

Some properties of the nitrate and nitrite-reducing systems from *Ankistrodesmus braunii*

	Localization	Hydrogen donor	Flavin requirement	Effect of heavy metal poisons	Effect of 2,4-dinitrophenol	Effect of <i>p</i> -chloro-mercuribenzoate
Nitrate reductase	soluble	DPNH	FAD	inhibition	no effect	inhibition
Nitrite reductase	particle-bound	TPNH (DPNH)	FAD or FMN	inhibition	inhibition	inhibition

*Chlorella*⁶⁻⁸. In accordance with the results reported for higher plants and microorganisms^{6,7}, the nitrate reductase of *Ankistrodesmus* was found to be an adaptive enzyme formed only in the presence of nitrate or nitrite. The nitrite reductase of *Ankistrodesmus*, on the other hand, seems to be constitutive since appreciable nitrite-reducing activity could be observed in extracts of algae grown on urea or other organic nitrogen compounds.

Experiments with cell-free extracts from *Ankistrodesmus* have shown that seasonal changes in the activity of nitrate and nitrite reduction, very similar to those described above for intact cells, can also be observed *in vitro*.

Zusammenfassung. Trotz konstanter Kultur- und Versuchsbedingungen zeigt die Nitratreduktion intakter Zellen und zellfreier Extrakte der Grünalge *Ankistrodes-*

musbraunii ausgeprägte jahresperiodische Schwankungen. Das Aktivitätsmaximum liegt in den Monaten Juni/Juli, das Minimum im Oktober/November.

E. KESSLER and F. C. CZYGAN

Botanisches Institut der Universität, Marburg/Lahn (Germany), October 15, 1962.

⁶ A. NASON, *Inorganic Nitrogen Metabolism* (Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore 1956), p. 109.

⁷ D. J. D. NICHOLAS, *Symp. Soc. exp. Biol.* 13, 1 (1959).

⁸ J. SHAFER, J. E. BAKER, and J. F. THOMPSON, *Amer. J. Bot.* 48, 896 (1961).

'Chromatoid Body' in the Spermatogenesis of Scorpions

An insight into the current cytochemical literature forces us to reconsider, in the light of what we know to-day, the various old definitions of different cellular organelles which had been given from time to time by old workers, and which at present are retained just because of convenience of common usage. This practice of indiscriminate and loose use of specific nomenclature is unfortunate and causes confusion. It is for this reason that SUD¹, while giving a review of the 'chromatoid body' in spermatogenesis in general, has significantly remarked, '... morphological, physical and chemical nature, behaviour during division stages, origin and fate of chromatoid bodies in different species or even in the same species as given by different authors are in most cases quite divergent'. He has therefore advised the analysis of this enigmatic structure cytochemically for its correct identification.

Keeping this in view, a detailed cytochemical analysis of the so-called 'chromatoid body', encountered in the male germ cells of *Palamnaeus bengalensis* and *P. fulvipes*, has been made and the various tests employed during the course of the present investigations include current techniques (a) for lipids²⁻⁵, (b) for proteins⁶⁻⁹, (c) for carbohydrates^{10,11}, and (d) for nucleic acids¹².

After extensive and exhaustive studies on male germ cells, SUD¹³⁻¹⁵ has been able to establish the identity of 'chromatoid bodies' based on their cytochemical nature—the 'chromatoid body' is that which is deeply stained with acid and basic dyes and dye lakes. It is osmiophobe and argentophobe. It consists mainly of RNA and basic proteins—rich in arginine. There is little or no tyrosine. 'Chromatoid bodies' are free from lipids, carbohydrates and DNA.

The structure described as the 'chromatoid body' by GATENBY and BHATTACHARYA¹⁶ in *P. bengalensis*, on the other hand, when cytochemically examined, reveals the presence of lipids in addition to proteins. It is distinctly osmiophil and is not at all stained with basic dyes and dye lakes. Above all, it lacks RNA—the most essential component of the true 'chromatoid body'. The 'chromatoid body' encountered in the male germ cells of *P. fulvipes* is also histochemically exactly like that of *P. bengalensis*.

It is therefore inferred and rightly too that this particular structure labelled as 'chromatoid body' in the spermatids of *P. bengalensis* by GATENBY and BHATTACHARYA¹⁶ is definitely not a true 'chromatoid body'. It is just an accessory organelle having lipoproteinous nature and no RNA. Since it is observed only during the stages when the acroblast is degenerating and shrivelling up, it is very likely that it is also one of the acroblast remnants, which

¹ B. N. SUD, *Quart. J. micr. Sci.* 102, 273 (1961).

² J. R. BAKER, *Quart. J. micr. Sci.* 85, 1 (1944).

³ J. R. BAKER, *Quart. J. micr. Sci.* 87, 441 (1946).

⁴ J. R. BAKER, *Quart. J. micr. Sci.* 90, 293 (1949).

⁵ J. R. BAKER, *Quart. J. micr. Sci.* 97, 621 (1956).

⁶ D. MAZIA, P. A. BREWER, and M. ALFERT, *Biol. Bull.* 104, 57 (1953).

⁷ P. F. BONHAG, *J. Morph.* 96, 381 (1955).

⁸ J. F. DANIELLI, *Symp. Soc. exp. Biol.* 1, 101 (1947).

⁹ J. McLEISH, *Chromosoma* 10, 686 (1959).

¹⁰ R. D. HOTCHKISS, *Arch. Biochem.* 16, 131 (1948).

¹¹ J. F. A. McMANUS and F. CASON, *J. exp. Med.* 91, 651 (1950).

¹² B. M. JORDAN and J. R. BAKER, *Quart. J. micr. Sci.* 96, 177 (1955).

¹³ B. N. SUD, *J. Biochem.* 78, 16 (1961).

¹⁴ B. N. SUD, *Quart. J. micr. Sci.* 102, 51 (1961).

¹⁵ B. N. SUD, *Quart. J. micr. Sci.* 102, 495 (1961).

¹⁶ J. B. GATENBY and D. R. BHATTACHARYA, *Cellule* 35, 40 (1925).

while being drifted backwards for final sloughing off, sometimes breaks into small pieces.

Zusammenfassung. Die von früheren Autoren als «Chromatoidkörper» bezeichnete Struktur der Spermatozoiden von Skorpionen, *Palamnaeus bengalensis*, ist kein wirk-

licher «Chromatoidkörper», sondern ein Hilfskörper lipoproteischer Natur ohne jegliche RNA.

USHA BEDI

Department of Zoology, Panjab University, Chandigarh (India), October 22, 1962.

La glycolyse anaérobie au niveau des lobes optiques isolés de l'embryon de poulet

Dans une série de recherches il a été avancé que la différenciation structurale et biochimique au niveau des lobes optiques (mésencéphale) chez l'embryon de poulet¹ pouvait être mise en parallèle avec la différenciation fonctionnelle². En ce qui concerne plus particulièrement la différenciation biochimique, il a été mis en évidence, *in vitro*, un accroissement de l'activité du métabolisme oxydatif (consommation d'oxygène, inhibition de cette consommation d'oxygène par l'azide de sodium, activité du système de la succinoxydase) sensiblement à partir du dixième jour (stade morphologique 35-36 selon la terminologie de HAMBURGER et HAMILTON³) de développement du mésencéphale embryonnaire^{1,4}. D'autre part, on sait qu'en absence d'oxygène, la glycolyse accomplie par le tissu cérébral isolé est importante, comme elle l'est également par le cerveau intact *in vivo*⁵.

Dans le présent travail, nous avons évalué, au niveau des lobes optiques, isolés de l'embryon de poulet, l'intensité de la glycolyse anaérobie directement, par la mesure de la quantité d'acide lactique libérée à partir du glucose utilisé comme substrat.

Méthodes. A l'aide des techniques décrites précédemment¹ le mésencéphale est isolé, à partir d'embryons de poulet de la race Rhode Island, dès le cinquième jour d'incubation (stade 27) jusqu'au deuxième jour après l'éclosion. Jusqu'au stade 37, le tissu isolé est conservé intact, et, à partir du stade 38 il est soumis à la technique de compression de ROMANOFF⁶ que l'un de nous avait utilisée dans la mesure de l'activité respiratoire de ce même tissu embryonnaire¹. La solution physiologique utilisée pour la mesure de la glycolyse a la composition suivante: NaCl 0,125 M, KCl 0,005 M, CaCl₂ 0,001 M, MgCl₂ 6H₂O 0,001 M, NaHCO₃ 0,014 M, glucose 0,1 M; elle est saturée de CO₂ et le pH est ajusté à 7,4. Des essais préliminaires, exécutés en présence de concentrations en glucose égales à 0,01 M et à 0,1 M, ont montré que la concentration élevée en ce substrat ne modifiait pas la valeur de l'activité glycolytique du tissu.

Le dégagement de CO₂ est mesuré par la méthode manométrique de Warburg, en utilisant des fioles à un appendice latéral, en atmosphère constituée par un mélange de 95% d'azote et de 5% de CO₂, et à la température de 38°C. La durée totale des évaluations est de 80 min; à la vingtième minute on arrête l'activité glycolytique dans la moitié des fioles en expérience par adjonction d'une solution d'acide trichloracétique contenue dans l'appendice latéral, et, 60 min plus tard on exécute la même opération sur le reste des fioles en expérience. La concentration en acide trichloracétique dans la solution où baigne le tissu est de 10%. Le contenu de chaque fiole, à chaque opération, est recueilli quantitativement et l'acide lactique est dosé par la méthode colorimétrique de BARKER et SUMMERSON⁷. La quantité d'acide lactique, produite en 60 min d'incubation à 38°C, est rapportée soit à la quantité d'azote total tissulaire soit à celle de phosphore de

l'acide désoxyribonucléique tissulaire prises comme unité. L'azote total et le phosphore de l'acide désoxyribonucléique des lobes optiques sont évalués selon les méthodes décrites antérieurement par l'un de nous¹.

Résultats et Discussion. Le Tableau résume l'ensemble des résultats obtenus. Il indique le stade morphologique embryonnaire, le nombre d'expériences réalisées pour chaque stade, la quantité d'acide lactique exprimée en microgrammes (µg) produite en 60 min et rapportée soit à un mésencéphale (deux lobes optiques), soit à 1 µg d'azote total, soit à 1 µg de phosphore de l'acide désoxyribonucléique.

Tout d'abord, on constate que la production d'acide lactique, par mésencéphale, du stade 28 jusqu'au deuxième jour après l'éclosion est multipliée par 6 environ, alors que l'un de nous avait montré antérieurement¹ que la con-

Activité de la glycolyse anaérobie au niveau des lobes optiques (mésencéphale) isolés de l'embryon de poulet en fonction du stade de développement

Stades morphologiques	Nombre d'expériences	µg d'acide par més-encéphale en 60 min	lactique libéré pour 1 µg d'azote total en 60 min	pour 1 µg de P-ADN* en 60 min
27	1	41		
28	6	66,7	0,300	10,4
29	10	74,4	0,225	11,4
30	5	86,5	0,194	12,2
32	1	79	0,133	
35	7	96,9	0,104	10,3
35-36	3	125		
36	7	121	0,109	11,9
37	6	106	0,078	
38	3	177	0,089	
39	13	166	0,086	15,5
40	17	202,4	0,099	18,5
41	5	211,8	0,086	
43	9	278	0,094	23,8
44	7	392	0,100	29,8
46	14	363	0,099	27,8
2 jours après l'éclosion	6	406,5	0,090	

* P-ADN = phosphore de l'acide désoxyribonucléique.

¹ J. GAYET et A. BONICHON, in *Regional Neurochemistry* (ed. by S. S. KETY and J. ELKES, Pergamon Press, Oxford 1961).

² J. J. PETERS, A. R. VONDERAHE et T. H. POWERS, *J. exp. Zool.* 133, 505 (1956); 139, 459 (1958).

³ V. HAMBURGER et H. L. HAMILTON, *J. Morphol.* 88, 49 (1951).

⁴ A. BONICHON, Thèse de Doctorat ès-Sciences Naturelles, Nancy (1962).

⁵ H. MAC ILWAIN, *Biochemistry and the Central Nervous System* (J. and A. Churchill, Ltd., London 1959).

⁶ A. L. ROMANOFF, *J. exp. Zool.* 93, 1 (1943).

⁷ S. B. BARKER et W. H. SUMMERSON, *J. biol. Chem.* 138, 535 (1941).