

koagulation nicht verhindern kann, währenddem schon 2,5 Vol. % Ascorbinsäure nach dem Kochen eine durchsichtige, gelbe, starre Gallerte liefern. Bezüglich einer Erklärung der Zuckerwirkung sei auf eine Arbeit verwiesen<sup>1</sup>, welche uns erst nach Abschluß dieser Versuche erreichte und laut der die Ansicht vertreten wird, daß Zucker mit *d*-Glukose-Konfiguration die Hitzeoagulation des bovinen Plasmas verhüten, falls letzteres mit den erwähnten Zuckern *gesättigt* ist. Die Zuckersättigung soll die Entstehung der kolloiden Komponente «C» verhindern, welche die Hitzeoagulation bedingen würde.

Interessant ist, daß im Falle der Zugabe von 5 Vol. % Ascorbinsäure plus 5 Vol. % Glukose, das Serum nach dem Kochen klar bleibt, währenddem die Hitzeoagulationsverhütende Wirkung der Ascorbinsäure (2,5 bis 10 Vol. %) durch gleichzeitige Zugabe von nur 1 Vol. % eines Netzmittels der Nekalreihe aufgehoben wird<sup>2</sup>. Auch die Hitzeoagulationsverhindernde Wirkung von 10 Vol. % Glukose oder 5 Vol. % *l*-Arabinose wird durch nur 1 Vol. % dieses Netzmittels vollkommen aufgehoben.

ROLAND FISCHER

Hygienisches Institut der Universität Basel, den 5. Oktober 1946.

#### Summary

Sixteen individuals of different types of sugars have been investigated as to their ability of inhibiting the visible heat coagulation of serum. When bovine serum was diluted with an equal amount of water and maintained at 70°C during half an hour, the following sugars were able to prevent coagulation in a minimum concentration of 5% per volume: *l*-arabinose, *d*-ribose, *l*-ascorbic acid, and digitoxose.

<sup>1</sup> CHESTER R. HARDT, J. FOREST HUDDLESON, CH. D. BALL, J. biol. Chem. 163, 211 (1946).

<sup>2</sup> «Nekal BX» = Natrium-Alkyl-naphthalinsulfonat.

### Zur Bestimmung der Wasserpermeabilität des Protoplasmas

Wollen wir die Wasserpermeabilität quantitativ mit der Stoffpermeabilität vergleichen, so müssen die beiden Permeationskonstanten gleich definiert sein, d. h. gleiche Dimension besitzen. Dies kann dadurch erreicht werden, daß, entgegen der bisherigen osmotischen Auffassung, die Wasserpermeation in gleicher Weise wie die Stoffpermeation dem Fickschen Diffusionsgesetz unterstellt wird<sup>1</sup>, wobei mit «Wasserkonzentrationen» zu rechnen ist.

Dies darf entgegen den Einwendungen der Permeabilitätsliteratur (JACOBS<sup>2</sup>) geschehen, denn das Charakteristikum der Fickschen Gleichung, die Konstanz des Diffusionskoeffizienten, kann nicht nur dahin interpretiert werden, daß die Teilchen der diffundierenden Substanz so weit voneinander entfernt sein müssen, daß sie auf ihre Bewegung keinen gegenseitigen Einfluß ausüben, sondern auch in dem Sinne, daß eine solche Beeinflussung zwar vorhanden sein kann, aber auf beiden Seiten der Membran von selber Art und Größenordnung (ZUBER<sup>3</sup>). Das ist offenbar bei der

<sup>1</sup> A. FREY-WYSSLING, Zur Wasserpermeabilität des Protoplasmas, Exper. 2, 132 (1946).

<sup>2</sup> M. H. JACOBS, Diffusion Processes, Ergebn. Biol. 12, 1 (1935).

<sup>3</sup> R. ZUBER, Untersuchungen über Diffusion in Flüssigkeiten, II. Über einen Mikrodifusionsapparat für ungefärbte Flüssigkeiten, Z. Physik 79, 280 (1932).

Wasserpermeation der plasmolytischen Versuche der Fall, denn die Konzentration des Wassers von Zellsaft und physiologisch unschädlichen Osmotika ist wohl sehr hoch (ca. 50 Mol/l), aber nur wenig voneinander verschieden.

Die Wasserpermeation darf indessen nicht proportional dem Wasserkonzentrationsunterschied beidseits der Membran gesetzt werden. Denn die experimentell gesicherte Tatsache, daß isotonische Plasmolytika mit verschiedenem Chemismus und demzufolge verschiedener Wasserkonzentration dieselbe Volumänderung des plasmolysierten Protoplasten bewirken, zeigt, daß die Wasserpermeation von der Wasserkonzentration im Außenmedium weitgehend unabhängig ist. In der Permeationsgleichung

$$dx = P_2 Q (x - C) dt$$

( $P_2$  Wasserpermeationskonstante,  $Q$  Oberflächenentwicklung der Zelle,  $x - C$  Unterschied der Wasserkonzentration,  $t$  Zeit) muß vielmehr für  $C$  nicht die Außenkonzentration des Wassers, sondern die Wasserkonzentration im Zellsaft, wenn die Zelle mit dem Plasmolytikum im Gleichgewicht ist, eingesetzt werden, denn diese ist für jedes isotonische Plasmolytikum stets dieselbe. Die Wasserpermeation kommt zum Stillstand, wenn die variable Wasserkonzentration  $x$  des Zellsaftes diese «Gleichgewichtskonzentration»  $C$  erreicht hat.

Weitere Überlegungen zeigen dann, daß die von FREY-WYSSLING<sup>1</sup> abgeleitete Formel

$$P_1 e^{-P_1 Q t} = P_2 e^{-P_2 Q t}$$

( $P_1$  Permeationskoeffizient eines gegensinnig diffundierenden Stoffes) für die Berechnung der Wasserpermeationskonstanten  $P_2$  unter den hier dargelegten veränderten Voraussetzungen ihre Gültigkeit beibehält.

A. FREY-WYSSLING und A. BOCHSLER

Pflanzenphysiologisches Institut der ETH., Zürich, den 12. Dezember 1946.

#### Summary

Two possible objections against the diffusion theory of water permeability in protoplasm<sup>1</sup> are discussed. One is refuted, while the other is valid. But it causes no change of the formula which has been derived for the calculation of water permeation constants strictly comparable to the constants of permeating osmotica.

<sup>1</sup> A. FREY-WYSSLING, Zur Wasserpermeabilität des Protoplasmas, Exper. 2, 132 (1946).

### Sur l'apparition d'organes variés dans l'ectoblaste, à la suite de la centrifugation de la blastula et de la gastrula chez les Amphibiens

De nombreux auteurs ayant centrifugé les œufs des Amphibiens aux stades blastula et gastrula ont été intrigués par un résultat à première vue peu compréhensible: la formation de systèmes secondaires très imparfaits d'ailleurs, plus ou moins distincts du système primaire. La seule explication plausible qui en avait été donnée est due à SCHECHTMAN<sup>1</sup> (1937): la centrifugation provoque un effondrement du blastocœle qui met en contact une portion anormale de l'ectoblaste avec un point de l'organisateur primaire.

<sup>1</sup> A. M. SCHECHTMAN, Proc. Soc. exper. Biol. Med. 37, 153-154 (1937).

Depuis 1938, j'ai répété systématiquement la centrifugation aux divers stades chez divers Amphibiens, surtout chez *Rana fusca*. Rapidement, je me suis rendu compte de ce que l'explication de SCHECHTMAN<sup>1</sup> n'est pas satisfaisante: a) les formations secondaires peuvent apparaître à des endroits tels que la région ventrale de l'abdomen ou la région cardiaque, où l'éventualité du contact entre l'ectoblaste collabé et une partie quelconque de l'organisateur n'est pas concevable; b) les systèmes secondaires peuvent contenir les organes les plus divers (névraxe, organe auditif, ganglions et autres dérivés de la crête neurale, chorde, somites, pronéphros, nageoires), mais selon un arrangement anarchique qui rappelle plutôt l'induction par un organisateur hétérogène (cf. HOLTFRETER<sup>2</sup>, 1934, CHUANG<sup>3</sup>, 1939, TOIVONEN<sup>4</sup>, 1938) que par un organisateur normal.

Des expériences décisives permettent d'affirmer qu'il s'agit en réalité d'une *modification primaire et autonome de l'ectoblaste centrifugé*.

1° De jeunes gastrulas de *Xenopus laevis* sont centrifugées, ce qui provoque l'apparition de puissants systèmes secondaires contenant en proportion variable de la chorde, des somites, du névraxe dont l'extrémité antérieure vient se confondre avec le cerveau de l'hôte. Dans certains de ces œufs, immédiatement après la centrifugation, l'ectoblaste est soigneusement isolé et cultivé *in vitro*: on y constate l'apparition spontanée des vésicules cérébrales, de somites, de ganglions.

2° La même expérience a été faite sur des blastulas avancées de *Pleurodeles Waltii*: dans des explantats purement ectoblastiques se développent des vésicules cérébrales et du mésenchyme.

3° De jeunes gastrulas de *Pleurodeles Waltii* sont centrifugées. L'ectoblaste est immédiatement enlevé et greffé au sein de l'ectoblaste ventral d'un hôte normal du même stade. Des formations secondaires (vésicules cérébrales, mésenchyme, nodules de chorde) y apparaissent dans les mêmes conditions que dans les embryons centrifugés laissés intacts.

La centrifugation des œufs d'Amphibiens provoque donc au stade blastula et gastrula, au sein de l'ectoblaste, et indépendamment de toute action de l'organisateur, l'apparition de complexes d'organes ecto- et mésoblastiques. Ces complexes rappellent fortement les résultats obtenus par une induction hétérogène produite par des tissus adultes. Ils correspondent à une augmentation autonome du potentiel morphogénétique de l'ectoblaste.

Ce résultat doit être mis en parallèle avec ceux de HOLTFRETER<sup>5</sup> (1945) qui, en cultivant de l'ectoblaste isolé dans des solutions à tendance cytolytique, a obtenu des structures neurales.

Depuis lors, J. BRACHET (1946) a montré que la cytolysse provoque la libération d'acides ribonucléiques dont on aperçoit à présent le rôle décisif dans l'induction embryonnaire (cf. J. BRACHET, 1944). Bien que dans les expériences de HOLTFRETER les différenciations n'étaient que de nature neurale et donc plus limitées qu'après la centrifugation, on pouvait se demander si l'altération produite par la centrifugation ne serait pas également de nature cytolytique. Aussi, en collaboration avec notre collègue et ami J. BRACHET avons-nous entrepris l'étude histochimique de l'évolution des acides

ribonucléiques dans des germes centrifugés. Cette étude a été faite chez *Xenopus laevis*, par la méthode mise au point par J. BRACHET, 1940<sup>1, 2</sup>.

On constate ainsi au fond des plis provoqués par l'effondrement du toit blastocœlien, la présence de quelques cellules, apparemment lésées et se colorant fortement au bleu de toluidine. Toutefois, au fur et à mesure que le développement progresse, ces cellules ne se transforment pas, leurs granules basophiles persistant sans aucune diffusion dans leur entourage. Il est donc peu probable qu'elles puissent être considérées comme l'agent inducteur des organes apparaissant au sein de l'ectoblaste.

Le toit du blastocœle, affaissé par la centrifugation forme dans la paroi ventrale de la jeune neurula une sorte de gâteau épaissi, pluristratié. À ce stade apparaît subitement, dans l'ensemble de ce gâteau, une basophilie intense dépassant même celle des organes axiaux. Peu après, au sein de cette masse dont la couche profonde s'enclave dans le mésoblaste ventral, surgissent les organes secondaires: névraxe, chorde, somites, etc. Leur basophilie aussi est plus marquée que celle des organes primaires.

J. BRACHET (1944) a plusieurs fois insisté sur le rôle décisif du métabolisme des acides nucléiques dans le phénomène d'induction.

Dans les expériences actuelles, nous voyons qu'une augmentation du potentiel morphogénétique due à un mécanisme autre que celui de l'induction normale suscite une synthèse intense d'acide ribonucléique qui précède de peu l'apparition d'organes secondaires. Ce qui a agi en l'occurrence, c'est une altération mécanique due à la centrifugation. La nature de cette altération reste énigmatique. On peut penser que la centrifugation produit un remaniement de la structure fine du cytoplasme, qui aurait pour conséquence de permettre des contacts entre ferments et substrats, impossibles dans le développement normal.

Quoi qu'il en soit, ces observations démontrent qu'il existe dans l'ectoblaste même, à l'état latent et inopérant dans le cours normal du développement, toute l'armature chimique pouvant provoquer l'apparition non seulement des organes neuraux, ce qu'avait démontré HOLTFRETER<sup>3</sup> (1915) mais encore des organes chordo-mésoblastiques.

Il est à noter enfin que ces ébauches secondaires ne s'obtiennent pas indifféremment en centrifugeant l'œuf à tous les stades. Il existe une véritable phase critique présentant une sensibilité maximale au deçà et au delà de laquelle les résultats s'atténuent pour disparaître progressivement.

Cette phase ne semble pas être exactement la même chez les diverses espèces. Des recherches complémentaires devront être faites en ce sens; nous nous en tiendrons actuellement au seul œuf de *Rana fusca* qui a pu être complètement étudié par de nombreuses expériences comparatives.

La phase de sensibilité débute, compte tenu des variations individuelles des pontes, vers la 15<sup>e</sup> à la 17<sup>e</sup> h de développement à 20° C (blastula jeune). Les œufs qui réagissent sont encore peu nombreux (10 à 30% suivant les lots). Au fur et à mesure que le développement progresse, le nombre des formations secondaires augmente jusqu'à un maximum net qui correspond au tout début de la gastrulation (21<sup>e</sup> h à 20° C); en-

<sup>1</sup> A. M. SCHECHTMAN, Proc. Soc. exper. Biol. Med. 37, 153-154 (1937).

<sup>2</sup> J. HOLTFRETER, Arch. Entw. Mech. 132, 225-306 (1934).

<sup>3</sup> H. H. CHUANG, Arch. Entw. Mech. 139, 556-638 (1939).

<sup>4</sup> S. TOIVONEN, Ann. Acad. Sci. Fenn. A 55, n° 6, 1-150 (1940).

<sup>5</sup> J. HOLTFRETER, J. exper. Zool. 98, 161-207 (1945).

<sup>1</sup> Les résultats concernant les acides ribonucléiques seront publiés *in extenso* dans un travail signé en collaboration.

<sup>2</sup> J. BRACHET, C. r. Soc. Biol. 133, 88 (1940); « L'Embryologie chimique », Liège et Paris (1944).

<sup>3</sup> J. HOLTFRETER, J. exper. Zool. 98, 161-207 (1945).

suite la chute est brusque et à la 25<sup>e</sup> h (blastopore en petit croissant) les réactions sont de nouveau nulles.

A ces différences statistiques correspondent également des différences dans la nature des réactions.

Au début, vers la 17<sup>e</sup> h, les formations secondaires sont intimement associées à l'embryon primaire; ce sont des vésicules cérébrales supplémentaires, une multiplication des otocystes en position orthotopique, des noyaux chordeaux inclus dans le cerveau, ou même parfois dans l'organe adhésif. Ces noyaux de chorde sont toujours nettement arrondis, sans tendance à l'élongation ni gradient de différenciation. On peut leur attribuer un caractère nuqual.

Vers la 19<sup>e</sup> h, on constate une plus grande indépendance des formations secondaires. Celles-ci se placent à un endroit quelconque de l'embryon, de préférence sur la paroi ventrale. Leur extrémité antérieure se confond en avant avec le cerveau primaire. Mais on observe de plus un axe nettement troncal, possédant de la moelle, de la chorde ayant une nette tendance à l'élongation et un gradient de différenciation, parfois des somites. Les otocystes, très abondants, peuvent se trouver à n'importe quel endroit de l'embryon. Yeux et nez secondaires sont toutefois exceptionnels.

Cette indépendance des formations secondaires se précise à la 21<sup>e</sup> h. L'hétérotopie peut être telle que l'on rencontre à l'extrémité antérieure de l'hôte, formant avec la tête de celui-ci les combinaisons les plus étranges, des formations purement troncales. La proportion des somites croît sensiblement; dans quelques cas on observe des pronéphros secondaires; ceux-ci toutefois n'apparaissent qu'au niveau du pronéphros primaire.

Après ce stade optimal, les formations secondaires gardent leur caractère hétérotopique mais décroissant en importance: chorde, somites, pronéphros disparaissent rapidement et le névraxe fait place à des formations ganglionnaires, du mésenchyme inducteur de nageoire, des otocystes.

Il est à remarquer que dans l'ensemble des expériences, les organes sensoriels prosencéphaliques ne sont apparus que de façon exceptionnelle. A ce point de vue seulement, nos résultats diffèrent des inductions obtenues à partir de morceaux d'organes adultes. Sinon, les ressemblances sont assez frappantes, d'autant plus que les variations obtenues en fonction des stades centrifugés montrent un grand parallélisme avec les séries obtenues par CHUANG<sup>1</sup>, (1939, 1940) au fur et à mesure de l'épuisement de l'inducteur par l'eau chaude. Cet auteur en concluait à l'existence de substances inductrices spécifiques pour les divers organes.

Cette hypothèse rencontrerait dans notre cas des difficultés singulières. Il est possible de trouver une explication plus satisfaisante en faisant intervenir la notion bien connue mais trop souvent oubliée de la compétence limitée dans le temps de l'ectoblaste.

L'évolution du métabolisme nucléinique qui est apparue dans notre travail en collaboration avec J. BRACHET doit demander un certain temps de latence avant que l'élevation du potentiel morphogénétique puisse se réaliser. Si le terme de cette évolution correspond au moment où l'ectoblaste est en période de pleine compétence, les réactions seront maximales. Si, à la suite d'une centrifugation plus précoce ou plus tardive, ce terme correspond à une compétence limitée ou nulle, les réactions seront limitées ou nulles. Dans ce cas, la nature des inductions ne serait pas fonction

de substances spécifiques mais de l'état de compétence de l'ectoblaste. Cette hypothèse qui devra être expérimentalement vérifiée est rendue plausible par des expériences de HOLTFRETER<sup>1</sup> (1938), dont les résultats montrent de fortes analogies avec au moins une partie des nôtres.

Le manque de spécificité de l'influx inducteur ressort également du mode d'interaction mutuelle des systèmes primaire et secondaire, ce qui fera l'objet d'une note ultérieure.

Conclusions: 1) La centrifugation de la blastula ou de la gastrula des Amphibiens provoque au sein de l'ectoblaste, indépendamment de toute intervention de l'organisateur, l'apparition de complexes d'organes ecto- et mésoblastiques.

2) La région où se manifeste cette augmentation du potentiel morphogénétique se caractérise par la présence d'acides ribonucléiques en forte concentration (travail en collaboration avec J. BRACHET).

3) Le nombre des formations secondaires, leur nature, leur localisation dépend du stade où se fait la centrifugation. Il est supposé que la nature des organes formés est fonction de la compétence de l'ectoblaste au moment où se produit la réaction déclenchée par le traumatisme cellulaire.

J. PASTEELS

Laboratoire d'embryologie, Faculté de médecine de l'Université de Bruxelles, le 30 novembre 1946.

#### Summary

The centrifugation of the Amphibia blastula or gastrula produces in the ectoblastic area the appearance of complexes of ecto- and mesoblastic organs. Experiments of explantations and cultivation *in vitro* and also of grafts on a normal embryo demonstrate that those very abnormal secondary embryos are formed without any intervention of the normal organizer. The ectoblastic cells that undergo this increase of morphogenetic potential are characterized by a great concentration of ribonucleic acid in their cytoplasm (this part of work in collaboration with J. BRACHET). Those secondary embryos vary greatly in their frequency, their nature, and their location, depending on the stage in which the centrifugation was done. It is supposed that the nature of the organs formed is dependent on the degree of potency attained by the ectoblast at the time when the reaction arises that is produced by the cellular trauma.

<sup>1</sup> J. HOLTFRETER, Arch. Entw. Mech. 138, 163-196 (1938).

#### Sur le rôle possible des deux acides nucléiques dans la cellule vivante

Les travaux d'AVERY, MACLEOD et McCARTY<sup>1</sup>, ainsi que nos recherches personnelles<sup>2</sup>, sur le phénomène des mutations «dirigées» chez les bactéries, rendent très vraisemblables non seulement l'existence d'acides désoxyribonucléiques différents d'un germe à l'autre, mais encore la présence simultanée, dans un même germe, de plusieurs acides désoxyribonucléiques distincts, dont chacun serait capable d'exercer une action

<sup>1</sup> AVERY, MACLEOD et McCARTY, J. exper. Med. 79, 137 (1944); 81, 501 (1945); 83, 89, 97 (1946).

<sup>2</sup> BOVIN et VENDRELY, Exper. 1, 334 (1945); 2, 139 (1946); Helv. chim. acta 29, 1338 (1946).

<sup>1</sup> H. H. CHUANG, Arch. Entw. Mech. 139, 556-638 (1939); 140, 25-38 (1940).