

## ÚJABB ADATOK A JAPÁN FÜRJ (*COTURNIX COTURNIX JAPONICA*) KARYOTÍPUSÁNAK MEGISMERÉSÉHEZ\*

*Dr. Fábíán Gyula — Dr. Nagy Mária*

### Összefoglalás

A japán fürj mint standard laboratóriumi állat, az utóbbi időben Magyarországon is, mind jobban előtérbe került. Az irodalomban található, ide vonatkozó publikációk igen kis száma miatt a szerzők szükségesnek látták, hogy vizsgálat tárgyává tegyék a japán fürjek karyotípusát. A japán fürjek kromoszómaszámát:  $2n = 80 \pm 2$ -nek ( $78 + ZZ$  vagy  $78 + ZW$ ) találták. Az első pár (6,9–1,7 mikron méretű) makrokromoszóma alakja különböző, de jól meghatározható. Az 1 mikron, vagy annál kisebb méretű mikrokromoszómák alakja (néha a száma is) nehezen ítéltető meg, de valószínűleg döntő többségükben akrocentrikusak. A kromoszómák sajátosságos térbeli elhelyezkedését: a makrokromoszómák által képezett „hég”-at és a mikrokromoszómák által alkotott „mag”-ot a szerzők is megfigyelték. Megbeszélték a madarak — emlősökétől eltérő — cytogenetikai sajátosságainak elvi és methodológiai problémáit.

### Bevezetés

PADGETT és mta (1959) szerint napjainkban a japán fürjek is felsorakoztak a laboratóriumi kísérleti állatok közé. Hazánkban használatuk 10 éves múltra tekint vissza (ANGHI, 1963). Alkalmazásukat rendszertani helyük (DUDICH és mta, 1971) és kitűnő tenyésztetőségi viszonyaik (TÓTH, 1970) indokolják. Rövid ideje való használatukból következik, hogy még számtalan morfológiai és fiziológiai sajátosságuk, így normál karyotípusuk sem tisztázott eléggé. Ez utóbbinak az az oka, hogy e téren nagyon kevés irodalmi adattal találkozhatunk (BAMMI és mtsai, 1966/a, b; OGUMA, 1938; PONTEN in SUSUMO és mtsai, 1964; SHOFFNER és mtsai, 1967; TALLURY és mta, 1965). Ezek indokolják a kérdés mindennemű további vizsgálatát.

### Anyag és módszer

Vizsgálataink során FECHHEIMER és mta (1966) által leírt eljárásból indultunk ki, és kisebb módosításokkal alakítottuk ki következő módszerünket.

Felhasználtunk 40 db különböző életkorú és nemű, házi tenyésztésű japán fürjet. Preparátumainkat az állatok esontvelejéből nyert sejtekből készítet-

\* Agrártudományi Egyetem Állattani Tanszék Gödöllő (Tanszékvezető: DR. FÁBIÁN GYULA) és Országos Közegészségügyi Intézet Budapest (Főigazgató: DR. BAKÁCS TIBOR).

## Makrokromoszóma



1



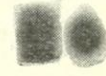
2



3



4

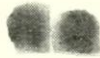


5



ZW

## Mikrokromoszóma



6



7



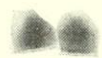
8



9



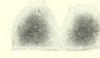
10



11



12



13



14



15



16



17



18



19



20



21



22



23



24



25



26



27



28



29



30



31



32



33



34



35



36



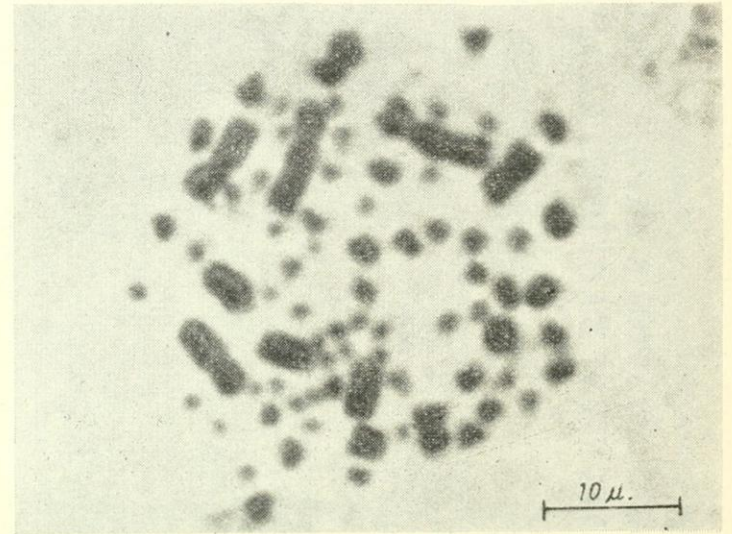
37



38



39



2. ábra. Japán fűrj (*Coturnix coturnix japonica*) karyotipusa  
 Figure 2. Karyotype of the Japanese Quail



tük. Az állatok decapitálása előtt 45–180 perccel 1 mg/testsúly kg-nyi kolchicint adtunk subcutan. A femurokból és a tibiákból ml-enként 1 csepp 0,45%-os citrátot is tartalmazó, Ca- és Mg-mentes fiziológiás sóoldattal a csontvelősejteket kimostuk. A sejtszuszpenziót 500/perc fordulatszámú síkcentrifugával centrifugáltuk 10 percig. A felülúszó eltávolítása után 0,45%-os Na-citrát oldattal duzzasztottunk 30 percig. 10 perces centrifugálás és a szupernatáns eltávolítása után 1:3 arányú jégecet – metanollal fixáltunk 30 percig. A fixáló többszöri cserélése és a szupernatáns eltávolítása után a sejtszuszpenziót hűtött tárgylemezre cseppentettük és láng felett szélesztettük. A preparátumokat Giemsa vagy Carr-féle festéssel festettük. Preparátumainkból a jól értékelhető sejteket kiválasztottuk, 900-szoros nagyítás mellett lefényképeztük, fototechnikai úton tovább nagyítva készítettük el a papírképeket, amelyekből a kromoszómákat kivágva, a szokásos módon kiraktuk a karyotípusokat. A preparátumokat először a nap különböző szakaszaiban készítettük és így kikerestük azt az időpontot, amikor a csontvelőből a legtöbb mitózis nyerhető.

### Eredmények

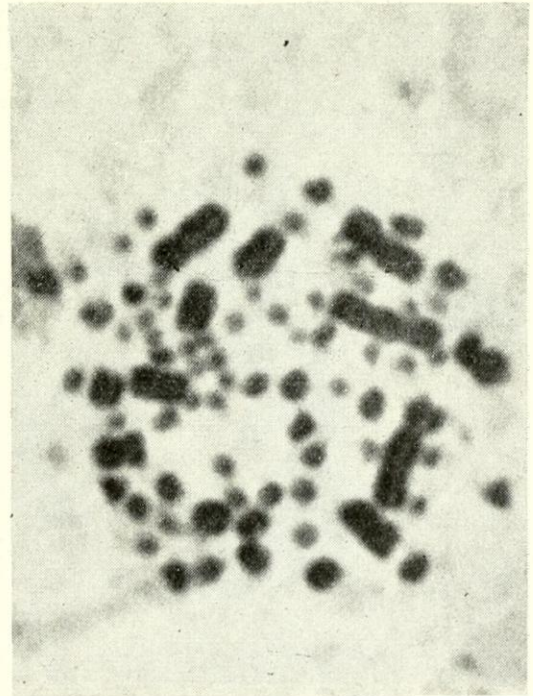
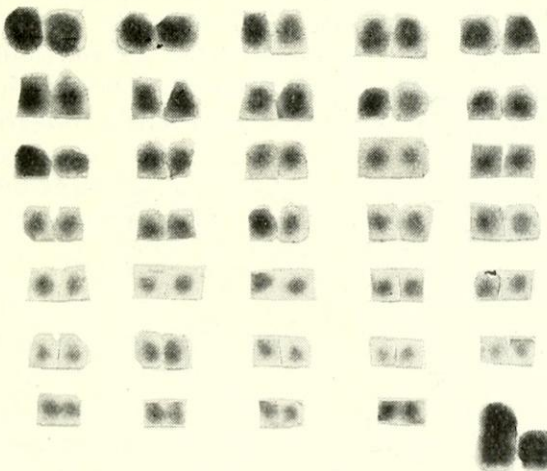
Igen nagyszámú és jól értékelhető sejtszótódást kaptunk akkor, ha a preparátumokat fiatal (14–21 napos) állatokból, a kora reggeli órákban (4–6<sup>h</sup>) készítettük.

A kromoszómák számának moduszát: 80-nak (78+ZZ vagy 78+ZW)

Makrokromoszómák

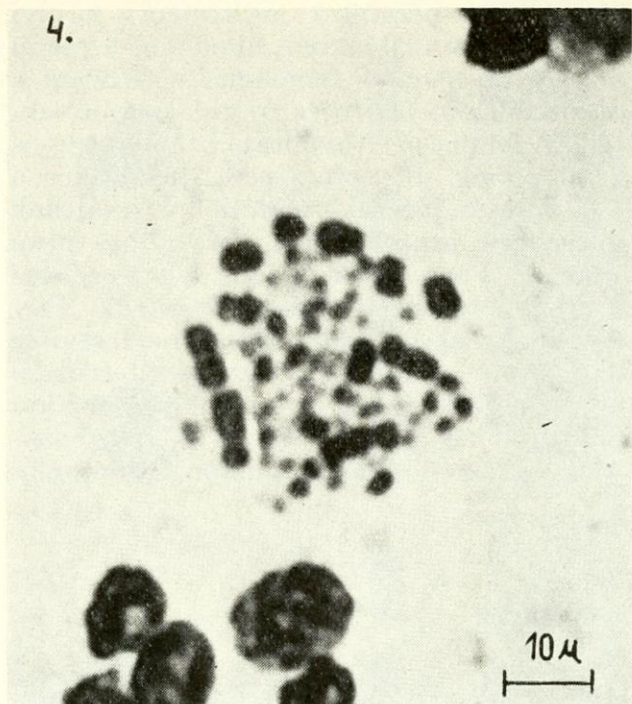


Mikrokromoszómák

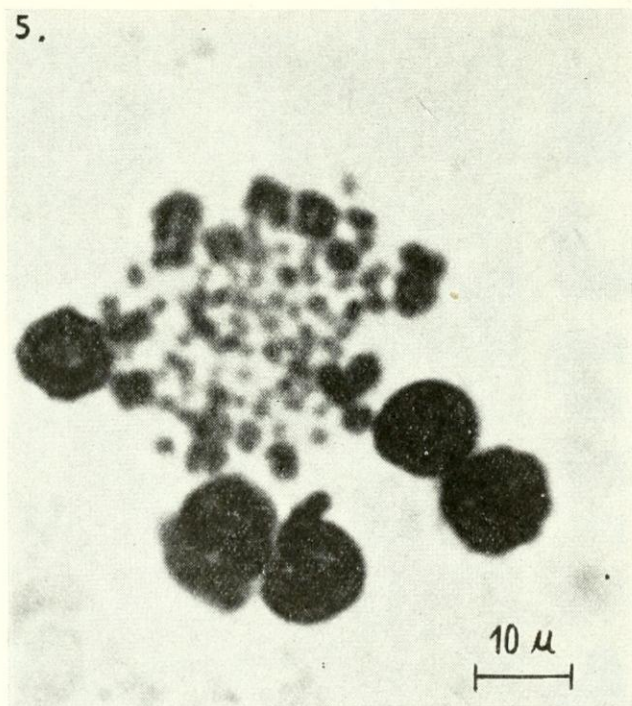


3. ábra. Japán fűrj (*Coturnix coturnix japonica*) karyotípusa ♀  
Figure 3. Karyotype of the japanese Quail ♀





4. ábra. Makro- és mikrokromoszómák térszerkezete  
Figure 4. The space-structure of the macro- and microchromosomes



5. ábra. Makro- és mikrokromoszómák térszerkezete  
Figure 5. The space-structure of the macro- and microchromosomes

találtuk, de gyakran előfordult az is, hogy a két legkisebb kromoszómát nem tudtuk identifikálni.

Az első 5 pár kromoszóma mérete: 6,9 – 4,0 – 3,0 – 2,6 – 1,7 mikron.

Ezeknek a nagy, ún. „makrokromoszómák”-nak az alakja az alábbi: az első pár: subakro, a második: meta-, a harmadik: akro-, a negyedik: meta-, az ötödik pár: akrocentrikus. Az első kromoszómapár kararánya: 3, ezért tekintettük submetacentrikusnak.

Az irodalommal megegyezően (19,21) Z kromoszómának a 3. legnagyobb metacentrikus és W kromoszómának a legkisebb akrocentrikus makrokromoszómát tartottuk.

A többi kromoszóma mérete: 1 mikron vagy annál kisebb, ezek az ún. „mikrokromoszómák”. Ezek alakja – amennyire ezt a fénymikroszkópos felbontás határát súroló kicsinységük megengedi – akrocentrikusnak tűnik (2. ábra).

Mi is meg tudtuk figyelni a homológ kromoszómapárok affinitásán alapuló, LEWIS és mta által 1963-ban (in BAMMI és mtsai, 1966/b) „somaticus párosodás”-nak nevezett jelenséget, amely nyomán a makrokromoszómák „héj”-szerűen vesznek körül a „mag”-szerűen elhelyezkedő mikrokromoszómákat (3., 4., 5. ábra).

### Következtetés

Az első pár makrokromoszómát kivéve, a többi kromoszóma alakját illetően véleményünk megegyezik az irodalommal (SHOFFNER és mtsai,



1967; TALLURY és mta, 1965). A makrokromoszómák általunk mért nagysága TALLURY és mta (1965) adataihoz hasonló.

A makro-, ill. mikrokromoszómák általunk is megfigyelt sajátságos térbeli pozíciója olyan gondolatokat kelt, hogy ez talán nem jelentőség nélküli a gének egymás közötti szabályozási rendszerében.

A japán fürjek kromoszómaszámát PONTEN (in SUSUMO OHNO és mtsai, 1964), ill. TALLURY és mta (1965) 78-nak, BAMMI és mta (1965/a, b) valamint SHOFFNER és mta (1967) 80-nak találták. Az esetek többségében mi is 80 kromoszómát találtunk, ezért tartjuk ezt a  $2n$ -nek. Ugyanakkor azonban, elég sok technikailag jónak tekinthető szettben az utolsó pár, legkisebb (kb. 0,3 mikron nagyságú) mikrokromoszómát nem találtuk meg. A madár (de egyéb, nem emlős) citogenetikai publikációk sora demonstrál hasonlót. Emiatt, az emlősökben megszokottól eltérően, a madarak kromoszómaszámát  $\pm 2 - \pm 10$  pontossággal adják meg (ATKIN és mtsai, 1965; AWATAR és mtsai, 1965; BÁLINT, 1965; CASTROVIEJO, és mtsai, 1965; HAMMAR, 1966; JOVANOVIĆ és mta, 1969; MASAHIRO és mtsai, 1969; NABUO és mta, 1966; PANCSENKO, 1970; RAY-CHAUDHURI és mtsai, 1969; SUSUMO és mtsai, 1964; THORNEYCROFT, 1966). E jelenségben – a sokáig valódi kromoszómáknak sem tartott mikrokromoszómák (HAMMAR, 1966) számának hiányában – technikai ok lehetősége is felmerülhet, amely magyarázatát nyerné a mikrokromoszómák igen nagy számában, rendkívül kicsiny méretében, kevés DNS-tartalmában. Ugyanakkor effektív hiányuk lehetőségét sem vethetjük el. Amennyiben ez valóban így van, akkor ennek jelentősége ma még felbecsülhetetlen, mert az eddigi vizsgálatokból az derült ki, hogy sem a kromoszómák száma, sem a DNS mennyisége, sem a kromoszómák mérete vagy alakja, nem jellemző kizárólag 1–1 madárfajra (ATKIN és mtsai, 1965; CASTROVIEJO és mtsai, 1966; HAMMAR, 1966; JOVANOVIĆ és mta, 1969; MASAHIRO és mta, 1969; NABUO és mta, 1966; RAY-CHAUDHURI és mtsai, 1969; SUSUMO és mtsai, 1964). A madárfajok karyotípusai sorában fellelhető nagy egyöntetűség miatt jutottak RAY-CHAUDHURI és mta (1969) arra a következtetésre, hogy a madarak evolúciójában a kromoszómák strukturális változásának kicsiny volt a szerepe. A nagy egyöntetűséggel szemben THORNEYCROFT (1966) viszont arról számolt be, hogy egy – bár morfológiailag is polimorf madárfajban (*Zonotrichia albicollis*) nem egy-, hanem ötféle karyotípust talált.

A fentiekből következik, hogy az egész madárcitogenetikában sok még a nyitott kérdés, melyek tisztázása további vizsgálatokat igényel.

#### Irodalom — Literature

- Anghi Cs. (1963): Quelques nouveaux animaux de laboratoire (Caille japonaise). Lab. Állatok., 2. 34–36. p.
- Atkin, N. B. – Mattinson, G. – Becak, W. – Susumo Ohno (1965): The comparative DNA content of 19 species of placental mammals, reptiles and birds. Chromosoma., 17. 1–10. p.
- Awatar K. – Haiden, G. J. – Shoffner, R. N. (1965): Mitotic chromosomes and the W-sex chromosome of the great horned owl (*Bubo v. virginianus*). Chromosoma., 17. 258–263. p.
- Bammi, R. K. – Shoffner, R. N. – Haiden, G. J. (1966/a): Sex ratios and karyotype in the chicken-coturnix quail hybrid. Canadian J. Genetics and Cytology. VIII/3. 533–536. p.
- Bammi, R. K. – Shoffner, R. N. – Haiden, G. J. (1966/b): Non random association of



- somatic chromosomes in the chicken-coturnix quail hybrid and the parental species. Canadian J. Genetics and Cytology. VIII/3. 537–543. p.
- Bálint A. (1966): A minőségi változások törvényszerűségeinek filozófiai vizsgálata hetero- és poliploid szervezetekben. Agrárt. Egyetem Közleményei. 219–225. p.
- Castroviejo, J. – Christian, L. C. – Gropp, A. (1966): Karyotypes of four species of birds of families Ploceidae and Paridae. J. Heredity., 60.3. 134–136. p.
- Dudich E. – Loksa J. (1971): Állatrendszertan. Tankönyvkiadó Vállalat Budapest.
- Fechheimer, N. S. – Jaffe, W. P. (1966): Method for the display of avian chromosomes. Nature., 5050 773–774.
- Hammar, B. (1966): The karyotypes of nine birds. Hereditas., 55. 367–385.
- Jovanovic, V. – Atkins, L. (1969): Karyotypes of four Passerine birds belonging to the families Turdidae, Mimidae and Corvidae. Chromosoma., 26. 388–394. p.
- Lewis in Bammi és mtaí. 1966/b.
- Masahiro Itoh – Tatsuro Ikeuchi – Hachiro Shimba – Michiko Mori – Motomichi Sasaki – Saji-ro Makino (1969): A comparative karyotype study in fourteen species of birds. Japan. J. Genetics., 44. 3. 163–170. p.
- Nabuo Takagi – Saji-ro Makino (1966): A revised study on the chromosomes of three species of birds. Caryologia., 19. 4. 443–455. p.
- Oguma, K. (1938): Studies on Sauropsid chromosomes. The karyotyp of the quail and duck: different from those reported by previous author. Ann. Zool. Jap., 17. 612–622. p.
- Padgett, C. A. – Ivey, W. D. (1959): Coturnix Quail as a laboratory research animal. Science., 129. 276–268. p.
- Pancsenko, N. A. (1970): Metodü, isszledovanyija hromoszom u domasnej kuricü. Cytologia., 12. 4. 558–560. p.
- Ponten in: Susumo Ohno, és mtsai, 1964.
- Ray-Chaudhuri, R. – Sharma, T. – Ray-Chaudhuri, S. (1969): A comparative study of the chromosomes of birds. Chromosoma., 26. 148–168. p.
- Shoffner, R. N. – Awtar Krishan – Haiden, G. J. – Bammi, R. K. – Otis, J. S. (1967): Avian chromosome methodology. Poultry Sci., 46. 333–344. p.
- Susumo Ohno – Stenius, Ch. – Christian, L. C. – Becak, W. – Becak, M. L. (1964): Chromosome uniformity in the avian subclass Carinatae. Chromosoma., 15. 280–288. p.
- Tallury, M. V. – Vegni, L. (1965): Fine resolution of the karyogram of the quail, Coturnix coturnix japonica. Chromosoma., 17. 264–272. p.
- Thorncroft, H. B. (1966): Chromosomal polymorphism in the white-throated sparrow, Zonotrichia albicollis (Gmelin). (1966) Science., 154. 1571–1572. p.
- Tóth L. (1970): A domesztikált fürj (Coturnix coturnix japonica) tenyésztésbiológiájának kritikai vizsgálata. Doktori értekezés. Gödöllő.

## Newer data to the recognition of karyotype of the japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*)\*

Dr. Gyula Fábíán – Dr. Mary Nagy

### Summary

Recently, in Hungary, the japanese quail as a standard laboratory animal, came too into prominence. Owing to the little number of such publications in the literature dealing this problem, the authors thought proper the search of the japanese quail karyotype. The authors found, that the number of the chromosomes at the japanese quail is:  $2n = 80 \pm 2$  ( $78 + ZZ$  or  $78 + ZW$ ). From these chromosomes, the first 5 pairs (size:  $6.9 - 1.7 \mu$ ) are the macrochromosomes. The forms of the macrochromosomes are different, but their identification is rather easy. The other chromosomes are the microchromosomes. Their measures are:  $1 \mu$  or smaller. To judge the form (or sometimes the number) of the microchromosomes is very hard. Perhaps in the majority, the microchromosomes are: acrocentric. The authors observed similarly, that the chromosomes have a characteristic position in the space: the macrochromosomes form the shell and the microchromosomes compose the core. The authors discussed the theoretical and methodical problems of the bird-cytogenetics – which are different from the mammal' cytogenetic problems.

\*Zoological Institute of Agricultural University, Gödöllő (Head: G. Fábíán) and National Institute of Public Health, Budapest (Head: T. Bakács)



## Introduction

According to PADGETT and co. (1959), recently the Japanese quails got also, among the labor experimental animals. In our country, their put to use, look back on ten years (ANGHI, 1963). Their systematical position (DUDICH and co, 1971), and their very good breeding conditions (TÓTH, 1970), give the reason to their use. Being in use for a very short time relative, many of their morphological and physiological properties – such their normal karyotype – aren't sufficiently cleared. This is the cause that in this territory, are very few data (BAMMI and co., 1966/a, b; OGUMA, 1938; PONTEN in SUSUMO OHNO, 1964; SHOFFNER and co. 1967; TALLURY and co., 1965) given. Therefore further investigations of this question are necessary.

## Material and method

In our investigations, we set out from the FECHHEIMER and co. (1966) method, with some little modifications.

We used: 40 pieces, household breeding Japanese quails, of different age and sex. We made our preparations from the bone marrow cells. With 45 – 180 minutes before the decapitation, we treated the animals with 1 mg. sc. colchicin/body weight kg. We washed out the bone marrow cells from the femurs and tibias with saline solution (without Ca and Mg) containing 1 drop Na-citrate (0.45%) per ml. The cell-suspension was centrifugated with 500/sec speed 10 minutes. After the clear away of the supernatant, we swelled the cells with Na-citrate (0.45%) solution 30 minutes. This solution we centrifugated until 10 minutes, and after the clearing away of the supernatant, we fixed the cells with 1:3 proportion glacial acid:metanol mixture 30 minutes. After the clearing away of the supernatant, we dropped the cell-suspension on cooled slides and we spread out the cells above the flame. The preparations were stained with the Giemsa or Carr-staining methods. We selected with microscope the good cells of the preparations, then we photographed them with 900-times enlargement and the paper pictures were further enlarged on photo-technical way. From the paper we cut out the chromosomes and we took out the karyotype as usual. We made our preparations in different times of the day, looking for the time in which the most of mitoses from the bone marrow can be gained.

## Results

We received many and valuable mitoses, when we made our preparations from young (14 – 21 day old) animals, in the early morning (4 – 6 hours a. m.).

We found that the modus of the chromosomenumber is:  $80(78 + ZZ \text{ or } 78 + ZW)$ , but often we couldn't identify the two smallest chromosomes.

The measure of the first 5 pair chromosomes are the following: 6, 9 – , 4, 0 – , 3, 0 – , 2, 6 – , 1, 7  $\mu$ . These are the "macrochromosomes".

The form of these macrochromosomes are the following: first pair is: subacro-, second: meta-, third: acro-, fourth: meta-, fifth: acrocentric. The arm-ratio of the first chromosome pair is: 1:3, for this reason, we judged it, for submetacentric.

According to the literature (RAY-CHAUDHURI and co., 1969; SUSUMO OHNO and co., 1964) we judged the third biggest, metacentric chromosome as "Z" chromosome and the smallest acrocentric; as "W" chromosome.

The measure of the other chromosomes are: 1  $\mu$  or smaller. These are the "microchromosomes". The form of these chromosomes are, perhaps: acrocentric (2. picture).

We observed likewise, that phenomenon, which based on the affinity of the homologous chromosome' pairs, and which was named by LEWIS and co. in 1963 (in BAMMI and co. 1966/b) as somatical mating of chromosomes. In this phenomenon, the macrochromosomes form one external shell and the microchromosomes composed the internal core (3., 4. 5. pictures).

## Discussion

Our opinion, in the consideration of the chromosome'form agree with the literature (SHOFFNER and co., 1967; TALLURY and co., 1965), except the first chromosome pair (6, 9 opposite to 6, 0).

Our results, in regard to the macrochromosome' measure are similar to the data of TALLURY and co. 1965.

The particular position of the macro-, and microchromosomes in space, gives a hint for the possible importance among the genes, in the regulating system.

According to PONTEN (in SUSUMO OHNO and co., 1964) and TALLURY and co. (1965), the chromosome number of the Japanese quail is: 78, BAMMI and co. (1966/a, b) and SHOFFNER and co. (1967) found: 80. We found generally 80 chromosomes too. For this reason, we regard this number as:  $2n$ . At the same time however, in many, technically good sets, we didn't find the last pair the smallest (roughly  $0,3 \mu$  measure) microchromosome. The publications bird-cytogenetics (but other, not mammal-cytogenetics ones) are demonstrating the similar. For this reason, differently from the mammal-cytogenetics, the chromosome number of the birds are given with  $\pm 2 - \pm 10$  accuracy (ATKIN and co., 1965; AWTAR and co., 1965; BÁLINT, 1966; CASTROVIEJO and co., 1966; HAMMAR, 1966; JOVANOVIĆ, 1969; MASAHIRO and co., 1969; NABUO TAGAKI and co., 1966; PANSENKO, 1970; RAY-CHAUDHURI and co., 1969; SUSUMO OHNO and co., 1964; THORNEYCROFT 1966). In the mistake of the microchromosome number, the possibility of a technical mistake can't be excluded. But the difference of the microchromosome number can be explained by the very big number, extremely little measure and very few DNA content of the microchromosomes. But, at the same time, it is impossible to refuse an effective want of this two chromosomes. If this is true, then its importance might be very big. As according to different investigations, neither the number or DNA content, nor the measure or form isn't exclusively typical for a certain bird species (ATKIN, 1965; CASTROVIEJO and co., 1966; HAMMAR, 1966; JOVANOVIĆ and co., 1969; MASAHIRO and co., 1969; NABUO TAGAKI and co., 1966; RAY-CHAUDHURI and co., 1969; SUSUMO OHNO and co., 1964). Being the very big uniformities which are among the birds-karyotypes RAY-CHAUDHURI and co. (1969), thought, that in the birds species evolution the chromosomes structural modifications had little role. Opposite this uniformity, THORNEYCROFT (1966) found that, in one bird-species (*Zonotrichia albicollis*) which is morphologically polymorph, is not one, but five kinds of karyotype.

It results from these, that on the territory of the bird-cytogenetics are many open questions, which to clear, demands further investigations.