

probablement aussi la lysine seraient indispensables à une croissance normale chez les larves de ces Diptères.

Nous avons précisé dans un autre travail (LECLERCQ¹), dans quelles conditions on peut élever *ab ovo* des larves de *Tenebrio molitor* avec des régimes purement synthétiques. Nous avons vu que les besoins en protides sont entièrement couverts, si on prévoit 40 % de caséine dans la ration, tandis que les besoins en vitamines hydrosolubles et en glucides sont satisfaits avec 60 % d'amidon «pur» additionné de 6 vitamines du groupe B. Nous avons donc abordé l'étude des besoins qualitatifs de protides en préparant des rations analogues dans lesquelles la caséine était remplacée par d'autres protéines purifiées additionnées ou non d'acides aminés purs.

Les tableaux I et II présentent nos premiers résultats. Dans chaque cas, les milieux nutritifs ont reçu une cinquantaine d'œufs de *Tenebrio*. Des précautions ont été prises (voir LECLERCQ¹) pour maintenir dans les milieux un taux d'hydratation voisin de celui de la farine (10 %), en tenant compte du pouvoir hygroscopique de chaque nourriture, ceci pour éviter l'incidence de modifications dues à des différences dans le métabolisme de l'eau (LECLERCQ²).

Tableau I

Elevage de larves de *Tenebrio molitor*, *ab ovo* avec différentes protéines purifiées comme sources uniques d'acides aminés.

Source d'acides aminés	Teneur en lysine	Teneur en tryptophane	Observations après 3 mois	
	(d'après SCHMIDT ³)		Nombre de larves en vie	Poids moyen des larves
Zéine	0	0	16	1,0 mg
Gliadine	0,7	1,1	16	2,2 mg
Edestine + Zéine .	1,2	0,7	19	3,0 mg
Edestine	2,4	1,5	20	4,6 mg
Caséine	6,3	1,2	31	6,4 mg
Fibrine	10,1	3,0	34	6,2 mg

Tableau II

Elevage de larves de *Tenebrio molitor*, *ab ovo* avec des régimes à base de zéine et de gliadine comme seules sources d'acides aminés.

Source d'acides aminés	Teneur en Lysine	Teneur en Tryptophane	Observations après 3 mois	
			Nombre de larves en vie	Poids moyen des larves
Zéine	0	0	16	1,0 mg
Zéine + <i>dl</i> -tryptophane	0	± 3	20	1,0 »
Zéine + <i>l</i> -lysine	± 6	0	16	1,5 »
Zéine + <i>dl</i> -tryptophane + <i>l</i> -lysine	± 6	± 3	39	3,7 »
Gliadine (premier essai)	0,7	1,1	16	2,2 »
Gliadine (second essai)	0,7	1,1	13	2,1 »
Gliadine + <i>l</i> -lysine	± 6	1,1	13	4,0 »

¹ J. LECLERCQ, Biochim. et biophys. acta 2 (1948), sous presse.

² J. LECLERCQ, Arch. int. Physiol. 55 (1948), sous presse.

³ C. L. A. SCHMIDT, in: M. SAHYUN, Outline of the Amino Acids and Proteins (Reinhold, New York, 1944).

Conclusions

1° Il y a une relation étroite entre la croissance des jeunes larves de *Tenebrio molitor* et la teneur en lysine et tryptophane de leur nourriture. Les différentes protéines qui leur ont été offertes comme seules sources d'acides aminés se classent, au point de vue valeur nutritive pour ces Insectes, suivant leur teneur en lysine et en tryptophane. On augmente sensiblement la valeur nutritive de la zéine et de la gliadine, déficientes en ces deux acides aminés, si on leur ajoute par simple mélange de la *l*-lysine et du *dl*-tryptophane.

2° On n'obtient aucune amélioration de la croissance des larves, si on ajoute seulement du tryptophane à la zéine. L'addition de lysine seule ne paraît guère avoir plus d'effet. Par contre l'addition des deux acides aminés à la fois assure une croissance satisfaisante. Il n'en est pas de même pour la gliadine, très pauvre en lysine mais qui contient 1,1 % de tryptophane: il suffit de lui ajouter de la lysine pour augmenter sensiblement la croissance.

3° La réaction des jeunes larves de *Tenebrio molitor* est donc exactement comparable à celle qui a été décrite pour divers Vertébrés¹.

J. LECLERCQ

Université de Liège, Institut Léon Frédéricq, Chimie physiologique, le 3 juin 1948.

Summary

Experiments were undertaken in order to ascertain whether an insect, *Tenebrio molitor*, requires lysine and tryptophane for growing. Young larvae were fed, from the day of hatching, on a diet containing a purified protein as sole source for amino acids and all the other nutrients required by this species.

It was found that lysine and tryptophane are both essential for the growing of *Tenebrio*. The various proteins tested can be listed from point of view of their nutritive value according to their content of both amino acids. Further evidence for this relationship is presented by the fact that zein, a protein deficient in both lysine and tryptophane, is incapable to sustain growth unless it is supplemented with both amino acids. On the other hand, gliadin which is devoid of lysine but contains small amounts of tryptophane can be improved when lysine only is added.

¹ Voir les notes 1-4 à la page 436, seconde colonne.

Apparition d'une protéine nouvelle, la contractine, dans les extraits de muscles contractés

L'examen de très nombreux diagrammes électrophorétiques d'extraits protidiques musculaires du Lapin nous a révélé l'existence de différences systématiques, selon l'état fonctionnel du tissu au moment de l'extraction. On peut, en effet, distinguer les trois cas suivants:

a) le muscle traité était autant que possible *au repos*, à l'état relâché;

b) le muscle était *fatigué in vivo*, par faradisation du nerf moteur et, épuisé, se trouvait à l'état relâché, ce qui est le cas chez le Lapin;

c) le muscle était *raccourci* par stimulation électrique directe et immobilisé dans cet état par congélation instantanée.

Pour obtenir des extraits de muscles se trouvant dans l'une des trois conditions ci-dessus, on doit tenir compte des considérations suivantes. Avant de procéder à l'extraction du tissu, celui-ci doit être suffisamment refroidi afin de paralyser le plus possible les processus enzymatiques; il doit ensuite être finement divisé et, enfin, mis au contact des solutions salines, à une température voisine de 0°C . Mais les difficultés sont plus grandes que l'on pourrait l'imaginer. En effet, il ressort de nos expériences, complétées par des mesures effectuées au kymographe par J. GODEAUX¹, que:

1^o L'immersion brusque d'un muscle dans l'eau glacée entraîne, à coup sûr, par suite du brusque refroidissement, une certaine stimulation des fibres musculaires, conduisant à l'obtention de muscles fatigués²;

2^o Le refroidissement lent et graduel de fragments de muscle placés simplement dans de l'air froid provoque un léger raccourcissement des fibres musculaires³ outre une certaine diminution de volume due à l'abaissement de température;

3^o Le refroidissement lent et graduel d'un muscle placé dans de l'air suffisamment froid pour entraîner la congélation du tissu provoque un raccourcissement des fibres musculaires souvent plus important que dans le cas ci-dessus. Les résultats sont assez variables d'une préparation à l'autre; il est exceptionnel cependant que ce raccourcissement atteigne 15% de la longueur initiale du tissu. De plus, il s'y superpose toujours une forte contracture, au moment de la décongélation du tissu, qui amène les fibres au $\frac{1}{3}$ - $\frac{1}{4}$ environ de leur longueur initiale. Le mécanisme de cette contracture par décongélation, observée déjà antérieurement⁴ est encore obscur; il est peut-être lié à un processus de déshydratation, responsable d'une fracture des complexes protéino-lipidiques de la machine musculaire;

4^o L'immersion instantanée, dans l'air liquide, d'un muscle préalablement raccourci par stimulation électrique, ne permet pas à coup sûr d'obtenir l'immobilisation à l'état raccourci maximal, car le refroidissement paralyse, dans une certaine mesure, les processus d'excitation au niveau d'un certain nombre de fibres avant que celles-ci aient pu être congelées. On observe donc souvent, au moment de l'immersion, un léger relâchement musculaire dont l'importance varie d'ailleurs d'une préparation à l'autre et paraît d'autant plus considérable que la masse musculaire congelée est plus grande. La décongélation de tels muscles entraîne toujours en outre une contracture du même type et de même importance que celle décrite sous 3^o;

5^o L'immersion brusque, dans l'air liquide, d'un muscle normal et au repos entraîne, dans la plupart des cas, un raccourcissement instantané des fibres musculaires (env. 40%), dû à une brusque stimulation par le froid. La décongélation de tels muscles entraîne également, comme dans les cas décrits sous 3^o et 4^o, une contracture du même type et de la même importance.

Il résulte de ce qui précède qu'il est très difficile d'obtenir, à coup sûr, un muscle parfaitement relâché

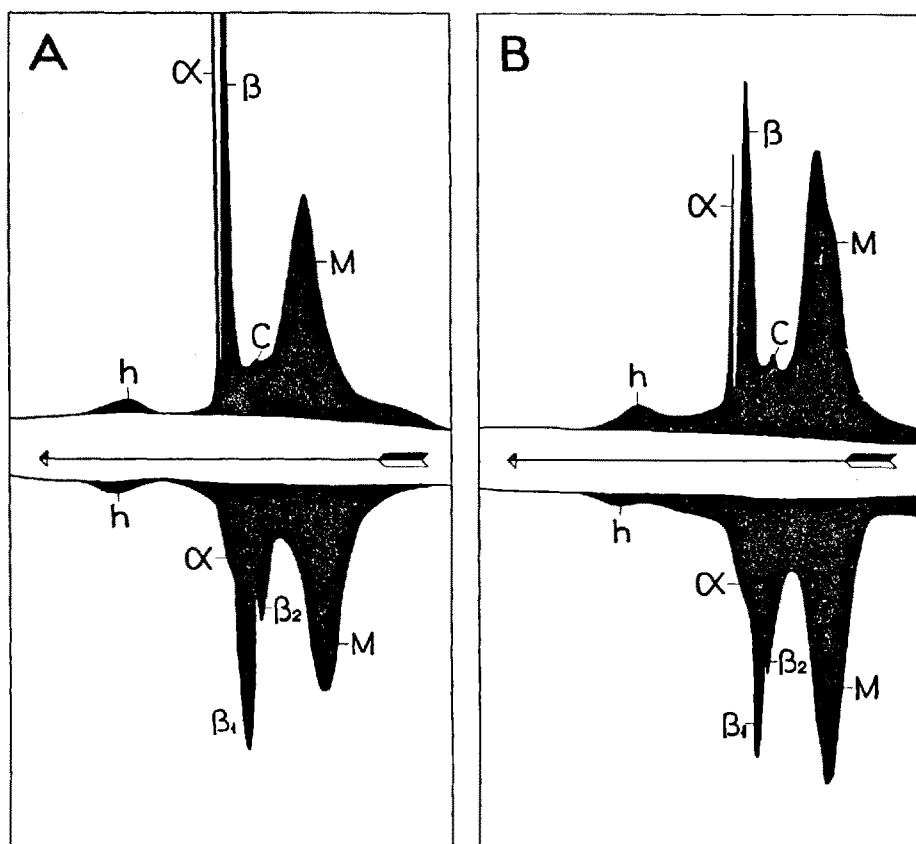


Fig. 1. — Protéinogrammes électrophorétiques (méthode de TISELIUS-LONGSWORTH) d'extraits musculaires de Lapin, pH : 7,40; μ : 0,35 ~ 50000 sec d'électrophorèse. En A, muscles normaux et au repos obtenus par refroidissement lent; au-dessus, tracé ascendant; en dessous, tracé descendant. En B, muscles normaux et au repos, lentement congelés.

et au repos; même en prenant les précautions les plus grandes, on ne peut empêcher les fibres de se raccourcir quelque peu *in vitro*.

Il est moins difficile d'obtenir un muscle contracté, bien que le raccourcissement ne soit pas toujours maximal et que, comme on doit faire appel, dans ce genre de préparation, à une méthode de congélation, on ne peut éviter de superposer, à cette contraction, la contracture qui se développe lors de la décongélation.

Dans les cas favorables où la congélation, provoquée très lentement, ne donne pas lieu à un raccourcissement trop important des fibres, il est possible d'obtenir des muscles présentant presque exclusivement le phénomène de contracture de décongélation.

Compte tenu de ces difficultés, l'étude des protéinogrammes électrophorétiques d'extraits totaux de muscles de Lapin ont, jusqu'ici, conduit aux résultats suivants.

Les muscles, finement hachés, sont extraits pendant 60 minutes avec 1,5 vol. de solution saline de force ionique μ : 0,35, dans laquelle la plupart des protéines musculaires du muscle normal passent en solution¹.

Na_2HPO_4 : 0,048 m; NaH_2PO_4 : 0,006 m; NaCl : 0,2 m.

Les extraits sont dialysés 48 heures contre la même solution.

a) *Muscles normaux et au repos obtenus par refroidissement lent dans la chambre à 0°C (fig. 1 A).* On trouve, du côté descendant, les composants antérieurement décrites: les myogènes (gradients n, m, t et l de JACOB¹), les myosines α et β^2 , la myoalbumine de B. SMITH, h¹.

¹ Cf. J. JACOB, Bioch. J. 41, 83 (1946).

² M. DUBUISSON, Exper. 2, 258 (1946).

¹ J. GODEAUX, recherches inédites.

² Cf. M. DUBUISSON, Exper. 3, 372 (1947).

³ Voir à ce sujet: F. BOTTAZZI, Arch. di Sci. Biol. 8, 352 (1926).

⁴ Voir L. HERMANN, Pflügers Arch. 4, 189 (1871). — H. BRÜNOW, Z. allg. Physiol. 13, 367 (1912). — W. MANICK, Pflügers Arch. 224, 722 (1930) et H. J. DEUTICKE, ib. 224, 1 (1930).

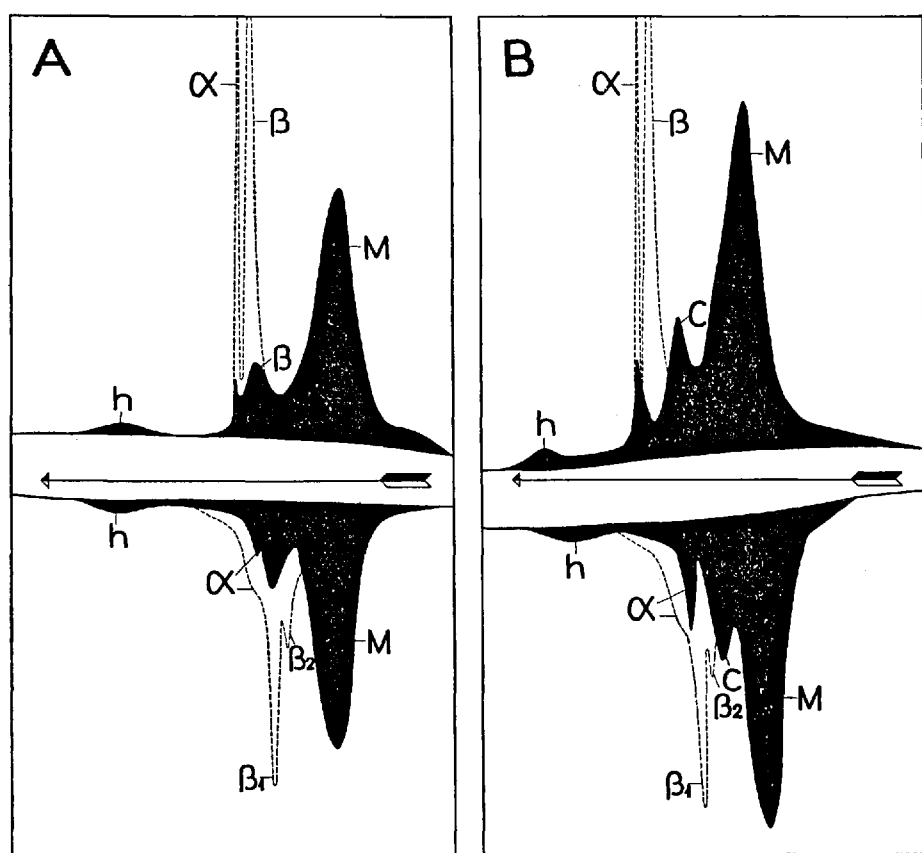


Fig. 2. — Idem que fig. 1. En A, muscle *fatigué* par stimulation, puis lentement refroidi. En B, muscle *contracté* par stimulation et immobilisé dans cet état par congélation instantanée. En traits interrompus, les gradients α et β du muscle *normal*, au repos.

On voit de plus, du côté ascendant, entre le groupe du myogène et la myosine β , une composante faiblement représentée, que nous avons appelée C et sur l'origine de laquelle nous reviendrons plus loin. Les vitesses de ces gradients sont, du côté ascendant, à μ : 0,35 et au p_H 7,40 pour les myogènes: $\sim 1,5$; pour C: 2,3; pour la myosine β : 2,8; pour la myosine α : 3,00 et pour la myoalbumine h: $4,5 \cdot 10^{-5}$ cm/V/sec ($\pm 5\%$). Du côté descendant, la myosine α est si étalée qu'elle se distingue à peine et la myosine β montre nettement deux constituants: β_1 et β_2 .

b) *Muscles normaux et au repos, lentement congelés dans la chambre à -20° C* (fig. 1 B), et présentant par conséquent un faible raccourcissement lors de la congélation et une contracture de décongélation. L'extractibilité des myosines α et β a diminué, le gradient C est légèrement augmenté.

c) *Muscles fatigués par stimulation, in vivo, du nerf moteur, puis lentement refroidis dans la chambre à 0° C* (fig. 2 A). La myosine α a presque disparu; la myosine β a subi une forte diminution; les composantes β_1 et β_2 ne se distinguent plus du côté descendant; la composante C n'est pas distincte.

d) *Muscles contractés par stimulation et immobilisés dans cet état par congélation instantanée* (fig. 2 B). La myosine α a fortement diminué; la myosine β a complètement disparu. La composante C est augmentée dans des proportions considérables; elle est visible dans les deux compartiments. Ce protéinogramme ressemble beau-

coup à ceux obtenus par intoxication du muscle par le monobromacétate¹.

On est ainsi conduit à constater:

1° Que l'inaccessibilité dans les extraits à μ 0,35, des myosines classiques α et surtout β , est un premier processus spécifiquement lié au raccourcissement de la machine musculaire, que celui-ci ait été obtenu par stimulation indirecte ou par des agents pharmacologiques. On pourrait penser, par exemple, qu'elle résulte d'une liaison de ces substances en des complexes que cette solution d'extraction ne peut dissocier. Dans le cas de fatigue extrême, bien que le muscle soit relâché, il subsiste un résidu de ce processus, dû à un retour incomplet des protéines à leur état initial, qui se traduit par une accessibilité diminuée de ces myosines par rapport au muscle normal. Ce résidu disparaît d'ailleurs par le repos du muscle *in vivo* et *in situ* (récupération aérobie).

2° Mais il y a plus: le passage en solution de la composante C est également un processus spécifique de

l'état de contraction. Cette protéine est en effet d'autant plus abondante que le muscle est plus raccourci. Il est rare, il est vrai, qu'elle soit totalement absente, même dans les muscles aussi au repos et relâchés que possible. Mais cette constatation ne diminue pas la valeur de l'argument a) parce qu'il est pratiquement impossible d'enlever des muscles de Lapin, de les refroidir, de les couper, de les hacher, sans produire de stimulations conduisant à un certain degré de raccourcissement et b) parce que nous n'avons pas la certitude absolue que les gradients appelés C sur les protéinogrammes de muscles au repos, non congelés ou congelés, soient qualitativement identiques à cette protéine dont le taux s'accroît en fonction du degré de contraction et que nous appellerons, pour cette raison, la *contractine*. La vitesse électrocinétique de la contractine est en effet fort voisine de celle des composantes k_1 et k_2 de JACOB²; elle est fort voisine aussi de celle de la myosine γ que nous avons trouvée en faibles quantités dans la myosine de WEBER-EDSALL préparée à partir de muscles de Lapin normaux et au repos³. Des recherches ultérieures préciseront mieux sans doute les relations possibles entre ces divers constituants; mais, quoi qu'il en soit, l'état raccourci s'accompagne toujours d'une solubilité extrêmement accrue d'une composante de vitesse $2,3 \cdot 10^{-4}$ cm/V/sec au p_H 7,4 et à μ 0,35, que nous proposons d'appeler *contractin* pour cette raison.

¹ J. JACOB, Exper. 3, 241 (1947).

² Cf. J. JACOB, Bioch. J. 41, 83 (1946).

³ M. DUBUISSON, Exper. 2, 258 (1946).

La contracture par décongélation considérée isolément, dont le mécanisme appartient plus sans doute à un processus physique de déshydratation qu'à un mécanisme relevant du domaine de la physiologie, ne s'accompagne pas d'une augmentation notable de la solubilité de la contractine.

M. DUBUISSON

Laboratoire de biologie générale, Faculté des sciences, Université de Liège, le 24 juillet 1948.

Summary

When rabbit muscles are fatigued, the electrophoretic pictures of the extracts of these muscles are free from α -myosin and show a large decrease in the amount of β_1 and β_2 -myosin.

When the muscles are contracted by monobromacetate or stimulated and fixed in a contracted state by liquid air, α -myosin is very much decreased, β_1 and β_2 -myosin disappears entirely, and a new component appears which is called "contractin".

The disappearance of the classical myosins and the appearance of this new protein in the extracts of shortened muscles, may be of great interest in the study of the protein changes responsible for muscle contraction.

L'action antibiotique de la streptomycine étudiée au microscope électronique

L'observation, à l'aide du microscope électronique, de l'action des antibiotiques sur la cellule bactérienne a déjà fait l'objet de quelques travaux, en particulier en ce qui concerne la pénicilline¹, la tyrothricine² et la tyrocidine³.

Nous avons essayé d'étudier, par cette méthode, l'effet de la streptomycine sur la morphologie bacillaire. L'organisme-test a été *Bacillus subtilis* (souche «Caron») cultivé dans le milieu synthétique de MONOD⁴. Pour réaliser l'observation, on prélève directement une goutte de culture, qu'on dépose sur le support de collodion et évapore à 37° au vide. Un rapide lavage à l'eau distillée suffit à éliminer de la préparation les constituants du milieu, en laissant les bactéries. Nos préparations sont ensuite soumises à l'ombrage à l'or, selon la méthode de WYCKOFF⁵.

L'étude des cultures-témoins nous a permis de confirmer les résultats de MUDD et de ses collaborateurs⁶ sur la morphologie du genre *Bacillus*. Les bacilles présentent un cytoplasme dense, entouré par une enveloppe cellulaire qui y est plus ou moins étroitement accolée, suivant l'âge de la culture (fig. 1 et 2). Nous avons observé des figures de division, dans lesquelles la paroi cellulaire apparaît continue d'un bacille à l'autre et où les cytoplasmes sont réunis par un plasmodesme (fig. 2). Lorsqu'on suit les processus d'autolyse qui se déroulent lors du vieillissement des cultures-témoins, on constate que le cytoplasme subit une dissolution progressive aboutissant à la formation de bacilles très aplatis et d'enveloppes cellulaires entièrement vidées de leur contenu cytoplasmique (fig. 3 et 4). Des spores peuvent aussi se former: il est impossible d'y distinguer une paroi cellulaire séparée du cytoplasme, et elles sont caractérisées par leur

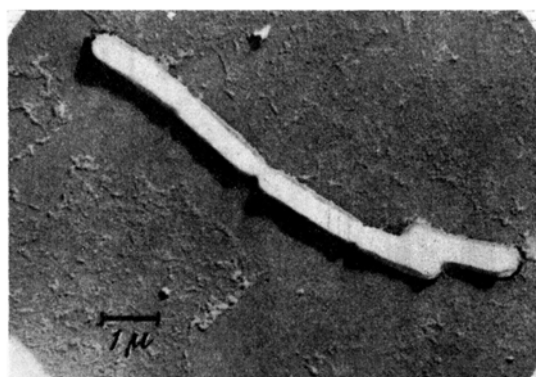


Fig. 1.

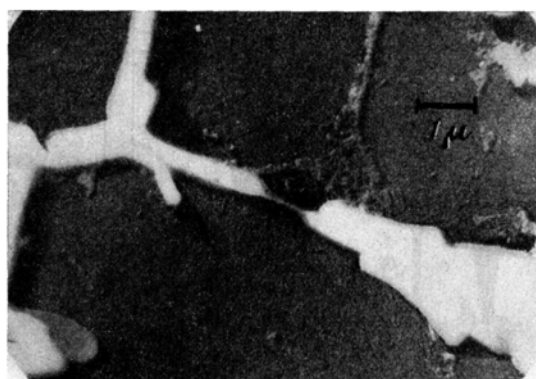


Fig. 2.

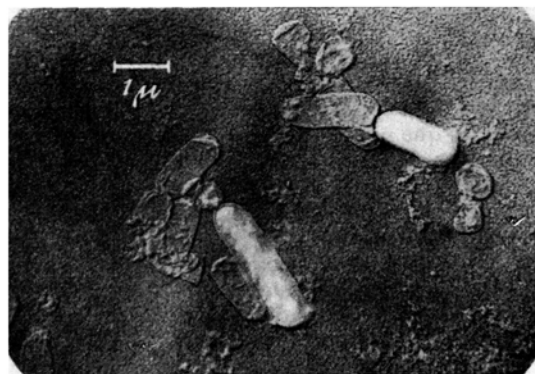


Fig. 3.

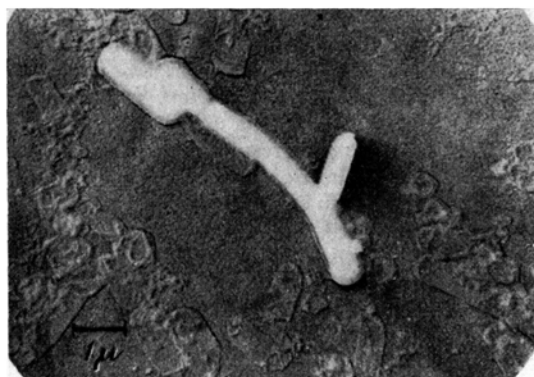


Fig. 4.

¹ L. J. WEISS, Proc. Indiana Acad. Sci. 52, 27 (1942).

² F. H. JOHNSON, J. Bact. 47, 551 (1944).

³ P. D. MITCHELL et G. R. CROWE, J. Gen. Microbiol. 1, 85 (1947).

⁴ J. MONOD, Actualités Sci. et Ind. n° 911, p. 32 (Hermann éd., 1942).

⁵ R. C. WILLIAMS et R. W. G. WYCKOFF, Science 101, 594 (1945).

⁶ S. MUDD, K. POLEVITZKY, T. F. ANDERSON et L. A. CHAMBERS, J. Bact. 42, 251 (1941).