

Animalisation de l'œuf de l'oursin *Paracentrotus lividus* par des substances polysulfoniques

Au cours de travaux antérieurs¹, nous avons mis en évidence les effets animalisants des colorants acides sur le développement de l'œuf de l'oursin *Paracentrotus lividus*. Les colorants étudiés appartiennent à deux séries chimiques distinctes: série azoïque avec le rouge Congo, le bleu et le rouge Trypan et dérivés du triphénylméthane avec le bleu à l'eau et le bleu de méthyle. Ces colorants présentent en commun des propriétés acides liées à la présence de groupes sulfoniques. Leurs effets animalisants communs, malgré leurs différences de structures apparaissent ainsi étroitement liés à la présence de ces groupes sulfoniques. Afin d'étendre et de préciser cette relation nous examinons ici des substances dont la molécule porte plusieurs groupes sulfoniques. Il s'agit du chlorazol sky blue (Colour index N. 518) et de la Germanine (Bayer 205). Le chlorazol sky blue appartient au groupe des colorants azoïques et porte 4 groupes sulfoniques par molécule. La Germanine est une polyamide de poids moléculaire élevé, portant deux groupes terminaux acides naphthalène polysulfoniques.

Le chlorazol sky blue est très soluble dans l'eau. A la concentration $1/5000$, le rythme de la division cellulaire n'est pas modifié. L'éclosion est retardée. Les embryons présentent les caractères morphologiques de l'animalisation. Ce sont des blastulas sphériques avec l'épaississement apical très marqué s'étendant très largement latéralement. L'extension considérable de la touffe ciliée apicale accompagne celle de l'épaississement apical. Les cils sont extrêmement longs, flexueux et mobiles. Leur activité imprime à l'embryon un mouvement de propulsion hélicoïdal autour de l'axe animal-végétatif. L'archentéron est absent, ainsi que les spicules. Un groupe de cellules mésenchymateuses, rondes, intensément colorées en bleu, est localisé au pôle végétatif.

Quelques cellules mésenchymateuses, de forme étoilée, tapissent la face interne du blastocèle. Elles sont colorées en bleu pâle. Des cellules pigmentaires rondes sont dispersées également contre les parois du blastocèle. Les parois ectodermiques sont colorées en mauve. Les cultures dans le chlorazol sky blue présentent une très grande homogénéité, tous les embryons étant animalisés au même degré. Comparée à celle des témoins, leur viabilité est élevée. Après 48 h, ces embryons ont conservé leur structure, et des cils courts très mobiles recouvrent toute leur surface. Dans quelques cultures, les embryons outre les caractères morphologiques que nous venons de décrire, se signalent par la présence d'un ou plusieurs petits bourgeons courts, pleins, au pôle végétatif. Ces bourgeons sont très nettement colorés en bleu et possèdent souvent, inclus dans leur masse, une ou deux cellules pigmentaires. Dans les solutions plus diluées, $1/25000$ par exemple, les embryons sont radialisés de façon caractéristique: le lobe préoral très large et allongé est bordé d'un ectoderme épais garni de longs cils. Le champ anal est entouré d'une bande ciliée. L'archentéron non segmenté occupe une position axiale. Les spicules, au nombre de 4 à 6 en général, sont ramifiés et forment une couronne entourant l'archentéron dans sa région moyenne. La radialisation est également observée dans les solutions à $1/100000$. Même à ces dilutions élevées, les effets du colorant sont remarquable-

ment homogènes, toutes les larves présentant les mêmes caractères. Le chlorure de lithium à dose convenable s'oppose aux effets animalisants du chlorazol sky blue.

La Germanine, utilisée à concentration $1/5000$ inhibe l'invagination, l'archentéron reste de petite taille. Ultérieurement celui-ci peut d'ailleurs s'évagner plus ou moins. Ni la plaque apicale, ni la touffe ciliée qui le recouvre ne présentent l'extension caractéristique de l'animalisation. En solution plus concentrée, $1/1000$, $1/500$ et $1/100$, la Germanine retarde notablement l'éclosion et les larves sont animalisées. Ce sont des blastulas sphériques avec un épaississement ectodermique apical très agrandi s'étendant en direction latérale et recouvert de longs cils. Les caractères de l'animalisation sont développés au maximum dans les solutions de Germanine à $1/100$. L'archentéron manque dans toutes ces larves. Des cellules mésenchymateuses rondes sont localisées au pôle végétatif. Les spicules et les cellules pigmentaires manquent. Ces cultures sont très homogènes, tous les embryons présentant le même type morphologique. La viabilité de ces embryons, assez faible, est inversement proportionnelle à la concentration de la solution.

Si l'on compare les effets du chlorazol sky blue d'une part et de la Germanine d'autre part, avec ceux des colorants précédemment étudiés, on remarque que, à concentration égale, les effets du chlorazol sky blue sur le développement sont comparables à ceux obtenus avec les colorants sulfonés de la série azoïque. Les résultats obtenus avec le chlorazol sky blue sont toutefois plus homogènes qu'avec ces derniers. Il est probable que la nature colloïdale du bleu trypan et du rouge Congo en ralentissant leur pénétration dans l'embryon, diminue leur efficacité. Ces remarques apparaissent encore plus nettement dans le cas de la Germanine. Cette substance n'étant pas colorée, il n'est pas possible de mettre directement en évidence sa présence dans l'embryon, mais il est fort probable qu'en solution diluée, la Germanine ne puisse pénétrer à l'intérieur de l'embryon. Ceci n'exclut évidemment pas une fixation de la Germanine à la surface de l'embryon. Une élève de RUNNSTRÖM, WIKLUND² a montré en effet que la Germanine inhibe la fécondation. Cette réaction impliquerait une fixation de la Germanine à la surface de l'œuf. Le fait qu'aux concentrations peu élevées, la Germanine n'ait accès qu'aux structures superficielles de l'œuf et de l'embryon joint à la constatation que ces faibles concentrations ne provoquent pas l'animalisation, permet de penser que la pénétration de la Germanine à l'intérieur de l'embryon et sa combinaison avec des éléments intracellulaires sont nécessaires pour obtenir l'animalisation des larves. Une étude parallèle portant sur les propriétés animalisantes des ions zinc nous a permis d'établir un rapprochement entre le mode d'action des ions des métaux lourds et les colorants sulfoniques et la participation de groupes basiques des protéines (LALLIER³). Outre la présence de ces groupes sulfoniques, la nature du squelette moléculaire intervient dans l'activité de ces substances. C'est sans doute leur noyau dérivé du triphénylméthane, qui confère leur toxicité aux bleus d'aniline sulfonés. La taille de la molécule joue également un rôle important. Les recherches de WILLS⁴ ont mis en évidence des différences de réactivité vis-à-vis des protéines et des enzymes, en particulier entre différentes substances mono- ou polysulfoniques, selon qu'elles existent à l'état d'ions ou de micelles. Ces données appliquées au problème de

¹ R. LALLIER, C. r. Soc. biol. 148, 1730 (1954); Exper. Cell Res. 9, 232 (1955).

² E. WIKLUND, Ark. Zool. 6, 485 (1954).

³ R. LALLIER, J. Embryol. exp. Morph. (sous presse).

⁴ E. D. WILLS, Biochem. J. 57, 109 (1954).

l'animalisation apparaissent susceptibles d'en éclaircir le mécanisme.

Les substances à groupements sulfoniques provoquent également la radialisation des larves. GUSTAFSON et SÄVHAGEN⁵ l'ont observée avec différents détergents. Nous avons d'autre part montré que les colorants sulfoniques exerçant un effet radialisant en solutions diluées, sont de puissants agents animalisants aux concentrations plus élevées. Cette relation s'observe également avec certains ions de métaux lourds chez *Paracentrotus lividus* (LALLIER⁶). La radialisation apparaît ainsi comme une forme mineure de l'animalisation.

R. LALLIER

Institut de Biologie Physico-chimique, Paris, le 6 mars 1956.

Summary

The effects of two compounds with sulfonic acid groups, chlorazol sky blue and Germanin (Bayer 205), are being studied on the developing egg of the sea urchin, *Paracentrotus lividus*. The chlorazol sky blue ($1/5000$) is a very effective animalizing agent. In dilute solutions ($1/25000$ and $1/100000$), it induces the development of radial larvae. The lithium chloride counteracts the animalizing effects of chlorazol sky blue. The Germanin has an animalizing effect only at high concentrations. The penetration of these agents appears essential for the animalization. The reaction of the sulfonic acid groups with the basic groups of the intracellular proteins appears to be concerned with the animalizing effect. The results of these experiments are discussed in relation to the animalizing effects of various sulfonated dyes and zinc ions.

⁵ T. GUSTAFSON et R. SÄVHAGEN, Ark. Zool. 42 A, N° 10, 1-6 (1950).

⁶ R. LALLIER, Arch. Biol. 66, 75 (1955).

Effect of Seed Treatment on Sex Expression in the Cucumber

Investigations conducted by various authors, as reviewed by LEOPOLD¹ showed that treatment of seeds with plant growth substances, whether followed by vernalization or not, resulted in earlier flowering in a number of plant species. In preliminary studies² only plant growth substances were utilized, while in later experiments³ the combined effect of auxin and cold treatment, a case of "chemical vernalization", was investigated. Chemical vernalization proved effective in peas, as well as in other plants.

In attempts to change the "sex tendency"⁴, i.e., the ratio between pistillate and staminate flowers of a given individual, in the cucumber, a monoecious species, the petioles of the lower leaves were cut and the cut sur-

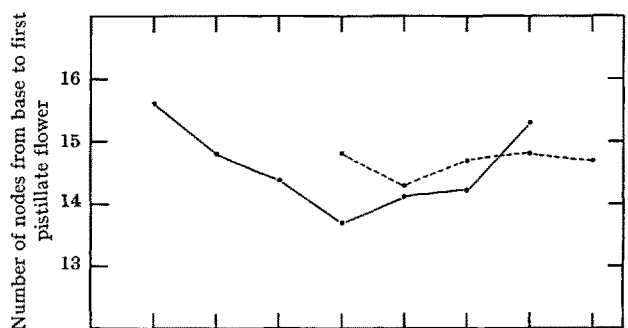
faces of the plant were treated with auxin paste⁵. This treatment brought about an increase in sex tendency.

Data accumulated in our laboratory⁶ show, that the number of nodes preceding the first pistillate flower on the main axis of a cucumber plant is a good indicator of sex tendency. Indeed, node number is less variable than the pistillate/staminate ratio, used previously by other workers to denote sex expression. Furthermore, while the latter is obtained by counting numerous flowers on each plant, quite a time-consuming procedure, node number can be determined in a few seconds. The effect of seed treatment on sex tendency in cucumbers was therefore studied by following the change in node number. The subject of the present paper will be confined to the effect of seed treatment upon node number. The relationship between node number and sex expression will be discussed in detail elsewhere⁶.

The Table shows the results of an experiment conducted in 1954. Two varieties of cucumbers were used: Yorkstate and Beit-Alpha. Samples of seed, soaked in various solutions of naphthaleneacetic acid (NAA), ranging in concentration from 0.001 to 1.0 ppm, were placed under laboratory conditions for 18 h, they were then maintained at 3°C for 3 days and planted in the open field. During the blooming period, the mean node number to the first pistillate flower was calculated on the basis of 10 plants per treatment. The data show that cold treatment alone is effective in reducing the node number of the variety Yorkstate, but not significantly so in the case of the variety Beit-Alpha. The 0.1 ppm NAA solution has the most pronounced effect on node number in both varieties, while the highest concentration of NAA (1.0 ppm) delayed the appearance of the first pistillate flower.

It should be emphasized that chemical treatment alone, applied in another experiment, had no effect on node number.

Additional tests, carried out in 1955, confirmed essentially the results obtained during the previous year. Indoleacetic acid (IAA) which was included in these trials produced an effect similar to, but less pronounced than NAA.



Control a Control b 0.001 0.01 0.1 1.0 10.0 100 ppm

The effect of chemical vernalization on the occurrence of the first female flower on the main axis of *Cucumis sativus* L. (var. Packer). Control a: without cold treatment; control b: with cold treatment. Smooth line: NAA; broken line: MH; (LSD at 5% level = 1.04; at 1% level = 1.41).

¹ A. C. LEOPOLD, *Auxins and Plant Growth* (University of California Press, 1955).

² P. S. TANG and S. W. LOO, Amer. J. Bot. 27, 385 (1940).

³ A. C. LEOPOLD and F. S. GUERNSEY, Amer. J. bot. 41, 181 (1954).

⁴ O. SHIFRIS, *Genetics*, 1956 (in press).

⁵ F. LAIBACH and F. J. KRIBBEN, Ber. dtsch. Bot. Ges. 67, 53 (1950).

⁶ O. SHIFRIS and E. GALUN, Proc. Amer. Assoc. hort. Sci. 1956 (in press).