

Les acides nucléiques des œufs de grenouille fécondés par des spermatozoïdes irradiés ou traités par une chloréthylamine (nitrogen mustard)

Comme l'ont montré SKOWRON et JORDAN¹, un traitement préalable des spermatozoïdes de grenouille par la méthyl-bis- β -chloréthylamine (nitrogen mustard) exerce un effet létal prononcé sur le développement ultérieur des œufs fécondés. La grande majorité de ceux-ci ne dépasse pas le stade blastula ou jeune gastrula et quelques embryons seulement forment une plaque médullaire ou un tube neural rudimentaires avant de se cytolysier. Cette létalité, qui rappelle les phénomènes longuement étudiés par BALTZER² et par nous-même³ dans le cas des hybrides interspécifiques entre amphibiens, ne s'accompagnerait d'aucune anomalie chromosomiale suivant les auteurs polonais; ils en ont conclu que la lésion primaire du spermatozoïde serait essentiellement cytoplasmique.

C'est tout autrement que se comportent les œufs de *Rana fusca* qui ont été fécondés par des spermatozoïdes irradiés aux U.V.: comme DALCQ⁴ l'a bien établi, une telle expérience conduit à l'apparition d'un « syndrome haploïde » typique où la létalité ne se manifeste que de façon tardive: la chromatine paternelle irradiée est d'ailleurs totalement éliminée pendant la segmentation.

En raison des effets mutagènes (AUERBACH⁵) et cytologiques (DARLINGTON et KOLLER)⁶ bien connus des chloréthylamines, il paraissait *a priori* peu vraisemblable que les embryons létaux obtenus par SKOWRON et JORDAN¹ soient réellement exempts de toute lésion chromosomiale. Cependant, un examen cytologique des embryons létaux obtenus après fécondation par des spermatozoïdes traités à la méthyl-bis- β -chloréthylamine ne nous avait montré⁷ que des anomalies discrètes ou banales (dégénérescence pycnotique des mitoses). Nous avons surtout noté que ces embryons, qui avaient été fixés au moment où leur développement s'était complètement arrêté, ne possédaient généralement qu'un seul nucléole peu colorable par noyau, tout comme les larves haploïdes.

C'est afin d'éclaircir cette situation paradoxale que nous avons repris l'examen stade par stade des deux types d'embryons. Ceux-ci étaient fixés au ZENKER et colorés alternativement au FEULGEN et au mélange d'UNNA, afin de donner des indications sur le comportement des acides nucléiques. Toutes les expériences ont été faites sur une seule espèce, *Rana fusca*. L'irradiation des spermatozoïdes, d'une durée de 2 ou 5 min, se faisait au moyen d'une lampe Mineralight, émettant 85 % de son énergie à 2537 Å; le traitement des spermatozoïdes par la méthyl-bis- β -chloréthylamine à 0,001⁰/₁₀₀ durait de 10 à 15 min. Toutes les expériences ont donné les résultats prévus quant au type de développement obtenu (syndrome haploïde dans le premier cas, létalité dans le second).

Des expériences de contrôle, consistant à placer des morulas témoins dans de la méthyl-bis- β -chloréthylamine à 0,001⁰/₁₀₀ de façon continue, ont montré que le développement se poursuit normalement jusqu'à un

stade avancé, postérieur à l'éclosion. A ce moment, certains embryons commencent à présenter des pycnoses disséminées dans le système nerveux et dans l'œil; ce résultat se rapproche de ceux que viennent de faire connaître NIEUWKOOP et LEHMANN¹ dans le cas des œufs de triton traités par le même toxique, mais à des concentrations plus élevées et pendant des temps plus courts.

Nos observations, dans le cas des œufs fécondés par des spermatozoïdes irradiés, ne font que confirmer les résultats de DALCQ et SIMON²: les images d'élimination totale de la chromatine paternelle irradiée sont nombreuses au cours des premières mitoses de segmentation et elles disparaissent entièrement dans les morulas avancées et les jeunes blastulas où tous les noyaux sont déjà haploïdes.



En haut, hémicaryon normal faiblement coloré au FEULGEN; en bas, hémicaryon issu du spermatozoïde traité, intensément coloré au FEULGEN.

Il en va tout autrement lorsqu'on examine les œufs qui ont été fécondés par des spermatozoïdes intoxiqués par la méthyl-bis- β -chloréthylamine: les premières étapes du développement (amphimixie, début de la segmentation) sont sensiblement normales. Aux stades morula avancée ou jeune blastula, on voit apparaître dans tous les œufs une anomalie curieuse, qui frappe quelques cellules de la moitié animale: les noyaux des cellules normales sont, à ce moment, encore formés de deux hémicaryons accolés, pauvres en acide désoxyribonucléique et dépourvus de nucléoles. Dans les cellules atteintes, l'hémicaryon d'origine paternelle se distingue par une colorabilité au FEULGEN tout à fait *excessive*,

¹ S. SKOWRON et M. JORDAN, Bull. Acad. pol. Lett. Sci. Cl. Méd. 131 (1949).

² F. BALTZER, Rev. suisse Zool. 57 (suppl. I), 93 (1950).

³ J. BRACHET, Ann. Soc. roy. Zool. Belg. 75, 49 (1944).

⁴ A. DALCQ et S. SIMON, Arch. Biol. 42, 107 (1931).

⁵ C. AUERBACH, Cold Spring Harbor Symp. 16, 199 (1951).

⁶ C. D. DARLINGTON et P. C. KOLLER, Heredity 1, 187 (1947).

⁷ J. BRACHET, Exper. 7, 344 (1951).

¹ P. D. NIEUWKOOP et F. E. LEHMANN, Rev. suisse Zool. 59, 1 (1952).

² A. DALCQ et S. SIMON, Arch. Biol. 42, 107 (1931).

alors que son congénère, pauvre en acide désoxyribonucléique, se signale par la présence de nucléoles volumineux, bien colorables à la pyronine (figure). Tout se passe donc comme si l'hémicaryon issu du spermatozoïde traité par la chloréthylamine était le siège d'une synthèse massive et anormale d'acide désoxyribonucléique; cette synthèse ne s'effectuerait qu'au ralenti dans l'hémicaryon d'origine maternelle où on assiste au contraire à une hyperproduction d'acide ribonucléique. Le contraste entre les deux hémicaryons, qui sont étroitement accolés dans le même cytoplasme, est extrêmement frappant, tant au point de vue de l'aspect cyto-logique que de la composition chimique. Lorsque l'un de ces noyaux aberrants entre en mitose (celles-ci sont assez souvent tricentriques), la chromatine du noyau hyperchromatique ne se résout qu'imparfaitement en chromosomes: elle finit par être éliminée, en tout ou en partie¹.

On retrouve de nombreuses images de ce genre au début de la gastrulation, surtout dans la moitié végétative cette fois. Aux stades ultérieurs, on note surtout une inégalité très marquée de taille et de colorabilité au FEULGEN des noyaux, même lorsqu'ils sont adjacents; ils ne possèdent en général qu'un seul nucléole, mais les noyaux les plus volumineux peuvent en renfermer 3 ou 4. Au cours des mitoses, où le nombre exact des chromosomes ne peut être décompté avec certitude, on observe de nombreuses anomalies chromosomiales (ruptures, chromosomes «collants», évolution pycnotique). Certaines plaques équatoriales ne comptent qu'une dizaine de chromosomes, alors que d'autres sont à coup sûr polyploïdes. C'est évidemment à ce déséquilibre profond de la formule chromosomiale dans les divers noyaux (aneuploïdie) qu'il faut attribuer la létalité, conformément aux observations antérieures de FANKHAUSER².

Nos résultats sont à rapprocher de ceux que BRIGGS³ a obtenus récemment en intoxiquant des spermatozoïdes de grenouille par le bleu de toluidine: des traitements courts provoquent la létalité, tandis que des actions prolongées conduisent à la production d'embryons haploïdes typiques. L'analyse cytologique des embryons obtenus par BRIGGS³ montrera sans doute une grande similitude avec le matériel que nous avons étudié. Remarquons enfin que les anomalies cytologiques apparaissent à un stade plus précoce dans le cas des spermatozoïdes traités par l'U.V. que dans celui du sperme intoxiqué à la chloréthylamine: ce résultat est en harmonie avec les données de la génétique (effet différé des ypérites azotées observé par AUERBACH⁴. J. BRACHET

Laboratoire de morphologie animale, Université libre de Bruxelles, le 5 janvier 1953.

Summary

Treatment of the sperm with U.V. radiation before the fertilization of the frog's egg leads to a typical haploid development, due to the early and complete elimination of the irradiated chromatin. On the other hand, if the sperms are treated with a nitrogen mustard, the development is quickly lethal: very unequal synthesis of DNA occurs in the two halves of some of the nuclei during late cleavage and early gastrulation; finally, embryos with highly unbalanced chromosomal sets (aneuploids) are obtained.

¹ Nous venons de retrouver exactement la même anomalie dans le cas de l'hybride létal *Bufo bulgaris* ♀ × *Rana fusca* ♂.

² G. FANKHAUSER, J. exper. Zool. 68, 1 (1934); Intern. Rev. Cytology 1, 165 (1952).

³ R. BRIGGS, J. gen. Physiol. 35, 761 (1952).

⁴ C. AUERBACH, Cold Spring Harbor Symp. 16, 199 (1951).

Zentralnervöse Steuerung bei Araneiden

(Untersuchungen am Spinnennetz)

Wir bezeichnen den Abstand der beiden äusseren Klebfäden eines Radnetzsektors mit a (Abb. 1) und die Länge des äussersten Klebfadenstückes in diesem Sektor mit b . Nach früheren Untersuchungen an *Zilla x-notata*¹ befestigt die Spinne den auf den äussersten folgenden Faden in einem solchen Abstand von jenem, dass das Verhältnis $a:b$ um einen angenähert konstanten Mittelwert streut. Dass Entsprechendes auch für die Kreuzspinne (*Aranea diadema*) gilt, zeigt Abbildung 2. Das Kollektiv umfasst kleinste Netze (von Jungspinnen) bis zu grössten (adulte Tiere), insgesamt 66 Netze. Aus diesen wurden 1283 Sektoren zur Vermessung von a ausgewählt. Das Verfahren der Messungen, zu denen wir ausschliesslich Photographien benutzen, ist an zitierter Stelle beschrieben. Neu ist, dass die Sektoren der oberen Quadranten, der beiden seitlichen und der unteren Quadranten getrennt behandelt wurden. In den genannten Quadranten wurden jeweils Reihen von 2 bis 10 Sektoren² berücksichtigt und für a und b die Mittelwerte berechnet. Abbildung 2 stellt die Beziehung dieser \bar{a} und \bar{b} für die zusammen 183 Sektorengruppen dar. Durch die Aufteilung nach Quadranten sollte nebenbei geprüft werden, ob die Lage im Raum (oben ×, unten ● oder seitlich ○) von Einfluss auf die Beziehung zwischen a und b ist; dies ist aber offensichtlich nicht nennenswert der Fall.

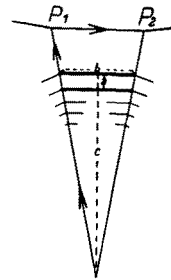


Abb. 1.

In Abbildung 3 ist das Kollektiv nach Klassen geordnet, und für jede derselben ist der Durchschnittswert von a angegeben (feinpunktierte Linie). Die dickere, gestrichelte Linie wurde durch Glättung jener mit Hilfe der gleitenden Durchschnitte konstruiert³. Sie ist angenähert eine Gerade.

Damit ist ein weiterer Fortschritt in der «Berechenbarkeit» des Radnetzes gewonnen. Sie beruht auf einer strengen Ordnung der zugrundeliegenden Bewegungsvorgänge. Dies dürfte sich schwerlich aus einer direkten Beziehung der Körperdimensionen der Spinne und der Proportionen des ausführenden Bewegungsapparates zu den Ausmassen des Netzes ergeben. Denn aus der Verschiebung der Grössenbeziehung Spinne: Netzmaschung mit dem Wachstum muss – wenigstens für *Zilla* (s. Anmerkung 1) – geschlossen werden, dass die realisierten Netzproportionen bei einer grossen (alten) Spinne ein anderes Zusammenspiel der Teilbewegungen erfordern als bei einer kleinen (jungen). Das lässt einen zentralnervösen Ursprung der Proportionalität vermuten. In die gleiche Richtung deutet auch eine andere Tatsache.

¹ H. M. PETERS, Z. Naturforschg. 6b, 90 (1951).

² Über Bedingungen, die bei der Auswahl der Sektoren zur Vermeidung von Ungenauigkeiten beachtet werden müssen, vgl. die zitierte Arbeit. – In 2 Fällen kam ein einzelner Sektor eines Quadranten zur Vermessung.

³ H. GEBELIN und H. J. HEITE, Statistische Urteilsbildung (Verlag Springer, Berlin 1951).