

Emb. 2472, 12 day. Ecto- and mesoderm from the pre-axial border of the wing and hind-limb anlage (St. 23^{1/2}) grafted to the distal third of the same limb buds (cf. inset). Digits (arrows) developed from the graft.

Under the conditions of the present experiments, the formation of terminal parts of the limb from mesenchymal territories which do not give rise to fingers in the normal development should depend on influences exerted by the distal mesodermal districts of the host limb bud upon the grafted pre-axial mesenchyme, as previously suggested by other experiments (AMPRINO and CAMOSSO³).

Résumé. De nouvelles données expérimentales semblent confirmer l'hypothèse que chez l'embryon de poulet le développement des extrémités peut s'effectuer indépendamment de l'influence inductrice de l'épaississement apical de l'ectoderme.

R. AMPRINO and M. CAMOSSO

Istituto di Anatomia umana, Università di Bari (Italy), August 1, 1960.

PRO EXPERIMENTIS

L'enregistrement microphotographique des courants d'eau autour d'un cilié

L'observation des courants d'eau provoqués par les cils des infusoires ciliés est d'une importance remarquable dans les études du fonctionnement de l'appareil ciliaire et de la cinétique générale du mouvement ainsi que dans les recherches sur l'absorption des particules alimentaires.

Il n'existe à présent qu'une méthode d'analyse de ces courants – l'observation immédiate et le dessin à main du mouvement des particules suspendues dans le milieu liquide agité par le cilié. Cette technique était employée par plusieurs chercheurs, le plus souvent dans le cas des paramécies introduites dans une suspension de l'encre de Chine¹.

C'est la méthode d'enregistrement macrophotographique des trajectoires des paramécies mêmes², qui inspire à chercher un procédé microphotographique donnant l'image exacte des courants d'eau dus au battement ciliaire. L'idée essentielle se réduit au fait qu'une particule bien éclairée se déplaçant dans l'espace obscur peut marquer la trace de son trajet sur la pellicule photographique pendant une exposition assez longue.

Pour obtenir le champ sombre on a employé un condensateur conique à fond noir relié à la face inférieure du porte-objet par l'huile de cèdre. Le miroir du microscope était éclairé par une lampe très forte (15000 Lux sur le miroir). Les particules suspendues qui font marquer les microcourants d'eau doivent bien réfléchir la lumière et conserver les dimensions assez homogènes de quelques microns de diamètre. Ce sont les émulsions des graisses en général et le lait en particulier, qui répondent bien aux conditions données. Le lait ordinaire qui est nocif pour les protozoaires, dilué 1:10 est déjà convenable dans le cas de *Paramecium caudatum* et de *Stentor coeruleus* employés dans cette étude. Les poses étaient prises sur les pellicules Agfa Isopan-ISS de sensibilité 21° DIN (100 ASA), l'exposition variant de 1–3 sec. L'agrandissement 280 × (l'objectif 40 ×) donnait les meilleurs résultats.

Les cils d'une paramécie arrêtée contre une fibre de coton ne cessent pas de travailler et ils produisent un grand tourbillon le long du corps, les cils antérieurs amenant l'eau du devant de l'animal (Fig. 1). Les particules d'émulsion, qui se trouvent tout près de la surface ciliée de la paramécie présentent souvent un mouvement sinusoïdal dont le trajet correspond par son allure au métachronisme du mouvement ciliaire (Fig. 2). Quant aux battements des cils dans la région péristomale de la paramécie, la méthode d'enregistrement microphotographique met nettement en évidence leur rôle et la manière d'agir dans l'attraction et l'absorption de la nourriture (Fig. 3). Pour arriver à des résultats irréprochables on peut faire passer les paramécies 48 h avant l'enregistrement par une solution de 5 mM d'hydrate de chlorale, qui détruit les cils locomoteurs sans toucher les cils péristomaux³. Dans le cas de *Stentor coeruleus* les courants alimentaires peuvent également être enregistrés en dépit du fait que l'animal même, qui se tient debout au-dessous du niveau photographié, reste invisible (Fig. 4).

L'enregistrement des courants d'eau autour d'un cilié qui se déplace est beaucoup plus difficile que dans le cas d'un cilié immobile. Pendant les quelques secondes nécessaires pour photographier les courants, l'animal change considérablement sa position, donc le propre mouvement de tout son corps efface complètement l'image délicate des trajets suivis par les particules de l'émulsion. L'immobilisation de la paramécie obtenue par des changements de la viscosité du milieu ne donne aucun résultat, étant donné que les substances colloïdales introduites dispersent la lumière, détruisant l'effet du champ noir. Il ne reste qu'à ralentir la locomotion en travaillant dans une chambre froide ($t = + 2^{\circ}\text{C}$) et à enregistrer dans ces conditions

¹ H. S. JENNINGS, *Behavior of the Lower Organisms* (Columbia University Press, New York 1931), p. 1.

² S. DRYL, *Bull. Acad. pol. Sci., S. Sci. Biol.* 6, 429 (1958).

³ A. GREBECKI et L. KUŹNICKI, *Immobilisation of Paramecia in the Chloralhydrate Solutions*, sous presse.

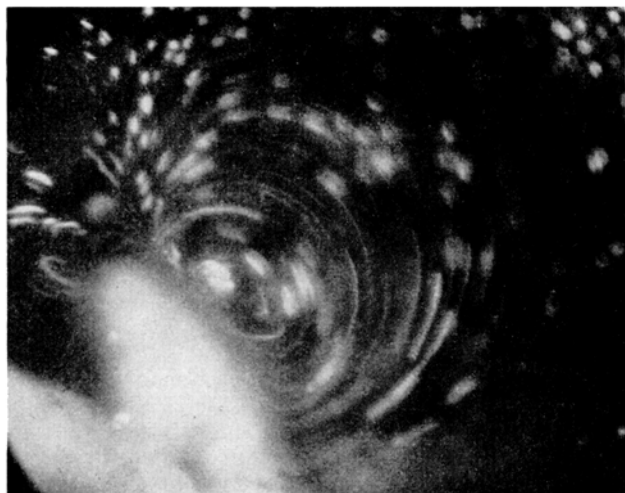


Fig. 1

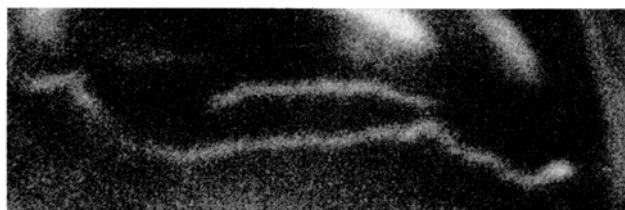


Fig. 2



Fig. 3

les mouvements d'eau entourant la partie antérieure de l'animal qui entre dans le champ d'observation, ou les courants laissés en arrière par une paramécie qui est en train de sortir du cadre.

Les premières observations indiquent que la méthode d'enregistrement microphotographique est également utilisable dans le cas d'autres êtres unicellulaires munies de cils ou de flagelles. En comparaison avec la méthode classique du dessin, elle élimine l'influence d'une impression subjective du chercheur, elle permet d'analyser toute l'image compliquée simultanément dans tous ses détails, et enfin elle semble remplacer une illustration par des documents qu'on peut obtenir en nombre voulu.

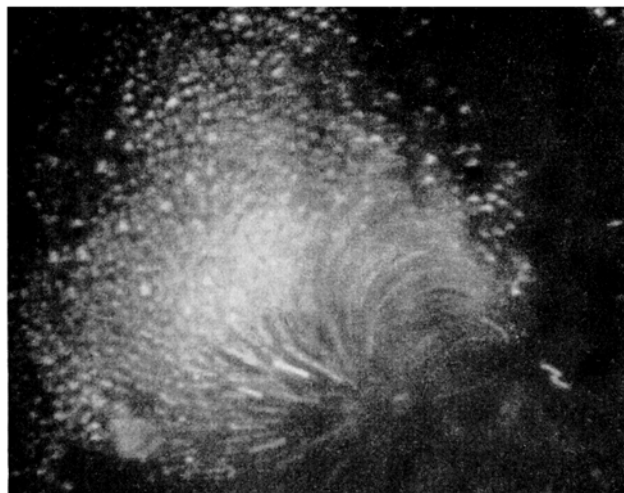


Fig. 4

Summary. The movement of a liquid medium around a protozoan cell evoked by cilia was registered microphotographically. Bright illuminated particles of emulsion or suspension, photographed in the dark field during a long exposure time, mark a course of the water microstreams.

A. GREBECKI

Institut Nencki de la Biologie expérimentale, Varsovie (Pologne), le 1^{er} octobre 1960.

PRO EXPERIMENTIS

Further Simplification of a Supernatant Flow System for Tissue Culture

This paper concerns a further simplification of flow systems for automatic uniform provision of small volumes of supernatant to tissues in culture previously described from this laboratory^{1,2}. The system is illustrated in the Figure.

The supernatant flows from a 15 ml capacity Buchner funnel with medium porosity fritted disc into the culture chamber B and thence to the collection bottle C. The rate of supernatant flow is regulated automatically by the unaided passage of air through the dialysing membrane D. The piece of dialysing membrane is held in an airtight fashion over the end of a length of Pyrex Nr. 234100 glass tubing by a segment of latex tubing ($\frac{1}{4}$ " I.D., $\frac{1}{16}$ " wall). (The rate of flow can be altered by using glass tubing of different diameters or membranes of different porosity). The open end of the glass tubing is inserted into the upper end of the Buchner funnel through a red rubber, sleeve type, serum stopper. The fritted disc prevents the regurgitation of air into the reservoir from the culture chamber and thus helps smooth the flow of supernatant. When the flow system and chamber is first put into the incubator, the expansion of air in the Buchner funnel forces 3 or 4 ml of supernatant through instead of the usual daily 1-2 ml.

¹ A. W. B. CUNNINGHAM and B. D. ESTBORN, *Chamber and Flow System for Quantitative Tissue Culture*, Laboratory Investigation, March-April (1958), p. 156.

² A. W. B. CUNNINGHAM and W. E. HERBST, *A Simplified Quantitative Tissue Culture Flow System*, Laboratory Investigation, May-June (1960), p. 384.

³ This research was supported by a P.H.S. Grant H-2249 from the National Heart Institute, U.S. Public Health Service.