

puis décroît légèrement au delà de 120 jours. La lymphocytose des animaux thymectomisés reste basse. Elle croît lentement et atteint, au delà de 120 jours, un taux comparable à celui observé chez les témoins. Cette évolution rappelle celle observée par d'autres auteurs<sup>10</sup> chez le canard. Au cours de nos expériences, toutefois, près de la moitié des animaux thymectomisés meurent avant d'atteindre l'âge de 120 jours et cette observation concorde avec celles faites par d'autres auteurs utilisant des races de souris différentes<sup>4,5</sup>. Ces animaux qui meurent, en général, conservent une lymphocytose basse. Le dernier chiffre du Tableau doit donc être considéré comme la traduction de la lymphocytose moyenne d'un lot d'animaux qui survivent après avoir surmonté progressivement la sidération que la thymectomie précoce avait imposée à leurs tissus lymphoïdes.

*En conclusion.* Chez la souris « Swiss Albino » la thymectomie précoce entraîne un arrêt du développement des tissus lymphoïdes se traduisant, entre autres, par une chute du nombre des lymphocytes circulants. Certains animaux surmontent ce handicap et au delà de 120 jours leur lymphocytose égale celle d'animaux témoins du même âge. Même alors leur maturité immunologique semble parfois déficiente. Ce fait est suggéré par la tolérance d'animaux opérés, vis-à-vis d'homogreffes cutanées, alors que leur lymphocytose est comparable à celle d'animaux témoins, plus jeunes, qui rejettent une homogreffe cutanée identique<sup>11</sup>. On peut donc supposer que

chez ces animaux où la lymphocytose s'est restaurée progressivement, il s'est produit à la naissance, un début de libération, par le thymus, de cellules souches immunologiquement compétentes<sup>12</sup>. Leur développement rapide et harmonieux exigerait ensuite la présence d'une substance de type pseudo-hormonal<sup>13</sup>, libérée par les cellules épithéliales du thymus<sup>14</sup>.

*Summary.* Lymphocytosis evolution in 'Swiss Albino' mice, thymectomized at birth, is compared with that of normal animals. The lymphocyte level remains low until about the 120th day. Afterwards, this level equals that of normal animals. The role of the thymus in the development of lymphoid tissues is confirmed.

G. ROGISTER

*Fonds National de la Recherche Scientifique et Laboratoire de Chirurgie Expérimentale de l'Université de Liège (Belgique), le 30 janvier 1964.*

<sup>10</sup> M. VOJTISKOVA et M. MASNEROVA, *Exper.* 9, 484 (1963).

<sup>11</sup> G. ROGISTER, *C. R. Soc. Biol.* 157, 1313 (1963).

<sup>12</sup> J. F. A. P. MILLER, *Brit. Med. Bull.* 19, 214 (1963).

<sup>13</sup> J. F. A. P. MILLER, S. M. A. DOAK et A. M. CROSS, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 112, 785 (1963).

<sup>14</sup> D. OSOBA et J. F. A. P. MILLER, *Nature (London)* 199, 653 (1963)

### Etude autoradiographique de l'incorporation de la thymidine-<sup>3</sup>H, de l'uridine-<sup>3</sup>H et de la phénylalanine-<sup>3</sup>H dans les chloroplastes de *Clivia miniata* et *Bilbergia sp.*

Depuis un certain temps on discute le problème de la présence d'ADN dans les chloroplastes. C'est aux techniques imparfaites qu'on doit attribuer les divergences d'opinions: les chloroplastes isolés à partir du homogénat peuvent être contaminés par la fraction nucléaire; d'autre part, les images obtenues par des méthodes cytochimiques (réaction de Feulgen, coloration au vert de méthyle-pyronine) sont parfois difficiles à interpréter (SISAKIAN et ODINCOVA<sup>1</sup>, GRANICK<sup>2</sup>). Les recherches au microscope électronique peuvent contribuer à la mise en évidence de la présence et de la localisation d'ADN dans les chloroplastes. RIS et PLAUT<sup>3</sup> ont trouvé dans les chromatophores de *Chlamydomonas*, aux environs de la région Feulgen-positive, des microfibrilles d'un diamètre de 25 Å qui ressemblaient aux filaments de l'ADN.

Dans les structures cellulaires l'ADN peut être révélé par l'incorporation du précurseur spécifique, de la thymidine, cependant à condition que son activité métabolique soit suffisante. L'incorporation de la thymidine <sup>3</sup>H dans les chromatophores de *Spirogyra* et les chloroplastes de *Ceratopteris* a été signalé par STOCKING et GIFFORD (GIFFORD<sup>4</sup>). Des mêmes constatations, mais basées sur des méthodes plus précises, ont été faites par WOLLGIEHN et MOTHES<sup>5</sup> sur les chloroplastes de *Nicotiana rustica*.

Dans la note présente nous rapportons les résultats concernant l'incorporation des précurseurs des acides nucléiques et des protéines dans les chloroplastes en différents étapes du développement.

Nos expériences ont porté sur trois fragments successifs, d'une longueur de 2 cm, des parties basales des feuilles de *Clivia miniata* et *Bilbergia sp.* (Monocotylédones). Le développement et la structure des chloroplastes chez ces espèces nous sont bien connus à la suite des recherches au microscope optique (MIKULSKA<sup>6</sup>) et au microscope électronique (MIKULSKA<sup>7</sup>). Les cellules de la zone I, blanche, contiennent des proplastides incolores, fusiformes ou améboïdes; ils portent des grains d'amidon. Certains proplastides, plus différenciés, sont pourvus de granum primaire. Dans la zone II, d'un vert pâle, les chloroplastes sont plus volumineux, aux granas plus nombreux. A ce stade apparaissent les lamelles du stroma et des granas. Chez *Bilbergia sp.* le nombre et les dimensions des grains d'amidon augmentent, tandis que chez *Clivia miniata*, l'amidon est remplacé par des inclusions lipidiques. C'est dans la zone III, verte, qu'on trouve des chloroplastes entièrement développés, globuleux, aux lamelles du stroma et des granas définitivement différenciés. Les chloroplastes de *Clivia* renferment des inclusions lipidiques, ceux de *Bilbergia* portent de nombreux grains d'amidon.

Les fragments des feuilles ont été placés verticalement pendant 8 h dans de l'eau de robinet contenant du précurseur radioactif. Après 8 h d'incubation les cellules

<sup>1</sup> N. M. SISAKIAN et M. S. ODINCOVA, *Izw. Ak. N. S.S.S.R.*, ser. biol. No. 6, 817 (1960).

<sup>2</sup> S. GRANICK, *The Cell*, vol. II (Academic Press, New York and London 1961).

<sup>3</sup> H. RIS et W. PLAUT, *J. cell. Biol.* 13, 383 (1962).

<sup>4</sup> E. M. GIFFORD, *Amer. J. Bot.* 47, 834 (1960).

<sup>5</sup> R. WOLLGIEHN et K. MOTHES, *Naturwiss.* 50, 95 (1963).

<sup>6</sup> E. MIKULSKA, *Acta Soc. Bot. Pol.* 29, 431 (1960).

<sup>7</sup> E. MIKULSKA, *Acta Soc. Bot. Pol.*, sous presse.

étaient à l'état vivant (cyclose). Les précurseurs radioactifs ont été employés en concentrations suivantes: la thymidine  $^3\text{H}$  –  $4 \mu\text{C}$  et  $0,078 \mu\text{M/ml}$ ; l'uridine  $^3\text{H}$  –  $4 \mu\text{C}$  et  $0,004 \mu\text{M/ml}$ ; la DL-phénylalanine  $^3\text{H}$  –  $3,6 \mu\text{C}$  et  $0,03 \mu\text{M/ml}$ . Le matériel a été fixé dans le liquide de Carnoy. Les coupes à la paraffine, d'une épaisseur de  $5 \mu$  ont été exécutées. Les coupes soumises à l'action de la DNase ( $1 \text{ mg/ml}$ , pendant 24 h, à  $37^\circ\text{C}$ ) ou à celle de la RNase ( $0,2 \text{ mg/ml}$ , pendant 4 h, à  $37^\circ\text{C}$ ) servaient de témoins. L'émulsion d'Ilford L4 «in gel form» a été utilisée. Le temps d'exposition a été de 4 semaines.

La thymidine s'incorpore dans les chloroplastes entièrement développés (zone III) de deux espèces étudiées (Figure 1a), ainsi que dans les chloroplastes de la zone II (Figure 2a). Il arrive que les chloroplastes de la même cellule sont marqués à l'intensité différente. Dans les coupes témoins, traitées à la DNase, les chloroplastes sont soit non radioactifs, soit entourés à peine de quelques grains noircis (Figures 1b et 2b). Nous n'avons pas réussi de mettre en évidence l'incorporation de ce précurseur dans les proplastides.

L'uridine  $^3\text{H}$  est incorporée dans l'ARN de la façon comparable: l'intensité du marquage augmente au fur et à mesure que les chloroplastes atteignent la forme et la structure définitives.

La phénylalanine  $^3\text{H}$  s'incorpore surtout dans les proplastides (Figure 3a). Les chloroplastes de la zone II montrent le marquage moins accentué. Les chloroplastes adultes (zone III) sont relativement peu radioactifs (Figure 3b).

STÄUBLI<sup>8</sup> et ODINCOVA<sup>9</sup> ont constaté chez quelques espèces Dicotylédonées que les chloroplastes des feuilles jeunes contiennent plus d'ARN que les chloroplastes des feuilles vieilles. Cependant ce matériel n'est superposable au nôtre: les chloroplastes de la zone III des Monocotylédonées faisant l'objet de nos expériences sont comparables plutôt aux chloroplastes des feuilles jeunes des Dicotylédonées étudiées par ces auteurs. En outre, les différences de l'intensité de l'incorporation des précurseurs radioactifs, constatées par autoradiographie, expriment les différences de l'activité métabolique des acides nucléiques et des protéines et ne correspondent pas aux différences quantitatives de ces composés dans les chloroplastes. Nos observations ressemblent aux résultats obtenus par TATSUCHI<sup>10</sup> qui a constaté l'influence stimulante de la lumière sur l'activité métabolique de l'ADN des chromatophores de *Chlorella*. Dans notre matériel ce sont les chloroplastes exposés à la lumière (zone III et

partiellement zone II) qui incorporent intensément de la thymidine  $^3\text{H}$ .

En conclusion, chez *Clivia miniata* et *Bilbergia sp.* la thymidine s'incorpore dans les chloroplastes, on peut envisager la présence d'ADN dans ces organites cellulaires. L'absence de la radioactivité dans les coupes traitées à la DNase confirme cette constatation. L'incorporation de la thymidine  $^3\text{H}$  dans l'ADN et de l'uridine  $^3\text{H}$  dans l'ARN est plus intense dans les chloroplastes entièrement développés. Par contre, la phénylalanine  $^3\text{H}$  est incorporée surtout par les proplastides.

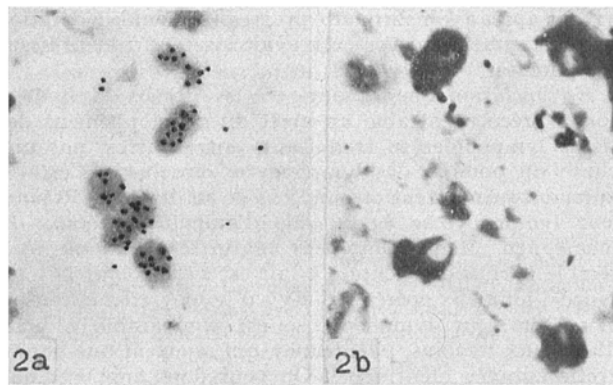


Fig. 2. *Bilbergia sp.* Chloroplastes des feuilles incubées avec la thymidine  $^3\text{H}$  et traitées à la DNase; zone II.

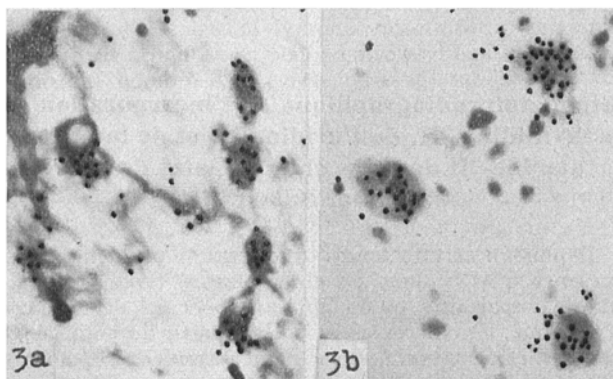


Fig. 3. *Clivia miniata*. Incorporation de la phénylalanine  $^3\text{H}$ . a – dans les proplastides (zone I), b – dans les chloroplastes entièrement développés (zone III); les grains noircis sont retouchés.  $\times$  env. 1500.

**Summary.** Mature chloroplasts of *Clivia miniata* et *Bilbergia sp.* show the intensive incorporation of thymidine  $^3\text{H}$  into DNA and uridine  $^3\text{H}$  into RNA. On the contrary, phenylalanine  $^3\text{H}$  is mostly incorporated in the proplastids.

M. J. OLSZEWSKA et E. MIKULSKA

Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie végétales, Université de Łódź (Pologne), le 29 novembre 1963.

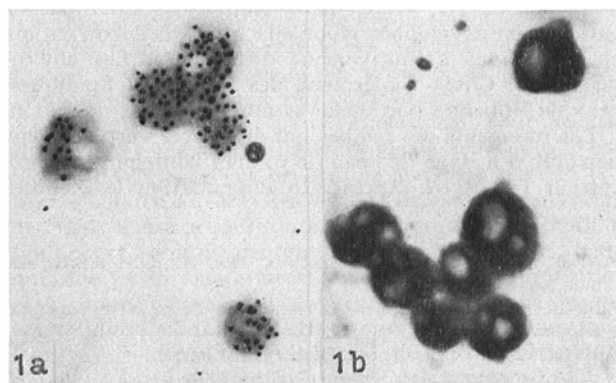


Fig. 1. Incorporation de la thymidine  $^3\text{H}$  dans les chloroplastes de *Bilbergia sp.*; zone III, b – traités à la DNase.

<sup>8</sup> W. STÄUBLI, Promotionsarbeit No. 2662 (Juris-Verlag, Zürich 1957).

<sup>9</sup> M. S. ODINCOVA, Tr. VII Konf. po fotosynt. 242 (1959).

<sup>10</sup> I. TATSUCHI, Biochim. biophys. Acta 61, 472 (1962).