

représentent un élément du métabolisme du sol envisagé d'une manière dynamique. Leur importance ressort du fait que de nombreux microorganismes du sol sont auxo-hétérotrophes, dépendant de facteurs de croissance exogènes. Ils ne peuvent prospérer qu'en présence des vitamines du sol. Ce seul fait, témoignant de la nécessité de facteurs vitaminiques pour l'évolution de la microflore du sol, suffit à démontrer que ces derniers doivent être considérés lors de l'examen des qualités d'un sol.

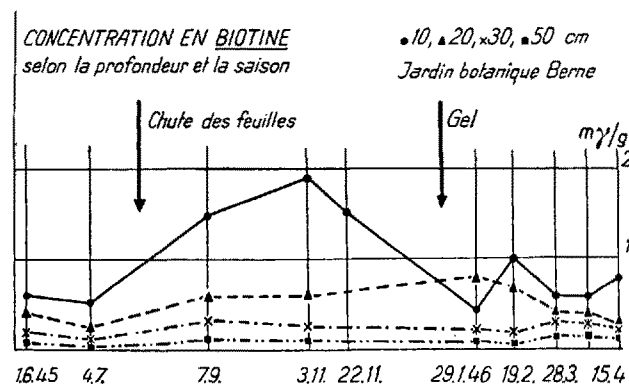


Fig. 3. Evolution du taux en biotine (vitamine H) d'un sol à diverses profondeurs au cours de 10 mois. En abscisse, les dates des prélèvements. Sur l'ordonnée à droite, les taux en biotine.

L'action de ces vitamines sur les végétaux verts, après absorption par les racines, plus fluctuante, a été démontrée également dans certains cas particuliers.

Les faits cités ici sont extraits d'un ensemble de documents obtenus au cours de trois ans de recherches analytiques et d'expériences. Ces dernières font partie d'un plan général de travaux en exécution à l'Institut botanique.

M. A. ROULET

Institut botanique et Jardin botanique de l'Université de Berne, le 15 janvier 1948.

Summary

Hydrosoluble extracts of earth or natural manure added to synthetic media cause the growth of test-micro-organisms (Figs. 1 and 2). Therefore soil and natural manures contain vitamins. We found thiamin, biotin, pyridoxine, mesoinositol, and para-aminobenzoic acid. The presence of these factors in the soil is characteristic and is to be explained by the activity of auxo-autotrophic micro-organisms and by the activity of higher plants. In samples of lake-chalk obtained by boring at Moosseedorf near Berne we discovered biotin to a depth of 9 m. The concentration of thiamin and biotin in the soil varies according to the depth (Figs. 1, 2, and 3) and according to the season (Fig. 3). The concentration of thiamin and biotin of the soil of a pasture is augmented by farm manure.

The auxo-heterotrophic micro-organisms of the soil utilize these vitamins. In certain cases they have some effect upon green vegetables.

The vitaminic factors must be taken into consideration when examining the qualities of a soil.

The experiments cited are part of a general plan of work being carried out at the Botanical Institute, Berne.

Etude cytochimique des acides nucléiques dans le cycle germinal de *Ascaris megalocephala*

I. – Formation des gamètes

Il y a 61 ans que BOVERI fit une découverte mémorable dans le domaine de la cytologie: la «diminution chromatique» chez *Ascaris*, et le comportement différent des chromosomes dans les lignées germinales et somatiques. Une analyse expérimentale permit au grand cytologiste d'établir la notion fondamentale de «gradient» cytoplasmique. Si fertile d'avenir qu'ait été ce concept, il ne paraît pas, en ce qui concerne *Ascaris*, entièrement justifié (cf. v. UBISCH). Aussi, avant de reprendre de nouvelles études expérimentales il m'a paru bon de recueillir des informations préalables sur la distribution et l'évolution des acides nucléiques tant cytoplasmiques que nucléaires dans le cycle germinal. L'étude cytochimique dont nous présentons les résultats actuellement est une première étape en cette direction. Nous avons utilisé la méthode de J. BRACHET¹ ainsi que la réaction de FEULGEN. Cette première note concerne l'oo- et la spermatogénèse.

Dans les deux sexes, les gonies sont représentées par des cellules à grands noyaux. Dans le cytoplasme l'acide ribonucléique présente une répartition homogène et assez abondante; dans le noyau il n'y a qu'un petit nucléole ribonucléique mais un abondant réseau, à distribution croutelleuse d'acide thymonucléique. Les mitoses montrent encore (dans la race *bivalens*) les 4 grands chromosomes de la lignée germinale.

Dans les deux sexes également les jeunes cytes se caractérisent par une augmentation soudaine du taux de l'acide ribonucléique cytoplasmique dont la répartition reste toutefois homogène. A partir de ce stade l'évolution diffère suivant les sexes.

a) Durant l'oogénèse, au fur et à mesure que s'accroissent les enclaves deutoplasmiques, l'acide ribonucléique du cytoplasme (très abondant au début) disparaît petit à petit. Cette évolution est moins rapide au pôle central de la cellule adhérent au rachis qu'au pôle périphérique où se trouve la vésicule germinative. Dans l'oocyte mûr, le cytoplasme ne garde qu'une basophilie résiduelle très effacée, mais homogène dans toutes les parties situées entre les vacuoles, celles-ci étant incolores.

Au niveau du noyau, FAURÉ-FRÉMIET² avait déjà noté que la «chromatine» se condense en deux amas présentant certaines différences au point de vue des affinités aux colorants basiques. Or, il apparaît que dès le début de la vitellogénèse, un de ces amas se colore en vert foncé par la méthode de UNNA, l'autre étant vert pâle; de plus il se manifeste à ce stade un nucléole pyronophile; les deux amas prenant le vert de méthyle se colorent encore également au Feulgen et contiennent donc bien de l'acide thymonucléique. Au fur et à mesure que l'oocyte s'accroît, tandis que l'amas foncé garde sa colorabilité et au vert de méthyle et au Feulgen, la masse claire se dilue progressivement devenant plus pâle par ces deux procédés de coloration; en même temps le nucléole ribonucléique augmente de taille. Dans des stades plus avancés, la masse claire disparaît complètement et semble remplacée intégralement par le nucléole.

Au terme de cette évolution, la masse chromatique foncée prend la disposition caractéristique des tétrades tandis que le nucléole se désagrège en grande partie dans le suc nucléaire. Celui-ci se colore à présent tout entier

¹ J. BRACHET, Arch. Biol. 51, 151 (1940); 53, 207 (1942).

² E. FAURÉ-FRÉMIET, Arch. Anat. micr. 15, 437 (1913).

par la pyronine. Cette coloration se retrouve dans les fuseaux de maturation.

b) Au cours de la spermatogénèse, l'évolution de la basophilie cytoplasmique présente les plus grandes analogies avec celle de l'oocyte. La colorabilité à la pyronine s'atténue en effet au fur et à mesure de l'apparition des granules qui vont ultérieurement confluer pour former le corps réfringent («ascaridine» de FAURÉ-FRÉMIET); cette évolution ne trouve cependant son terme que peu après l'achèvement des mitoses de maturation: la spermatide qui avait conservé une basophilie résiduelle, l'expulse brusquement («cytophore» des auteurs).

L'évolution nucléaire diffère sensiblement de celle de l'oogénèse. Ici l'acide thymonucléique reste homogène, constituant un réseau pseudosynaptique, plus condensé en certains points (cf. les figures de BRAUER¹; ce réseau se colore nettement et intégralement: au vert de méthyle et au Feulgen. Cependant, au fur et à mesure que le spermatocyte croît, il apparaît un ou deux nucléoles ribonucléiques de taille croissante (sans jamais atteindre toutefois celle vue dans l'oocyte). Corrélativement le réseau thymonucléique tend à se réduire, cette réduction est toutefois moins accentuée que dans l'oogénèse. Au moment de la formation de tétrades, les nucléoles ribonucléiques disparaissent; contrairement à ce qui se passe au cours de l'oogénèse, les fuseaux de maturation des spermatozoïdes restent incolores et ne sont donc pas imprégnés d'acides ribonucléiques.

Conclusions

1° En ce qui concerne l'évolution cytoplasmique, il apparaît que les acides ribonucléiques jouent dans l'oogénèse un rôle analogue à ce qui a été décrit ailleurs (cf. J. BRACHET²). Ce qui est nouveau, c'est la démonstration d'une évolution parallèle au cours d'une spermatogénèse. Comme on sait (FAURÉ-FRÉMIET³) que le «corps réfringent» est une protéine, l'intervention d'acide ribonucléique dans son élaboration rentre dans le cadre actuellement connu.

2° En ce qui concerne l'évolution nucléaire une importante différence apparaît entre les deux lignées, mâle et femelle. Dans la seconde, la chromatine se scinde très tôt en deux amas. Tandis que l'un, que l'on peut présumer être l'euchromatine, conserve sa nature thymonucléique jusqu'à la formation des tétrades, l'autre (hétérochromatine) perd peu à peu son acide thymonucléique tandis que la vésicule germinative élabore progressivement des nucléoles ribonucléiques. Sans pouvoir inférer quoi que ce soit à propos du mécanisme chimique de cette transformation, il apparaît vraisemblable que l'acide thymonucléique de l'hétérochromatine se transforme en acide ribonucléique des nucléoles. Il est à retenir que cette masse nucléolaire se fond dans le suc nucléaire de la vésicule germinative et que la basophilie de celle-ci passe dans le fuseau de maturation de l'oocyte. Dans le mémoire *in extenso* nous nous réserverons de commenter plus amplement cette évolution qui nous paraît avoir un intérêt général pour l'interprétation de la fécondation.

II. — Développement

Au moment de la fécondation, l'œuf, fortement vacuolisé, ne présente qu'une basophilie diffuse dans le cytoplasme (les vacuoles étant incolores); en revanche la teneur de la vésicule germinative en acide ribonucléique est plus élevée; assez uniforme dans tout le suc nucléaire, cette

basophilie passe dans les fuseaux des deux mitoses de maturation. Le spermatozoïde est de forme conique, un peu renflé à sa partie postérieure qui contient la partie nucléaire. Celle-ci se présente comme une masse punctiforme d'acide thymonucléique. Un liseré de cytoplasme entoure cette «tête» ainsi que la grosse masse du «corps réfringent» qui est incluse dans la partie effilée du cône; ni ce cytoplasme ni le corps réfringent ne donnent les réactions des acides nucléiques. Mais dès sa pénétration dans l'œuf, ce spermatozoïde présente une transformation d'une acuité extraordinaire: de la périphérie vers le centre, le cytoplasme spermatique se charge de façon brusque et intense en acides ribonucléiques, tandis que le corps réfringent se résorbe. Ces granules forment une masse intensément basophile qui entoure la tête spermatique. Au cours de toute la maturation et du gonflement des pronuclei cette masse se disloque et s'éparpille dans le cytoplasme ambiant: de cette façon l'œuf se charge d'une forte teneur en acides ribonucléiques, plus granuleux que l'acide «résiduel» issu de l'oogénèse. A la phase des pronuclei, la distribution en est homogène dans tout le cytoplasme. Les pronuclei ne contiennent qu'un fin réseau d'acide thymonucléique, à peine perceptible, et ce n'est qu'au moment de la prophase que les grands chromosomes — énormes par rapport aux tétrades de maturation — apparaissent dans toute leur netteté. La synthèse de l'acide thymonucléique semble donc être brusque et précéder de peu la prophase. En même temps, tous les granules ribonucléiques sont repris entre les fibres astériennes des pôles mitotiques, la périphérie de l'œuf s'en trouvant entièrement dégagee. Cet îlot avec la figure mitotique apparaît encore plus nettement à la télophase lorsque les granules ribonucléiques forment dans chaque blastomère une cape polaire fortement refoulée vers le cortex par les pôles télophasiques. Ces capes apparaissent nettement sur le vivant sous forme de «plasmés» clairs tranchant nettement sur le centre de l'œuf chargé d'enclaves. Cependant dès ce stade les plasmés des deux blastomères se montrent différents. Tandis que celui de la cellule somatique AB est un peu plus volumineux, celui de la cellule P est plus densément granuleux, surtout au contact du cortex. Pendant l'intercinèse les granules ribonucléiques se répartissent uniformément dans les deux blastomères, mais l'allure des mitoses suivantes est semblable à la première: reprise des granules dans les centrosphères et refoulement de ces granules dans des plasmés télophasiques. Mais toujours le plasmé qui passera dans la cellule de la lignée P (la lignée germinale) se distingue par son aspect plus densément granuleux. Dans les cellules somatiques on assiste à la diminution chromatique: les fragments rejetés des chromosomes montrent au Feulgen et au vert de méthyle la même réaction positive que l'euchromatine. Ils restent inertes, sans altérer, pendant quelques cycles, puis disparaissent sans affecter de façon apparente la basophilie des cellules qui les contiennent. Au stade gastrula, la basophilie des cellules somatiques est modérée, plus faible cependant dans les cellules invaginées que dans les cellules ectoblastiques. En revanche, les initiales génitales se reconnaissent immédiatement, non seulement grâce à leur noyau, à forte teneur en acide thymonucléique, mais encore à leur cytoplasme plus riche en acide ribonucléique et plus densément granuleux. Ces caractères se retrouvent encore dans la jeune larve.

Conclusions

Ces constatations méritent une discussion explicite qui sera conduite dans le mémoire *in extenso*. Nous nous bornerons à relever les faits suivants.

¹ A. BRAUER, Arch. mikr. Anat. 42, 153 (1893).

² J. BRACHET, Arch. Biol. 51, 151 (1940); 53, 207 (1942).

³ E. FAURÉ-FRÉMIET, Arch. Anat. micr. 15, 437 (1913).

1° La majeure partie des acides ribonucléiques de l'œuf lui est apportée par le spermatozoïde. Celui-ci ne contient cependant pas d'acides ribonucléiques mais se transforme au contact du cytoplasme ovulaire. Cette transformation mérite une étude chimique approfondie. Relevons actuellement qu'elle se produit aussi dans les spermatozoïdes phagocytés par les cellules de la paroi utérine. Le facteur ovulaire ne semble donc pas spécifique.

2° Les granules ribonucléiques issus de cette transformation restent en relation étroite avec les figures mitotiques et à la télophase, avec le cortex oculaire.

3° La lignée germinale se caractérise par un aspect plus densément granuleux de ces acides ribonucléiques, apparaissant à la télophase, mais se retrouvant jusque dans les initiales germinales.

4° La «diminution chromatique» n'affecte pas la basophilie des cellules somatiques qui reçoivent l'hétérochromatine expulsée.

5° On peut en inférer que l'hétérochromatine de la lignée germinale est effectivement «protégée» comme l'a suggéré v. UBISCH¹ par un facteur (armature enzymatique?) résidant dans les granules denses. Ce facteur est localisé par une suite de divisions différentielles.

6° Du point de vue comparatif, la similitude des granules de la lignée *P* et des «ectosomes» du *Cyclops* mérite d'être soulignée.

J. PASTEELS

Laboratoire d'embryologie de la faculté de médecine, Université libre de Bruxelles, le 26 janvier 1948.

Summary

I.

A cytochemical study of both nucleic acids has been made on ovogenesis and spermatogenesis of *Ascaris megalocephala*. In the cytoplasm of both cytes there appears a greater amount of ribonucleic acid than in the corresponding gonias. In the case of ovogenesis there is a progressive disappearance of this substance during the formation of the yolk; in the case of spermatocytes this phenomenon occurs during the formation of the proteic substance that FAURÉ-FRÉMIET calls "ascaridine".

In the nuclei of the ovocytes the thymonucleic "chromatin" forms two masses, one of which appears paler by coloration with methylgreen and by the FEULGEN method. Later the pole "chromatin" disappears with a corresponding growth of the ribonucleic nucleole. In the large ovocytes, this nucleole acquires the same size as the dark mass of thymonucleic acid, the paler mass being completely obliterated. The "dark mass" of thymonucleic acid forms the chromosomes of maturation, while the nucleole breaks down to form the ribonucleic granules of the nucleoplasm. The aforementioned granules pass into the spindle.

In the nuclei of spermatocytes there is no such distinction. The thymonucleic acid forms always a unique network, which becomes paler before the spermatids are formed. The growth of ribonucleic nucleoles proceeds to a lesser extent than during ovogenesis and the granules do not pass into the maturation spindles.

II.

The spermatozoa are devoid of ribonucleic acids. However, soon after fertilization, the entire mass surrounding the thymonucleic spermatic "head" (i.e. spermatic protoplasm and "ascaridine") is converted into very dense granules of ribonucleic acids. These granules are dis-

persed in the cytoplasm of the maturing egg. The greater part of ribonucleic synthesis in fertilized eggs is thus initiated by the entry and the chemical transformation of the spermatic cytoplasm with the "refringent body".

During cleavage the ribonucleic granules occur between the astral rays of the metaphase. These granules at anaphase migrate to the polar positions forming basophilic caps at opposite ends of the blastomeres. In the cells of the germ-line *P*, those telophasic granules are found to be consistently denser and coarser. In the somatic cells, the diminution of the chromosomes does not seem to increase the basophilia of cytoplasm by the breakdown of eliminated chromatin. In the two primordial genital cells of the young larvæ, the coarse ribonucleic granules may still be found.

A.T.P. et extractibilité des myosines

Il est désormais établi que des relations étroites existent entre les myosines et l'acide adénylpyrophosphorique (A.T.P.). ENGELHARDT et LJUBIMOVA¹ ont montré que les solutions de myosine ont une activité adénylpyrophosphatase, NEEDHAM et collaborateurs² que l'A.T.P. influence certaines propriétés physiques des solutions de ces protéines (viscosité et biréfringence d'orientation), SZENT-GYÖRGYI et collaborateurs³ que l'A.T.P. possède une action solubilisante sur les myosines et que cette propriété explique la diminution de solubilité des myosines des muscles fatigués, appauvris en A.T.P.⁴

Les faits, antérieurement mis en évidence, que la fatigue musculaire conduit à l'insolubilisation des myosines α et γ^5 et à une diminution de solubilité de la myosine β^6 , pouvaient-ils s'expliquer par suite de la diminution en A.T.P.?

Des recherches, dont les résultats détaillés seront publiés prochainement, nous ont conduit aux conclusions suivantes:

1° De la pulpe musculaire, finement divisée par section du muscle congelé, au microtome à congélation, en tranches de 0,04 mm, lavée deux fois successivement avec 5 vol. d'eau distillée, fournit ensuite, par extraction avec une solution de KCl 0,5 M et NaHCO₃ 0,03 M, généralement moins de myosine de WEBER-EDSALL que la pulpe du même muscle, non lavée à l'eau. Les différences sont surtout sensibles lorsque les extractions sont courtes (20 minutes); elles sont peu importantes, quelquefois inexistantes, lorsque ces extractions sont prolongées (2 heures).

L'addition d'A.T.P. (300 mg pour 100 g de pulpe = concentration normale du muscle au repos) aux extraits destinés aux pulpes préalablement lavées à l'eau, rétablit le parallélisme entre les quantités de myosines contenues dans les deux extraits, quel que soit le temps d'extraction.

Il résulte de ceci que l'A.T.P. intervient plus par une action accélérante sur l'extractibilité des myosines par des solutions salines concentrées qu'il n'influence la solubilité proprement dite de ces protéines. D'ailleurs, on

¹ E. ENGELHARDT et M. N. LJUBIMOVA, *Nature* 144, 668 (1939).

² J. NEEDHAM, S. C. SHEN, D. M. NEEDHAM et A. S. C. LAWRENCE, *Nature* 147, 766 (1941).

³ Voir: *Stud. from the Inst. of med. Chem. Univ. Szeged*, 1-3 (1941 à 1943).

⁴ T. ERDŐS, *ib.* 3 (1943).

⁵ M. DUBUISSON, *Exper.* 2, 258 (1946).

⁶ J. JACOB, *ib.* 3, 241 (1947). – M. DUBUISSON, *ib.* 3, 372 (1947).

¹ L. v. UBISCH, *Biotheoretica*, p. 163 (1943).