

kunst und den Transport des Materials in die See hinein und ferner alle Umweltfaktoren, welche schliesslich den Charakter des Gesteines bestimmen.

KUENEN hat sich als Teilnehmer der berühmten «Snelius»-Expedition schon früher mit den Korallenriffen beschäftigt. Hier gibt er eine vorzügliche Zusammenschauf des inzwischen enorm angewachsenen Tatsachenmaterials.

Mit Anteilnahme liest man die Neuentdeckungen der submarinen Geologie: die gewaltigen submarinen Canyons, eingeschnitten in den Kontinentalabfall und die einsamen Seeberge im Pazifischen Ozean.

Geologie ist Geschichte der Erde. Dass die submarine Geologie schon Geschichte der Erde ist und in der Zukunft noch mehr wird, zeigen die letzten Seiten des Werkes, darin die eustatischen Schwankungen des Meeres im Quartär und in der Jetzzeit abgehandelt werden.

Der Referent muss gestehen, dass ihm das Buch von KUENEN viel, sehr viel gegeben hat und dass er dankbar dieses Werk für sein Kolleg und allgemeine Vorträge benutzte. Überflüssig zu sagen, dass der Form, dem Inhalt und der Bibliographie die technische Aufmachung des Buches entspricht.

M. PFANNENSTIEL

## Modern Trends in Physiology and Biochemistry

*Woods Hole Lectures dedicated to the Memory  
of LEONOR MICHAELIS*

Edited by E. S. GUZMAN BARRON

538 pages with 137 figures

(Academic Press Inc., Publ., New York, 1952)  
(\$ 8.50)

Der Band enthält zwanzig Vorlesungen, die 1950 im Rahmen des Physiology Course in Woods Hole zu Ehren von Prof. L. MICHAELIS gehalten wurden. Geborener Deutscher, wirkte L. MICHAELIS lange Zeit als Biochemiker an der Johns-Hopkins-Universität und am Rocke-

feller-Institut; er wurde vor allem bekannt durch seine physikochemischen Untersuchungen über die Wirkungsweise der Fermente. Der ausserordentlich reiche Inhalt des Bandes, in dem erste Spezialisten über ihr Gebiet referieren, kann nur knapp angedeutet werden: E. S. G. BARRON besprach fermentative Oxydation-Reduktions-Systeme, BR. CHANCE die Beziehungen zwischen den Enzymen und ihrem Substrat, zwei Gebiete, die besonders von Prof. MICHAELIS grundlegend gefördert wurden. Der Vortrag von J. RUNNSTRÖM handelte die Struktur des Zytoplasmas und seine Rolle in Stoffwechsel, Wachstum und Differenzierung, der von D. MAZIA Struktur und Physiologie des Zellkerns. L. V. HEILBRUNN sprach über die Physiologie der Zellteilung. A. K. PARPART und R. BALLANTINE schilderten neue Untersuchungen über die Molekularstruktur der Erythrozyten-Zellmembran, M. H. JACOBS solche über ihre Permeabilität. Fünf Vorlesungen sind der Nervenphysiologie gewidmet: H. B. STEINBACH, H. GRUNDFEST, D. NACHMANSOHN und J. M. TOBIAS diskutierten das Kalium-Natrium-Gleichgewicht, die elektrischen Erscheinungen und die physikochemischen Veränderungen im Nerven während der Reizleitung, C. L. PROSSER besprach die vergleichende Physiologie des Nervensystems. In den Vorträgen von A. SZENT-GYÖRGYI, W. F. H. M. MOMMAERTS und Sr. W. KUFFLER kamen die Thermodynamik des Muskels, die Struktur seiner kontraktilen Eiweißstoffe und die Vorgänge beim Reizübertritt vom Nerven auf den Muskel zur Sprache. H. NEURATH berichtete über seine Untersuchungen am Ferment Chymotrypsin, einem Protein, das wegen seiner Kristallisierbarkeit in besonders reiner Form dargestellt werden kann. G. WALD behandelte die biochemischen Veränderungen im Laufe der Evolution der Wirbellosen und Wirbeltiere. Die Wirkungsweise bestimmter chemischer Stoffe auf Proteine und Zellen wurde von O. LOEWI und I. M. KLOTZ diskutiert, während zum Abschluss E. S. G. BARRON die Reaktionswege des oxydativen Kohlenhydratstoffwechsels schilderte. In allen Vorlesungen wird das Prinzip des Physiology Course in Woods Hole deutlich: die Lebenserscheinungen im molekularen Bereich zu erklären.

H. NÜESCH

## Informations - Informationen - Informazioni - Notes

### STUDIORUM PROGRESSUS

#### La trame protidique des nacres<sup>1</sup>

Par CH. GRÉGOIRE, GHISSLAINE DUCHATEAU et M. FLORKIN<sup>2</sup>, Liège

*Introduction.* Les coquilles calcaires des Mollusques sont intéressantes à des titres divers, qui relèvent de la zoologie systématique, de la biochimie et de la géochimie. Elles sont des structures complexes résultant de l'acti-

vité de diverses formations cellulaires. Dans un certain nombre d'exemples, l'un de leurs constituants est la structure qui a reçu le nom de nacre.

Il est généralement admis dans la littérature que la nacre, formant la couche interne de la coquille chez certains Pélécypodes, Gastéropodes et Céphalopodes, est constituée de lamelles très minces, alternativement organiques et calcaires (cristaux d'aragonite) disposées en assises serrées, parallèles les unes aux autres<sup>1</sup>. L'épaisseur des lamelles calcaires varie entre 0,6  $\mu$  et 8  $\mu$  suivant les espèces.

<sup>1</sup> La littérature abondante concernant la question est analysée en détail dans les travaux classiques de W. VON NATHUSIUS-KÖNIGSBORN (1877), R. MOYNIER DE VILLEPOIX (1892), O. RÖMER (1903), H. L. JAMESON (1912), W. BIEDERMANN (1914) et W. J. SCHMIDT (1924).

<sup>2</sup> Laboratoires de Biochimie de l'Université de Liège, Belgique.

Les lamelles organiques sont élaborées par appositions périodiques successives du produit de sécrétion de certaines catégories de cellules de l'épithélium palléal. Ces lamelles organiques apparaissent à l'examen microscopique de la nacre polie comme des lignes de démarcation d'une finesse extrême entre les lames calcaires, relativement beaucoup plus épaisses.

La structure feuilletée de la matière organique apparaît distinctement lorsque celle-ci est libérée de sa gangue minérale par l'action d'agents décalcifiants. Elle se présente alors sous forme de membranes ou de pellicules molles superposées, translucides et iridescentes. Les données relatives à la structure de ces pellicules organiques sont peu nombreuses, et sont contradictoires. En lumière polarisante, elles seraient isotropes

selon les uns<sup>1</sup> et présenteraient, selon d'autres<sup>2</sup>, des phénomènes de biréfringence. Au microscope ordinaire, on n'a pu y discerner la moindre trace d'organisation, même après l'emploi de carmin boracique, de picr-carmin de RANVIER, d'hématoxyline et de teinture de cochenille, qui les colorent énergiquement<sup>3,4</sup>.

Les seules informations que l'on ait sur la composition en acides aminés des lames organiques de la nacre sont celles qu'ont recueillies ROCHE, RANSON et EYSERRIC-LAFON<sup>4</sup>, dont les analyses ont porté sur la matière globale des lames.

La nature très stable de la matière scléroprotéinique qui constitue les lamelles organiques de la nacre en fait un matériel convenant particulièrement à l'étude parallèle des extractions chimiques et des modifications concomitantes de la morphologie submicroscopique. Cette étude est encore favorisée par le fait que la structure feuilletée que laisse la décalcification d'une nacre ou d'une perle est clivée par l'action des ultra-sons en lamelles ou fragments de voiles d'une grande minceur, propices à l'étude au moyen du microscope électronique.

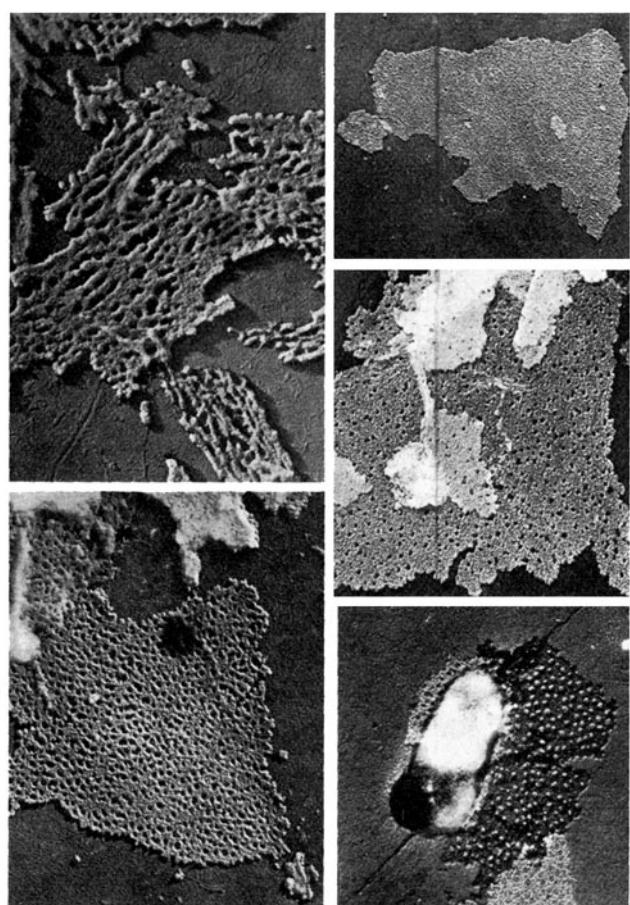


Fig. 1. *Nautilus macromphalus* Sowerby (Céphalopode). 165. 30. 12. 52 ± 4 E. Ombrage à l'or-palladium.  $\times 14500$ .

Fig. 2. *Astrea olivacea* Wood (Gastéropode). 133. 23. 12. 52 ± 3 C. Ombrage à l'or-palladium.  $\times 14000$ . — Par suite de l'absence de dia-phragme dans l'objectif, la lumière du filament, transmise sans obstacle, est enregistrée au centre des clichés sous forme d'une tache ronde (en noir sur les épreuves négatives; Fig. 2, 6 et 7).

Fig. 3. *Mytilus edulis* LINNÉ (Pélécypode). 166. 25. 3. 52 ± 6 A. Ombrage au palladium.  $\times 14000$ .

Fig. 4. *Pinctada (Pteria. Meleagrina) margaritifera* LINNÉ (Pélécypode). 146. 25. 3. 52 ± 9 A. Ombrage au palladium.  $\times 14000$ .

Fig. 5. *Umbonium giganteum* LESSON (Gastéropode). 156. 27. 11. 51 ± 1B. Réplique de lamelle semi-humide. Ombrage au palladium. Epreuve négative. Le moulage de la lamelle apparaît en creux, celui des pores en relief. Une bactérie (en blanc sur l'épreuve négative) a été partiellement détachée du verre avec le moulage.  $\times 14000$ .

#### Etude de la structure et des constituants des lamelles organiques.

Des pellicules organiques de nacre de 25 espèces de Pélécypodes, de 15 espèces de Gastéropodes et d'une espèce de Céphalopode ont été examinées au microscope électronique (R.C.A., EMU), après ou sans immersion dans l'acide osmique (2%) et après délamination par les ultra-sons.

Les lamelles apparaissent criblées de plages claires arrondies ou allongées (cavités ou pores), qui leur donnent l'aspect de dentelles.

Le diamètre des pores, leur répartition dans les lamelles et par suite le dessin des dentelles, accusent des différences entre les trois classes de mollusques étudiés<sup>5</sup>.

Chez *Nautilus macromphalus* (Céphalopode), les pores sont allongés, irrégulièrement ovales. Les travées de substance qui les entourent montrent des inégalités de densité ou d'épaisseur. Dans les préparations ombrées, les travées apparaissent sous forme de cordons ou de bandelettes plus ou moins aplatis, parsemées de petites élévations arrondies (Fig. 1).

Chez plusieurs espèces appartenant à différents genres de Gastéropodes, les pores, plus petits que les structures correspondantes dans les pellicules de *Nautilus*, sont généralement arrondis et le dessin des dentelles est plus régulier. Sur les préparations ombrées, les travées de substance délimitées par les pores apparaissent aussi sous forme de bandelettes occasionnellement parsemées d'élévations arrondies (Fig. 2).

Chez les Pélécypodes, la trame des dentelles est distinctement plus serrée que dans les deux classes précédentes, et les pores, très petits, sont rapprochés les uns des autres ou clairsemés (Fig. 3). Dans les pellicules de *Pinctada (Pteria. Meleagrina) margaritifera*, s'observent des pores relativement larges, analogues à ceux des Gastéropodes. Ils sont toutefois moins nombreux, plus

<sup>1</sup> W. BIEDERMANN, dans *Handbuch der vergleichenden Physiologie* de H. WINTERSTEIN, 3, I/1 (Verlag Gustav Fischer, Jena) 1914, 319.

<sup>2</sup> W. J. SCHMIDT, Zool. Jb. (Anat.) 45, 1 (1924).

<sup>3</sup> R. MOYNIER DE VILLEPOIX, J. Anat. Physiol. 28, 461 et 582 (1892).

<sup>4</sup> J. ROCHE, G. RANSON et M. EYSERRIC-LAFON, C. r. Soc. Biol. 145, 1474 (1951).

<sup>5</sup> Notes préliminaires dans Arch. intern. Physiol. 57, 121 (1949); 58, 117 (1950); 58, 483 (1951); 59, 257 (1951); J. Physiol. 43, 889 (1951); C. r. Congrès intern. Micr. électr., Paris, septembre 1950.

Teneur en 15 acides aminés (azote de chaque acide aminé en % d'azote total) des trois fractions de la trame protidique de la nacre d'un Pélécyptode (*Pinctada margaritifera*), d'un Gastéropode (*Trochus* sp.) et d'un Céphalopode (*Nautilus macromphalus*) \*

Acides aminés	Extrait au borate (nacrène)			Extrait à la soude (nacrosclérotine)			Résidu insoluble (nacroïne)		
	<i>Pinctada</i>	<i>Trochus</i>	<i>Nautilus</i>	<i>Pinctada</i>	<i>Trochus</i>	<i>Nautilus</i>	<i>Pinctada</i>	<i>Trochus</i>	<i>Nautilus</i>
Alanine . . . . .	5,4	5,4	8,3	15,3	14,4	19,7	61,6	35,8	30,3
Arginine . . . . .	13,4	11,4	8,7	3,9	5,3	6,0	2,5	4,7	3,5
Acide aspartique . . . . .	16,1	15,5	23,4	11,2	4,7	12,4	1,7	1,3	1,7
Acide glutamique . . . . .	4,2	3,3	4,1	0,09	1,3	1,2	0,6	3,8	3,3
Glycocolle . . . . .	28,4	19,0	15,1	39,4	41,1	22,0	18,9	15,1	5,6
Histidine . . . . .	0,5	1,2	0,7	0,02	0,08	0,05	0,0	0,1	0,1
Isoleucine . . . . .	2,5	1,0	1,5	0,5	1,4	1,1	0,5	1,2	1,5
Leucine . . . . .	4,7	2,7	3,6	4,7	1,0	1,5	4,5	1,8	1,2
Lysine . . . . .	3,8	1,8	3,1	0,0	0,0	0,5	0,0	0,1	1,6
Méthionine . . . . .	0,5			2,0	0,7	0,2	0,0	0,2	0,1
Phénylalanine . . . . .	1,9	5,8	3,5	0,7	2,6	1,8	0,9	2,1	1,0
Proline . . . . .	3,5	3,1	4,6	0,1	0,4	0,9	0,0	0,4	1,6
Thrénanine . . . . .	2,0	1,5	2,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0
Tyrosine . . . . .	3,6	2,1	0,6	0,3	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0
Valine . . . . .	2,2	2,2	3,6	1,0	0,7	1,6	2,1	1,2	3,0

\* Les Nautilés sont les seuls Céphalopodes vivants dont la coquille contienne une nacre.

espacés, et les travées intermédiaires ont l'aspect de la trame serrée des Pélécyptodes (Fig. 4).

Dans le matériel organique provenant de perles d'aragonite, on retrouve les lamelles perforées avec les caractères de la nacre normale correspondante.

Les différences de structure ont été appréciées quantitativement à l'aide d'un procédé élaboré par P. BOURGEOIS et R. COUTREZ, utilisant l'élément le plus accessible aux mensurations, le pore des dentelles. Les résultats seront exposés dans un travail *in extenso*: ils corroborent les données fournies par l'examen direct des micrographies.

Les pellicules protidiques abandonnent à une solution de borate sodique, d'alcool et d'éther de pH 9,2, à 53°C, un constituant dont la teneur en 15 acides aminés, dosés par voie microbiologique, a été déterminée (voir Tableau). Après l'extraction de ce constituant, le clivage par les ultra-sons paraît s'effectuer plus rapidement que la délamination des pellicules non traitées. La structure en dentelles subsiste: on retrouve sur les micrographies les dalles ou paillettes aplatis perforées de pores. L'élargissement des pores et l'amincissement des travées ont été observés dans certaines préparations.

Un deuxième constituant peut être extrait par la soude à 5 g/100 ml agissant à 53°C pendant 5 h. Cette deuxième fraction de la trame protidique n'a pas la même composition que la première (voir Tableau), au moins en ce qui concerne les 15 acides aminés dosés: elle a notamment une teneur plus élevée en alanine et en glycocolle et une teneur moindre en arginine. Si le résidu obtenu après les deux extractions est débarrassé de la soude par lavages répétés à l'eau bidistillée, puis mis en suspension dans l'eau bidistillée, il se présente sous forme de flocons ou d'amas de filaments. L'aspect moiré, irisé, est aboli, même après action des ultra-sons. Les structures en dalles perforées de pores ont disparu. Elles sont remplacées par un matériel hétérogène, dont l'élément le plus représentatif est constitué par des réseaux ou des agrégats de fibres, fibrilles ou de filaments faiblement contrastés (Fig. 6 et 7).

Après hydrolyse, la détermination des 15 acides aminés déjà dosés dans les autres fractions ne révèle pas, dans la troisième, l'existence de tous les acides aminés habituellement présents dans les protéines. Dans la

troisième fraction de la trame protidique de la nacre de *Pinctada margaritifera*, la grande huître perlière, l'azote

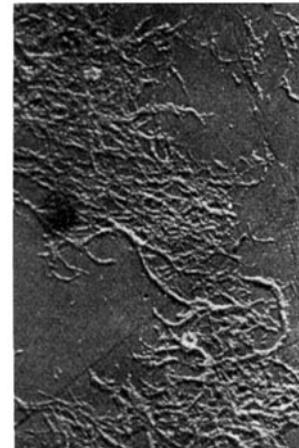


Fig. 6. *Nautilus macromphalus*. 198. 16. 6. 53 ± 1B. Résidu de pellicule après extraction par le borate et par la soude. Matériel non fixé, dissocié par les ultra-sons.  $\times 14000$ .

de l'alanine et du glycocolle réunis constitue 80,5% (61,6 + 18,9) de l'azote total, et l'analyse n'a pas révélé

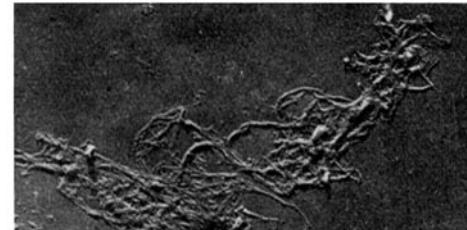


Fig. 7. *Pinctada margaritifera*. 193. 19. 12. 52 ± 11D. Résidu de pellicule après extraction par le borate et par la soude. Matériel non fixé, non traité par les ultra-sons. Ombrage à l'or-palladium.  $\times 14500$ .

de quantités dosables, par la méthode utilisée, d'histidine, de lysine, de méthionine, de proline et de thrénanine (voir Tableau).

*Discussion.* L'interprétation des structures (pores, différences dans le dessin des dentelles) doit tenir compte de plusieurs artefacts possibles, produits au cours de la préparation et de l'examen du matériel: décalcification, fixation, ultra-sons, dessiccation, bombardement par les électrons. On a cherché à contrôler ou à éviter ces artefacts.

1° Les pellicules organiques non minéralisées d'*Anodontia cygnea* possèdent des cavités ou pores semblables à ceux que l'on trouve dans les pellicules obtenues par décalcification des coquilles de la même espèce.

2° Les structures sont identiques dans le matériel fixé et non fixé. La fixation peut produire, si elle se prolonge, une rétraction modérée, mais elle n'altère pas l'aspect caractéristique du spécimen.

3° Les structures apparaissent, sans utilisation des ultra-sons, dans les lambeaux déchiquetés de voiles minces situés en bordure des fragments opaques, obtenus par broyage au mortier des pellicules organiques. L'action prolongée des ultra-sons peut provoquer en bordure des lamelles ultra-fines l'élargissement des pores et la dislocation des travées. Ces modifications sont aisément reconnaissables du fait de la présence simultanée dans les préparations de tous les stades du clivage.

4° Le contrôle des effets de la dessiccation a été réalisé à l'aide de répliques humides en formvar ou en collodion de lamelles organiques ultra-sonées et sédimentées sur verre. Dans les moussages ombrés de ces lamelles, la réplique des pores apparaît sous forme de boutons en saillie sur le plan de mouillage de la surface des lamelles (Fig. 5). Il est d'ailleurs peu probable *a priori* que des artefacts de dessiccation puissent jouer un rôle important dans l'altération du présent matériel: on sait que les modifications provoquées par la dessiccation sont d'autant moins importantes que les structures contiennent moins d'eau à l'état normal. Dans les coquilles, le matériel organique enrobé dans la gangue minérale est sec ou faiblement hydraté à l'état normal.

5° Pour l'examen du présent matériel, deux sortes de canons (zero biased gun et self biased gun) ont été utilisées. L'illumination intense des spécimens a été rendue responsable d'artefacts variés, tels que vacuolisations, contractions, étirements (RICHARDS et ANDERSON<sup>1</sup>). Ces artefacts risquent de devenir plus fréquents depuis l'emploi du self biased gun (WATSON<sup>2</sup>). On peut les éviter en réduisant l'intensité du flux au minimum compatible avec les observations et enregistrements. Des dalles organiques ultra-sonées provenant de plusieurs espèces ont été soumises à titre de contrôle à des séries d'illuminations intenses et prolongées sans que l'on constate de vacuolisation dans les plages dépourvues de pores.

6° Un contrôle supplémentaire des sources possibles d'artefacts qui viennent d'être examinés a été réalisé à l'aide de pellicules organiques intervenant dans la constitution du calcitostracum.

On sait que malgré leur aspect nacré, la région interne de certaines coquilles est constituée, non d'aragonite, mais de calcite, et n'est pas considérée comme de la nacre véritable. La région interne de la coquille de plusieurs Pélécypodes dépourvus de nacre a été soumise aux mêmes manipulations que les pellicules de nacre. Au

microscope électronique, on observe un matériel hétérogène, dont l'élément le plus représentatif est constitué par des dalles amorphes, vitreuses, parfois granuleuses, dépourvues de pores visibles, dans les présentes conditions d'observation.

Les résultats précédents semblent suggérer que les pores et les variations dans le dessin des dentelles caractérisent l'architecture normale des fines lamelles de clivage des pellicules protidiques de nacre. Les différences enregistrées dans le dessin des dentelles chez les Gastéropodes, Pélécypodes et le Céphalopode examinés possèdent la valeur d'un caractère zoologique, à cette échelle de l'organisation. Il a aussi été constaté que plusieurs espèces appartenant à un même genre présentent entre elles des ressemblances assez étroites qui distinguent leurs lamelles protidiques de celles d'espèces appartenant à d'autres genres de la même classe de mollusques.

Comme l'extraction par le borate ne modifie pas ou modifie peu l'aspect des lamelles, on peut supposer que le matériel éliminé par le borate est de faible épaisseur ou de faible densité, et qu'il est réparti dans les lamelles non traitées sous forme d'une mince couche superficielle. On peut également supposer que les structures fibrillaires, mises en évidence après action de la soude, existent à l'état normal dans les pellicules organiques, mais qu'elles y sont masquées par les substances extraites par la soude. A l'appui de cette hypothèse, on peut signaler le fait que des structures présentant certaines ressemblances avec des fibres et enrobées dans les travées des lamelles s'observent dans certaines préparations. D'autre part, sous l'action prolongée des ultra-sons, la trame de certaines lamelles se disloque en réseaux lâches, en bandelettes allongées, ondulées, parfois entrelacées en treillis et qui présentent certaines ressemblances avec les agrégats fibreux des résidus d'extraction par la soude.

La disposition des agrégats filamentueux, telle qu'elle apparaît sur les micrographies, ne correspond probablement plus à l'architecture initiale: celle-ci est modifiée par la dissociation mécanique au cours du traitement chimique. Les tensions de surface au cours de la dessiccation des suspensions sédimentées sur les films de support contribuent aussi à altérer la disposition des filaments.

### Summary

When decalcified nacre is treated with ultrasonic waves, the organic matrix resolves itself into very thin lacelike protidic leaflets, which can be studied with the electron microscope. Controls have been made showing that the lacelike structure is not an artifact due to decalcification, fixation, treatment with ultrasonic waves, dessiccation or electronic bombardment.

The ultramicroscopic structure of the lacelike mesh-work differs with the species. At this level, morphological features appear to characterize the three classes of Molluscs studied (Lamellibranchia, Gastropoda, Cephalopoda), and perhaps different genera within the same class. The extraction, by a borate buffer, of a water-soluble constituent of the protidic material does not appreciably modify the appearance of the structures studied. The extraction, by a sodium hydroxyde solution, of a second component, leaves a fibrous residue rich in alanine and glycine.

<sup>1</sup> A. G. RICHARDS jr. et T. F. ANDERSON, J. Morphol. 71, 135 (1942).

<sup>2</sup> J. H. L. WATSON, J. Applied Physics 19, 713 (1948).