 24. Beim ♂ mit  $2n = 24$  sind mindestens zwei Bivalente heterozygot. Abgesehen vom Unterschied der Geschlechtschromosomen (XX♀:XO♂) sind daher 243 verschiedene chromosomale Typen möglich.  $2n$  wird von 21 (♂) zu 28 (♀) variieren. Weitere Fusionen bei den Chromosomen der heterozygoten Paare würden zu  $2n = 19$  führen, während sich nach andern Fusions-Kombinationen Ringkomplexe bilden müssten.

#### La question des hétérochromosomes chez les Sauropsidés. I. Reptiles

En 1934, OGUMA<sup>1</sup>, ayant constaté que le mâle de *Lacerta vivipara* possède 36 chromosomes et la femelle 35, admit l'existence d'une digamétie Z-O chez les Reptiles. En 1937, il<sup>2</sup> retrouve le même type chez une Tortue, *Amyda japonica* (♂:  $2N = 64$ ; ♀:  $2N = 63$ ). MAKINO et ASANA<sup>3</sup> étudient deux Agamides avec les résultats suivants: *Calotes versicolor*: ♂:  $2N = 12M + 22m$ ; ♀:  $2N = 12M + 21m$ . *Sitana ponticeriana*: ♂:  $2N = 24M + 22m$ ; ♀:  $2N = 24M + 21m$ . ( $M =$  macrochromosomes,  $m =$  microchromosomes.) NAKAMURA<sup>4</sup> confirme l'existence d'un Z-O chez la femelle d'une Tortue, *Caretta caretta*, et, chez une autre Tortue, *Chelonia japonica*, MAKINO<sup>5</sup> compte 56 éléments chez le ♂, 55 chez la ♀. Et, dans le même travail, MAKINO note qu'il a réexaminé les préparations d'OGUMA et qu'il est d'accord avec les conclusions de cet auteur.

D'autre part, MATTHEY<sup>6</sup> ne trouve aucune différence dans l'équipement chromosomique de *Chamaeleon vulgaris* qui, dans les deux sexes, possède  $12M + 12m$ . MARGOT<sup>7</sup> analyse les cinèses d'*Anguis fragilis* et de *Lacerta vivipara*: il y a  $20M + 24m$  chez l'Orvet, 36 chromosomes chez le Lézard et il est impossible de mettre en

<sup>1</sup> K. OGUMA, Arch. Biol. 45, 27 (1934).

<sup>2</sup> K. OGUMA, J. Genet. 34, 247 (1937).

<sup>3</sup> S. MAKINO et J. ASANA, Chromosoma 3, 208 (1948).

<sup>4</sup> K. NAKAMURA, Kromosoma, 5-6, 205 (1949).

<sup>5</sup> S. MAKINO, Annot. zool. Japon. 25, 250 (1952).

<sup>6</sup> R. MATTHEY et J. KLAUS, Arch. 18, 1 (1943).

<sup>7</sup> A. MARGOT, Rev. suisse Zool. 28, 555 (1946).

<sup>3</sup> S. G. SMITH, Heredity 7, 31 (1953).

<sup>4</sup> C. D. DARLINGTON and L. F. LA COUR, Heredity 4, 217 (1950).

<sup>5</sup> S. G. SMITH, Canad. Entom. 82, 58 (1950).