

n'y a pas, à l'heure actuelle, de raison impérieuse de douter de ce que la réaction de Feulgen permet bien la détection *in situ* de l'acide thymonucléique.

J. BRACHET

Laboratoire de Morphologie animale. Faculté des sciences de l'Université libre de Bruxelles, le 11 mars 1946.

Summary

A number of experiments all led to the conclusion that the Feulgen reaction is a valuable test for the *in situ* localization of thymonucleic acid: there is thus no serious reason to doubt that this acid is a constituent of chromatin and chromosomes.

Localisation de la phosphatase alcaline pendant le développement des Batraciens

La localisation de la phosphatase alcaline pendant le développement de l'embryon de Poulet a été étudiée, au moyen de la méthode cytochimique de GOMORI¹, par F. MOOG². La réaction est déjà fortement positive dans le blastoderme non incubé, donc dès le moment où se forme la ligne primitive; ce sont surtout les noyaux et le vitellus qui se colorent. Selon Moog, il n'existe pas de proportionnalité directe entre la teneur en phosphatase alcaline des noyaux et leur aptitude à la multiplication; l'enzyme interviendrait surtout dans les phénomènes d'organogénèse, plutôt que dans ceux de différenciation histologique.

Il était utile de rechercher si ces conclusions peuvent être étendues à d'autres espèces, aux œufs de Batraciens par exemple: ceux-ci permettent en effet d'étudier la localisation de la phosphatase alcaline dès la fécondation et de suivre, par conséquent, ce ferment pendant la segmentation, la gastrulation et l'induction primaire; ces stades importants du développement ne peuvent en effet guère être examinés dans le cas de l'embryon de Poulet. La méthode utilisée était celle de GOMORI et de Moog; elle a été appliquée aux œufs d'Axolotl et de Xénopé, qui se sont comportés de manière quasi identique.

Voici les résultats principaux de cette étude:

1^o Pendant la *segmentation*, la chromatine des noyaux ne fournit qu'une très faible réaction, qui ne s'intensifie pas dans les chromosomes en mitose. La réaction est négative dans le suc nucléaire et le fuseau; le vitellus se colore légèrement en raison de l'existence, au niveau des plaquettes, de phosphates préformés.

2^o Au cours de la *gastrulation*, la réaction s'intensifie légèrement dans les noyaux; cette intensification paraît d'ailleurs résulter plutôt de l'enrichissement en chromatine des noyaux, par rapport aux stades précédents, que d'une élévation de la teneur en phosphatase alcaline de la chromatine elle-même. On n'observe pas encore de différences entre les cellules qui donnent naissance aux divers feuillets.

3^o Pendant la *neurulation*, on remarque que la chromatine des cellules appartenant aux feuillets superficiel et moyen réagit plus fortement que dans l'entoblaste. Le vitellus des cellules du système nerveux et du chondromésoblaste se colore, lui aussi, plus intensément que dans l'entoblaste. Ces différences s'accusent à mesure que la neurulation progresse; à la fin de celle-ci, l'intensité de la réaction, tant dans les noyaux que

le vitellus, suit la série suivante: système nerveux > chorde, somites > épiderme > endoderme. Un fait curieux, qui n'a d'ailleurs pu être observé que chez l'Axolotl, est que les noyaux et le vitellus des cellules de la pièce intermédiaire réagissent avec une intensité exceptionnelle à ce stade. Dans le système nerveux, la coloration est plus forte dans la région postérieure que dans le cerveau.

4^o Dans les *jeunes tétrards*, la réaction s'intensifie considérablement, tant dans les noyaux que le vitellus; c'est dans les crêtes ganglionnaires et le mésenchyme qu'elle est la plus forte. Viennent ensuite: le système nerveux, la cupule optique (qui réagit plus fortement que le cristallin en voie de différenciation) les somites, le pronéphros et la chorde. La réaction est plus faible dans l'épiderme, la vésicule auditive, les cellules sanguines. Elle est presque négative dans l'endoderme, surtout dans sa moitié postérieure encore indifférenciée.

Insistons encore sur le fait que, quel que soit le stade considéré, la coloration des chromosomes n'est jamais supérieure à celle de la chromatine des noyaux au repos. Il en va d'ailleurs de même chez un Invertébré (œufs de *Tubifex*), où on note également une intensification progressive de la réaction au niveau des noyaux à mesure que le développement progresse.

On peut tirer de ces observations les conclusions suivantes, qui cadrent bien avec celles de Moog:

1^o les noyaux des cellules embryonnaires, aux stades, où l'activité mitotique l'emporte sur les autres, n'ont qu'une teneur très faible en phosphatase alcaline;

2^o ce ferment ne paraît pas jouer de rôle important lors de la gastrulation et de l'induction primaire;

3^o la phosphatase alcaline apparaît en grandes quantités, dans le noyau et le cytoplasme, au moment où l'organogénèse se produit.

J. BRACHET

Laboratoire de Morphologie animale, Faculté des sciences de l'Université de Bruxelles, le 11 mars 1946.

Summary

The localization of alkaline phosphatase has been studied in the early development of Amphibian embryos; there is very little enzyme present, even in the nuclei and the chromosomes, during cleavage and gastrulation stages. A marked increase of the enzyme content of both nuclei and yolk occurs only in post-neurula stages. Alkaline phosphatase probably plays no important part in thymonucleic acid synthesis, morphogenetic movements and primary induction, but might be essential in organogenesis.

Sur l'influence de l'aneurine sur la formation des nodosités bactériennes nitrogènes

La fixation de l'azote atmosphérique par les bactéries des nodosités de certaines plantes, les Papilionacées en particulier, constitue un des facteurs les plus intéressants pour l'enrichissement du sol en azote. Comme l'expérience a montré que des cultures de ces bactéries étaient influencées favorablement par l'aneurine, on pouvait se demander si l'adjonction de cette vitamine au sol serait capable de favoriser la production de ces nodosités.

BOTTOMLEY avait déjà dans ses travaux sur les auximones constaté que des extraits de tourbe bactérisés favorisaient la croissance de telles bactéries (*B. radicicola*, *Azotobacter chroococcum*). Cette action devait en partie être vitaminique, mais à cette époque, l'aneurine n'était pas encore bien définie.

¹ G. GOMORI, J. cell. compar. Physiol. 17, 71 (1941).

² F. MOOG, Biol. Bull. 86, 51 (1944).

On sait que le sol contient habituellement de l'aneurine¹, tout comme l'eau des marais (1,03 à 1,2 γ%)², ainsi que les engrains naturels³.

L'aneurine, facteur de croissance pour tant de végétaux, l'est-elle aussi pour les bactéries fixatrices de l'azote atmosphérique? NAUNDORF et NILSSON⁴ rapportent que NILSSON et ses collaborateurs avaient également constaté que de hautes doses d'aneurine et d'un extrait amylique de levure provoquent la formation de cellules bactérioides du *B. radicicola* (de *Trifolium pratense*).

Il était par conséquent tentant de rechercher si, au moyen des cultures sur eau (soilless cultures), on pouvait arriver à augmenter le nombre et le volume des nodosités bactériennes de certaines Légumineuses en ajoutant à la solution nutritive une certaine quantité d'aneurine.

Dans une première série de recherches en 1943, nous avons essayé de cultiver sur un milieu de KNOOP des haricots, des pois et du soja dans un laboratoire à Bâle. Tous ces essais ont échoué, en ce sens qu'aucune nodosité bactérienne ne s'est formée sur les racines, même en ajoutant dans le milieu de culture des bactéries nitrifiantes (Radicin).

Nous avons alors en 1944 eu l'occasion de faire des essais avec des cultures sur eau à Rathausen près de Lucerne, grâce à l'obligeance du Dr RINGWALD et de M. DÖRING, jardinier, que je remercie ici pour l'intérêt qu'ils ont porté à ces recherches.

Le milieu de culture avait la composition suivante:

KNO_3	542 mg/litre
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	95 mg/litre
H_3PO_4	135 mg/litre
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	135 mg/litre
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	14 mg/litre
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2 mg/litre
Borax	1,7 mg/litre
$\text{ZnSO}_4 \cdot \text{aq}$	0,8 mg/litre
$\text{CuSO}_4 \cdot \text{aq}$	0,6 mg/litre
pH	5,5 mg/litre

(acidification avec H_2SO_4)

Ce premier essai a été fait avec des haricots «Fine de Montreux». Un bac de culture, le témoin, contenait la solution ci-dessus, tandis qu'on a ajouté au second 0,001 g d'aneurine pour 100 litres de liquide. Nous avons constaté ce qui suit:

	Cultures avec aneurine	Cultures sans aneurine
Nombre des individus avec nodosités bactériennes	41 = 82 %	0 = 0 %
Nombre des individus sans nodosités bactériennes	9 = 18 %	50 = 100 %

Ce résultat, plutôt inattendu, montrait que l'aneurine ajoutée au milieu de culture pouvait, dans ce cas, favoriser nettement la formation de nodosités.

Nous avons alors tâché de compter aussi bien que possible le nombre des nodosités sur chaque individu:

Nombre des nodosités	Nombre des plantes portant le nombre de nodosités ci-contre	%
1	2	4 %
2	3	6 %
3	5	10 %
4	7	14 %
5	4	8 %
6	1	2 %
7	4	8 %
8	5	10 %
9	1	2 %
10	3	6 %
11	2	4 %
15	2	4 %
24	1	2 %
31	1	2 %

Ces résultats m'ont engagé en 1945 à refaire deux séries d'essais pour vérifier ce premier résultat qui, au premier abord, paraissait presque extraordinaire. Comme il a été tenté à l'arrière-saison (automne — début de l'hiver), les conditions de croissance n'étaient pas tout à fait normales, ce qui, peut-être, pourrait expliquer que, sans aneurine, la formation de nodosités a fait défaut. Toutefois, cet essai aura eu l'avantage de montrer que, dans des conditions de vie plutôt défavorables à la végétation, l'aneurine a peut-être agi comme stimulant de la production de nodosités.

Les deux séries de 1945 ont été faites dans des conditions climatiques normales, au printemps et en été. Pour la première série, les conditions étaient identiques à celles de la première expérience. Nous avons apprécié les résultats en comptant sur chaque plante le nombre des nodosités. Mais nous avons bien vite dû nous rendre compte que cette méthode ne donne pas des résultats suffisamment satisfaisants pour la raison suivante: les plantes pour être maintenues sur les grilles qui recouvrent les bacs doivent reposer sur un lit d'humus de quelques centimètres de haut. Or, il se forme déjà de nombreuses racines à nodosités à cet étage. Des particules d'humus restent adhérentes sur ces racines et empêchent un dénombrement absolument exact des nodosités. Nous donnons toutefois ci-dessous, à titre d'information, le résultat statistique obtenu, sans vouloir lui attribuer une valeur absolue:

	Nombre de nodosités	Nombre de nodosités en moyenne par plante
200 exemplaires de luzerne sans aneurine	399	1,99
200 exemplaires de luzerne avec aneurine	568	2,84
100 exemplaires de trèfle rouge sans aneurine	622	6,22
100 exemplaires de trèfle rouge avec aneurine	901	9,01

¹ W.H. SCHOPFER, Exper. I, 183 (1945).

² G.E. HUTCHINSON, Arch. Biochem. (U.S.A.) 2, 143 (1943).

³ J. BONNER et J. GREENE, Bot. Gaz. 100, 228 (1938).

⁴ G. NAUNDORF et R. NILSSON, Naturwissenschaften 50, 758 (1942).

Ant cultivé dans la même série des haricots, des pois et des sojas, et le dénombrement des nodosités nous paraissant donner des renseignements sujets à caution, nous avons alors sur les haricots et les pois détachés les nodosités, puis, pesé la récolte obtenue. Les cultures de soja n'ayant donné aucune nodosité, avec et sans aneurine, peuvent être exclues de cette statistique:

	Poids de l'ensemble des nodosités
10 exemplaires d'haricots <i>sans</i> aneurine	10,5 g
10 exemplaires d'haricots <i>avec</i> aneurine	13,4 g
33 exemplaires de pois <i>sans</i> aneurine	5,45 g
33 exemplaires de pois <i>avec</i> aneurine	1,9 g

Dans cette série, l'aneurine a nettement influencé la production des nodosités des haricots, alors que chez les pois, c'est l'inverse qui s'est produit. On a arrosé 10 fois les semis avec l'eau aneurinée. Quantité totale d'aneurine: 0,05 g.

Enfin, lors du dernier essai exécuté au cours de l'été 1945, nous avons remplacé la couche d'humus par un lit de laine de verre, qui a donné alors toute satisfaction pour l'observation de la culture et le prélèvement des nodosités qui ont été également pesées. Voici le résultat obtenu:

	Poids de l'ensemble des nodosités
28 exemplaires de pois <i>sans</i> aneurine	6,1 g
28 exemplaires de pois <i>avec</i> aneurine	11,3 g
23 exemplaires d'haricot <i>sans</i> aneurine	19,8 g
23 exemplaires d'haricot <i>avec</i> aneurine	20,05 g
40 exemplaires de trèfle rouge <i>sans</i> aneurine	0,35 g
40 exemplaires de trèfle rouge <i>avec</i> aneurine	0,35 g

Cette dernière série nous montre ainsi que l'aneurine a eu une influence favorable sur la production des nodosités des pois, mais qu'elle fut pratiquement nulle chez les haricots et les trèfles rouges.

On a arrosé 9 fois les semis avec de l'eau aneurinée. Total de l'aneurine: 0,005 g.

Conclusions. Sur des légumineuses cultivées dans des cultures sur eau, il semble que l'aneurine peut, dans certains cas, influencer très nettement la production des nodosités des légumineuses en nombre et en poids, tandis que dans d'autres cas, on ne constate aucune

différence. Ces essais pourraient avoir une portée pratique considérable, car en favorisant la production de nodosités bactériennes de ces plantes, on augmente par corrélation d'une façon intéressante l'enrichissement en azote des sols dans lesquels on cultive ces plantes améliorantes. Il paraît indiqué de multiplier ces essais préliminaires, afin de fixer les conditions optimales de production des nodosités bactériennes.

H. GUYOT

Bâle, le 15 mars 1946.

Summary

In certain cases, the production of bacterial nodules on legumes can be influenced by aneurin. The preliminary trials should be continued in order to establish the most favourable conditions of aneurin action.

Influence de l'humidité sur les cocons du Ver à soie (*Bombyx mori*)

Les expériences suivantes ont été réalisées en juillet-août 1944 avec plus de 200 cocons obtenus au cours d'un élevage massif de vers à soie nourris et entretenus suivant les conseils de PORTEVIN¹ (1943).

Dès la fin du tissage, les cocons contenant la préchrysalide en train d'effectuer sa dernière mue, étaient numérotés, pesés et introduits dans des hygrostats soumis à la température constante de 25° C. La constance des taux hygrométriques dans les hygrostats était obtenue à l'aide de solutions sursaturées de différents sels, suivant la méthode de BUXTON² (1931) et ZWÖLFER³ (1932). Les taux suivants ont été réalisés: 100%, 95%, 85%, 75%, 55%, 35%, 17% et 0% d'humidité relative.

Pendant toute la durée des expériences, les hygrostats furent surveillés chaque matin et chaque soir, en sorte que la durée du développement nymphal put être notée à 1/2 journée près. Les papillons éclos furent régulièrement pesés entre la 12e et la 18e heure qui suivit leur sortie du cocon.

J'avais souhaité expérimenter avec un plus grand nombre de sujets, mais les faits de guerre m'en ont empêché. Toutefois ces résultats obtenus avec 200 cocons se sont révélés tellement constants qu'ils m'ont paru justifier leur exposé dans une note préliminaire.

Résultats

1^o Mortalité. Les cocons de *Bombyx mori* fournissent des papillons à tous les taux hygrométriques, aussi bien en atmosphère saturée qu'en air rigoureusement sec. Les échecs sont rares dans toutes les conditions et apparemment sans rapports avec l'humidité.

On peut impunément ouvrir les cocons après la chrysallisation et exposer les chrysalides nues à l'air sec ou humide: la mortalité n'en est point augmentée.

2^o Durée du développement. À tous les taux hygrométriques, les préchrysalides ayant achevé leur tissage mettent exactement 14 jours pour donner les adultes. Cette durée, d'une constance remarquable, n'est pas modifiée, si l'on ouvre les cocons et si on expose les cocons directement à l'air.

¹ G. PORTEVIN, Ce qu'il faut savoir des vers à soie. Lechevalier, Paris 1943.

² P. A. BUXTON, Bull. entom. Res. 22, 431 (1931).

³ W. ZWÖLFER, Z. angew. Entom. 19, 497 (1932).