

pendant 3 à 5 jours. La cellophane utilisée laissait diffuser rapidement les mononucléotides (acides adényliques et guanyliques), lentement l'acide ribonucléique de la levure (poids moléculaire d'environ 10 000); elle arrêta complètement l'acide thymonucléique polymérisé (poids moléculaire entre 500 000 et 1 000 000). Des expériences de contrôle ont montré que l'introduction d'une lamelle de cellophane dans une vésicule ectodermique ne provoque pas la neuralisation des explantats.

Dans 31 expériences sur un total de 45, la lamelle de cellophane a été bien tolérée et elle a été retrouvée, lors de l'examen microscopique, exactement entre l'organisateur et l'épiblaste. Alors que l'ectoderme présentait de volumineuses inductions neurales dans les régions où il n'était pas protégé par la membrane de cellophane, les portions en regard de cette membrane ne montraient qu'un épithélium cubique, faiblement basophile et d'apparence normale. En aucun cas, cette portion de l'ectoderme n'a présenté de différenciation neurale; souvent, on voit s'arrêter à l'emporte-pièce une masse neurale au point où l'ectoderme fait face à la membrane. Il faut en conclure que l'interposition de la lamelle de cellophane arrête complètement l'influx organisateur et que l'induction ne peut être due à la diffusion de substances à faible poids moléculaire, telles que les mononucléotides. Rappelons, dans le même ordre d'idées, que HOLTFRETER¹ a montré qu'un organisateur tué perd son activité lorsqu'on l'enveloppe d'une membrane vitelline.

2° Des fragments de gastrula d'*Axolotl* (organisateur ou épiblaste) ont été colorés vitalement au rouge neutre (1:10 000 dans le Holtfreter) pendant une heure et lavés; ces explantats ont été ensuite accolés, par leurs faces internes, à des fragments non colorés. Dans certains cas, des organisateurs colorés au rouge neutre ont été implantés dans le blastocèle de gastrulas normales. On constate qu'il se produit une diffusion rapide du colorant, allant du fragment coloré vers les cellules avoisinantes, à condition que les explantats ou greffons adhèrent fortement à ces cellules. Cette diffusion se produit indifféremment en allant de l'organisateur vers l'épiblaste ou vice-versa et il est donc douteux qu'il s'agisse là d'un phénomène directement lié à l'induction. Il est toutefois intéressant de noter que l'interposition d'une membrane de cellophane arrête le passage du colorant vers les cellules protégées par la membrane. Il est à remarquer aussi que des expériences de centrifugation fractionnée, effectuées sur des gastrulas colorées vitalement au rouge neutre et broyées ensuite, ont montré que ce colorant se fixe exclusivement sur les éléments figurés de la cellule; vitellus, pigment (comme l'avait déjà vu Vogt²) et granules ribonucléoprotéiques ultracentrifugeables.

3° Un examen soigneux de la localisation de l'acide ribonucléique pendant la gastrulation et le début de la neurulation a été effectué tant dans le cas d'embryons entiers que du toit de l'archentéron isolé (*Axolotl*, Pleurodèle, *Triton cristatus*). Il a permis d'observer la présence constante, au niveau de l'interstice séparant le neuroblaste du chordoblaste, de fins prolongements riches en acide ribonucléique. Ce dernier se fixe sur des grains basophiles (chromidies) réunis par un réseau fibrillaire. Les prolongements émis par les cellules neuroblastiques et chordoblastiques tendent à aller à la rencontre les uns des autres et à adhérer fortement. Les images cytologiques observées suggèrent la possibilité que les prolongements hyalins basophiles émis par les

cellules de l'organisateur se fusionnent avec ceux des cellules épiblastiques; mais il est clair qu'une grande prudence est nécessaire dans l'interprétation de telles images, en raison du risque d'artefacts. Quoiqu'il en soit, il ne fait pas de doute qu'il se produit une accumulation localisée d'acide ribonucléique au point et au moment précis où les processus d'induction se déroulent. Il est à remarquer en outre que les cellules de l'organisateur, à ce moment, présentent une localisation de l'acide ribonucléique qui rappelle, de manière discrète, celle que nous avons observée¹ dans le cas des cellules épiblastiques en précytolyse: or on sait, par les recherches de HOLTFRETER², que la précytolyse réversible conduit très fréquemment à la neuralisation des explantats épiblastiques.

En conclusion, ces expériences confirment la notion qu'une adhérence intime entre l'organisateur et l'épiblaste est indispensable au succès de l'induction; c'est au niveau d'une région riche en acide ribonucléique que les cellules adhèrent fortement les unes aux autres. Le passage de substances liées à de grosses particules est possible de l'organisateur vers l'épiblaste et il semble douteux que l'induction neurale soit due à la diffusion de substances à faible poids moléculaire. J. BRACHET

Laboratoire de morphologie animale, Faculté des sciences de l'Université de Bruxelles, le 20 octobre 1949.

Summary

(1) A cellophane membrane placed between the organizer and the epiblast prevents neural induction. (2) Neutral red, by which yolk, pigment and microsomes are vitally stained, can diffuse from the cells of the organizer to those of the epiblast, and vice-versa. (3) At the moment of neural induction ribonucleic acid accumulates at the site of hyaline processes in the slit between the chordoblast and neuroblast.

¹ J. BRACHET, C. R. Soc. Biol. 140, 1123 (1946).

² J. HOLTFRETER, J. Exper. Zool. 106, 197 (1947).

The Water Taste of the Frog

In 1935¹ I was the first to record action potentials from the taste fibres of the cat and I will only recollect that the cat was found to have no specific fibres responding to sweet tasting solutions. This is in accordance with the well-known fact that cats do not like sugar in contrast to the dog.

Last winter we have isolated in this laboratory single taste fibres in the dog's tongue which responded specifically to such sweet-tasting substances as sucrose, glycol and lead-acetate just as is the case in man but with one exception: we did not obtain any definite response to saccharine.

Owing to the shortage of dogs for experimental purposes I happened to investigate the matter in the frog and was surprised to find that a 6% sucrose solution applied upon the tongue elicited a massive volley of large spikes from the glossopharyngeal nerve. PUMPHREY² was unable to find response from the frog's ninth nerve other than to salt and acid solutions. But I was further astounded when I found that ordinary tapwater or distilled water produced the same effect. Further experiments convinced us that the frog's tongue

¹ J. HOLTFRETER, Arch. Entw. Mech. 128, 584 (1933).

² W. VOGT, Arch. Entw. Mech. 106 (1925).

¹ Y. ZOTTERMAN, Skand. Arch. Physiol. 72, 73 (1935).

² R. J. PUMPHREY, J. Cell. Comp. Physiol. 17, 243 (1935).

possesses nerve fibres, the endings of which respond specifically to water.

When a few ml of water are poured on the tongue there is a rapid response which takes about five minutes to subside. The response can be dramatically abolished by washing the tongue with Ringer's solution or by isotonic KCl solution. The latter solution exerts on inhibitory action on these endings. These results have been published in *Acta physiol. Scand.*, 1949¹.

Recently B. ANDERSSON and I have succeeded in isolating single fibres responding specifically (1) to water, (2) to touch, (3) to acids. Acid solutions excite endings belonging to thinner fibres.

Using different strength of hypotonic NaCl solutions we found that the threshold for the water taste fibres was equal to or less than 0.05%.

In my paper of 1949 I suggested that the water taste fibres might subserve an important physiological mechanism in the frog. It is likely that these fibres contribute to a reflex closure of the frog's mouth when the animal is immersed in fresh water thereby preventing unnecessary intake of water and thus avoiding aspiration of water.

The amphibians living in fresh water have to regulate their water intake carefully in order to maintain an adequate mineral balance.

A further account (B. ANDERSSON and Y. ZOTTERMAN) of these phenomena will appear early next year in *Acta physiol. Scand.*

YNGVE ZOTTERMAN

Department of Physiology, Kungl. Veterinärhögskolan Stockholm, December 1, 1949.

Zusammenfassung

Es wird gezeigt, daß die Zunge der Amphibien besondere Endorgane besitzt, die spezifisch auf reines Wasser oder verdünnte NaCl-Lösungen von einer Konzentration unter 0,05% reagieren. Diese Rezeptoren sind mit ziemlich groben Nervenfasern im N. glossopharyngeus verbunden. Die Entladungen dieser Fasern können sehr leicht von denen unterschieden werden, die durch Säuren oder Schmerz entstehen. Diese Reize werden durch Fasern von kleinerem Durchmesser übertragen.

Isolierte Fasern, die auf hypertonsche NaCl-Lösungen ansprechen, reagieren nicht auf reines Wasser. Es wird vermutet, daß dieser Wassergeschmack im Dienst des Elektrolythaushaltes des Frosches steht.

¹ Y. ZOTTERMAN, *Acta physiol. Scand.* 18, 181 (1949).

A New Crystallographic Modification of Chitin and its Distribution

X-ray photographs of the notopodial chætæ of the polychæte *Aphrodite aculeata* taken in 1938 revealed a chitin (polyacetylglucosamine) picture almost as well developed as that obtained by MEYER and PANKOW¹ from an apodeme of *Palinurus vulgaris*. The chætæ are non-cellular bristles, c. 15×0.25 mm, secreted in pits in the epidermis; they are dark brown to black in colour and of considerable stiffness. Extraction with hot 10% potash, or with diaphanol, results in a loss in weight of about 65% and leaves the bristles as glass-clear rods, flexible when wet, showing brilliant interference colours. The X-ray photographs from untreated bristles include meridional reflections that do not belong to the picture

of *Palinurus* and that disappear on treatment with dilute potash or diaphanol¹. This note is concerned only with potash- or diaphanol-extracted material. Photographs were taken with a fine collimator (0.25×60 mm), exposing for 72 hours and more. Whereas other workers have reported identity between the X-ray photograph of *Aphrodite* bristles and that of crustacean chitin², our photographs showed considerable differences. The fibre-axis was found to be $10.17 \text{ \AA}$, and the two strongest reflections on the equator yielded d-values of $9.32 \text{ \AA}$ and $22.15 \text{ \AA}$, as compared with *Palinurus*: $a = 9.40 \text{ \AA}$; $b = 10.46 \text{ \AA}$; $c = 19.25 \text{ \AA}$. Our photographs of *Palinurus* gave $b = 10.27 \text{ \AA}$ (determined from the 020 reflection), at variance with MEYER and PANKOW's interpolated value of $10.46 \text{ \AA}$. The 020 reflection in their photograph gives $b = 10.26 \text{ \AA}$, however. Our photographs also indicate a displacement of the meridional reflection on the third layer line from a position corresponding to a d-value of $3.41 \text{ \AA}$ to one of $3.26 \text{ \AA}$; moreover the intensity ratio of the meridional reflections on the second and third layer lines is reversed in the *Aphrodite* photograph as compared with *Palinurus*. It is proposed to refer to the new modification as β -chitin in contrast to the α -chitin of *Palinurus*.

MEYER and PANKOW's model of *Palinurus*-chitin envisaged an orthorhombic unit cell. If there were 4 chitobiose residues in β as in α (the unit cell remaining orthorhombic), a 15% increase in the c -axis (nearly $3 \text{ \AA}$) would mean a change in density from 1.415^3 to 1.24 (calculated). Determinations of the density of treated bristles in mixtures of tetrachloro-ethane and butylic alcohol showed, however, that this is only slightly less than that of *Palinurus*. In the same media, fragments of *Limulus* carapace extracted with dilute KOH and known to give an α -chitin picture (see below) exhibited a density between 1.40 and 1.42 . The bristles showed some scatter (observed by SOLLAS⁴ in other chitin samples), but the bulk of the population behaved as if the density lay between 1.40 and 1.41 . These observations suggest that the β -form cannot be derived from α simply by dilatation of the c -axis.

That α and β are closely related is suggested by the apparent conversion of β to α on treatment with 45% fuming nitric acid. Preliminary experiments showed that extracted bristles swelled markedly, shortened to about one third of their initial length, and dissolved completely after 15 minutes in 45% fuming nitric acid—as does *Palinurus* chitin⁵. Untreated bristles in 45% fuming nitric acid undergo little dimensional change in 15 minutes, however; at the end of this period they are translucent, though still brown in colour. After washing and drying, they yield an α -photograph; the orientation is not so good as in the untreated bristle. Further work is necessary before this transformation is accepted as proven, but the observation suggests that α and β are indeed closely related.

X-ray photographs of well-oriented chitinous material from the main-groups of the Arthropoda have shown in each case that the polysaccharide present is the α -modification. In addition to fibres from the apodemes of *Palinurus* (Crustacea) and the trabeculae running between upper and lower surfaces of the carapace of *Limulus* (Arachnida), apodemes of the wing-muscles of *Æschna* and the inner blades of the ovipositor of *Sirex*

¹ L. E. R. PICKEN and W. LOTMAR, in press (1949).

² G. BOBIN and H. MAZOUÉ, *Bull. Soc. zool. Fr.* 69, 125 (1946).

³ K. H. MEYER and G. W. PANKOW, l. c.

⁴ I. J. B. SOLLAS, *Proc. Roy. Soc. B* 79, 474 (1907).

⁵ K. H. MEYER and H. WEHRLE, *Helv. chim. acta* 20, 353 (1937).

¹ K. H. MEYER and G. W. PANKOW, *Helv. chim. acta* 18, 589 (1935).