

Deux caractéristiques de cet instrument sont d'une importance fondamentale: un pouvoir de résolution d'approximativement $1\ \mu$, et une sensibilité variant entre 0,1 et 0,01%, ce qui signifie que 10^{-12} à 10^{-14} g d'un élément peut être détecté dans un volume de $1\ \mu^3$. Il est donc intéressant de réétudier par cette méthode le problème du degré de minéralisation de l'os haversien, qui n'a été abordé jusqu'ici que par la microradiographie dont les performances sont plus faibles.

Des tranches de diaphyse tibiale prélevées chez l'homme adulte ont été polies jusqu'à obtention d'une surface parfaitement régulière, revêtues d'une mince couche de carbone par évaporation sous vide, et étudiées au moyen d'un radioanalyseur à microsonde électronique Jeol JXA-3. Après que l'échantillon a été mis en place sous le faisceau focalisé d'électrons, il est déplacé automatiquement à vitesse constante tandis que l'intensité du rayonnement X $K\alpha$ du calcium émis par la préparation est enregistrée. Aux fins de comparaisons, les coupes sont ensuite microradiographiées et observées au microscope polarisant.

Les courbes d'enregistrement de l'intensité du rayonnement Ca $K\alpha$, qui dépend de la concentration en calcium, montrent de nombreuses fluctuations, qui correspondent au passage de la sonde électronique sur les diverses structures de la substance osseuse. L'observation au microscope polarisant des préparations soumises au faisceau électronique révèle que les zones à teneur élevée en calcium correspondent aux zones biréfringentes, et inversement que les zones à moindre teneur en calcium sont peu ou

pas biréfringentes. Ce phénomène est toujours net, qu'il s'agisse d'ostéones incomplètement minéralisés (Figure, à gauche, zone de substance osseuse dont l'équivalent aluminium moyen mesuré par microradiographie quantitative est de 0,77, ce qui correspond à une teneur en apatite de $1,2\ \text{g/cm}^3$) ou de fragments d'ostéones anciens d'un territoire de brèche fortement minéralisé (Figure, à droite, zone de substance osseuse dont l'équivalent aluminium moyen est de 0,92, ce qui correspond à une teneur en apatite de $1,4\ \text{g/cm}^3$). Les différences de teneur en calcium entre les points les plus riches et les moins riches d'un territoire donné atteignent environ 10% de la concentration totale. Une détermination plus exacte ne pourra être faite que grâce à un étalonnage approprié. Les enregistrements ne révèlent pas l'existence de plages à forte et uniforme teneur en calcium et de plages à teneur faible et uniforme, nettement délimitées et juxtaposées les unes aux autres, mais une variation périodique oscillant graduellement d'une teneur forte à une teneur faible.

Ces résultats confirment les constatations de ENGSTRÖM et ENGELDT⁴, de DAVIES et ENGSTRÖM⁵, de VINCENT^{6,7} et de BOHATIRCHUK⁸, qui ont montré que l'os haversien pouvait présenter dans les microradiographies un aspect stratifié dû à une absorption différente des rayons X dans des couches successives, donc une teneur différente en calcium des différentes couches. Ils apportent de nouveaux arguments en faveur de la conception de VINCENT^{9,10} selon laquelle les zones biréfringentes sont aussi les plus calcifiées. Enfin, l'absence d'une délimitation nette de plages faiblement et fortement minéralisées est une nouvelle preuve de ce que l'os haversien n'est pas composé de «lamelles» concentriques indépendantes, les unes plus riches en collagène et les autres plus chargées de substance minérale, mais est en fait un «continuum» plus ou moins nettement stratifié, comme l'ont décrit PRITCHARD¹¹, de même que POLICARD et BAUD¹².

Summary. The distribution of calcium in the fine-fibred bone tissue of the human adult tibia is measured with the electron probe X-ray microanalyzer. Variations in the calcium concentration may be related to the stratified fine structure of the bone matrix.

C. A. BAUD, S. KIMOTO et H. HASHIMOTO

Institut de Morphologie, École de Médecine, Genève (Suisse) et Japan Electron Optics Laboratory, Chiyoda-ku, Tokyo (Japon), le 30 mai 1963.

⁴ A. ENGSTRÖM et B. ENGELDT, *Exper.* 9, 19 (1953).

⁵ H. G. DAVIES et A. ENGSTRÖM, *Exp. Cell Res.* 7, 243 (1954).

⁶ J. VINCENT, *Arch. Biol.* 65, 531 (1954).

⁷ J. VINCENT, *Recherches sur la constitution de l'os adulte*, Thèse Université Louvain, Bruxelles, Arscia (1954).

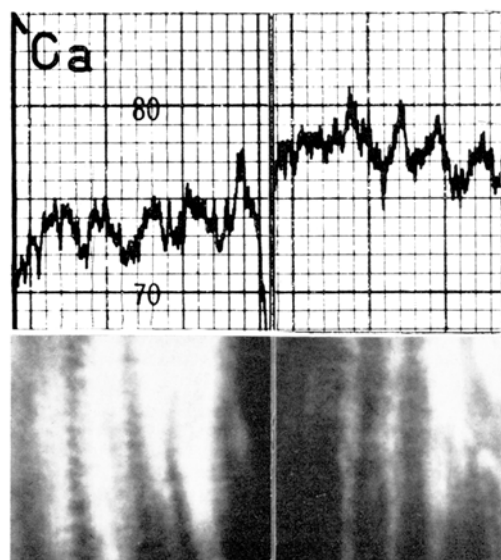
⁸ F. BOHATIRCHUK, *Anat. Rec.* 133, 203 (1959).

⁹ J. VINCENT, *Exp. Cell Res.* 12, 422 (1957).

¹⁰ J. VINCENT, *Arch. Biol.* 69, 561 (1958).

¹¹ J. J. PRITCHARD, *The Biochemistry and Physiology of Bone* (Ed. by G. H. BOURNE, Academic Press, New York 1956), p. 1.

¹² A. POLICARD et C. A. BAUD, *Les structures inframicroscopiques normales et pathologiques des cellules et des tissus* (Masson, Paris 1958).



La partie inférieure de la Figure montre deux champs d'os haversien microphotographiés entre nicols croisés (1000×); celui de gauche fait partie d'un ostéone incomplètement minéralisé, et celui de droite d'une brèche fortement minéralisée. Les flèches repèrent le niveau des lignes de passage de la sonde électronique. — La partie supérieure de la Figure montre les deux courbes correspondantes d'un enregistrement de l'intensité du rayonnement X Ca $K\alpha$, exprimant la teneur en calcium. Les strates biréfringentes sont plus riches en calcium.

On the Structure of the Chromosomes of *Scilla non-scripta*

The strand number of the somatic chromosome has been debated extensively over many years^{1,2}. Some authors have pointed out that the chromosomes are longitudinally split at the anaphase³⁻⁶. Moreover, it has now

become possible to demonstrate cytologically that anaphase and telophase chromosomes contain two chromosome-mata and the late prophase chromosomes four half-chromatids^{4,7}.

These observations were confirmed experimentally by analysis of radiation-induced chromosomal aberrations and by the application of autoradiographic techniques⁸⁻¹⁰.

By means of the electron microscope, KAUFFMANN and DE¹¹ have demonstrated in prophase chromosomes of staminate-hair cells of *Tradescantia* successive orders of pairs of fibrilles at various levels in the structural hierarchy.

However, the difficulties presented by the study of chromosomes by electron microscopy, and their condensed appearance observed with the light microscope, make it difficult to study the coilings at their different levels. None of the micrographs is good enough to permit one to observe clearly the several strands forming the chromatid nor to study every type of coiling.

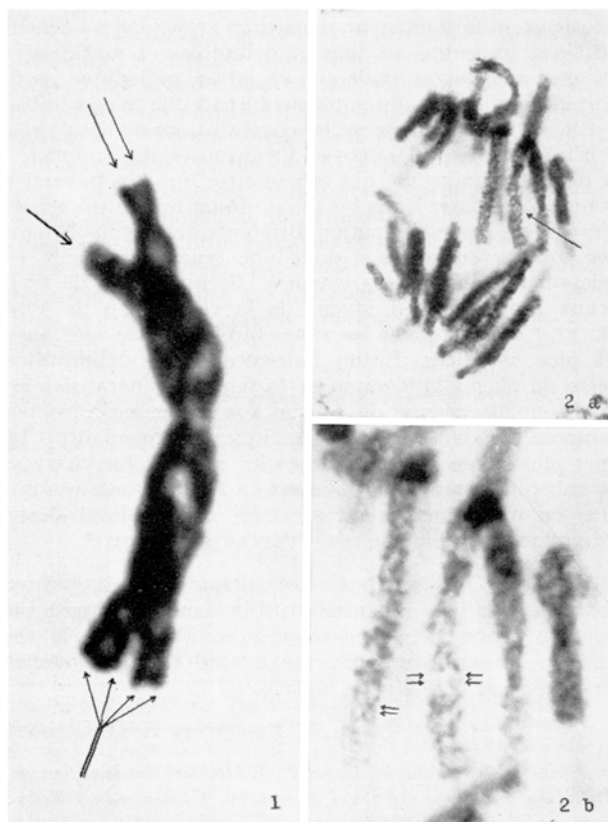


Fig. 1. Metaphasic chromosome. Each chromatid is made up of two half-chromatids.

Fig. 2. a and b. Anaphase chromosomes present a quadruple structure. Each subchromatid is formed by two half-subchromatids.

Technique: The staining technique of Tjio and LEVAN¹² was employed.

In the somatic chromosomes of *Scilla non-scripta* we have observed as follows:

(a) All chromosomes are split into four filaments clearly visible from prophase. Anaphase and telophase chromosomes present a double structure.

(b) Chromatids are plectonemically coiled and each chromatid is made up of two half-chromatids (Figure 1). These half-chromatids, coiling about each other, form another plectonemic coil within the chromatid.

(c) Frequently, it is possible to observe in anaphase and telophase chromosomes that each half-chromatid is formed by two intertwined strands, i.e. coiling plectonemically about each other (Figure 2, a and b).

(d) Therefore, the somatic structure is observed as a series of coiling systems overlapping each other. The strand number at anaphase is four, and it is logical to assume that metaphase chromosomes will have eight with intertwined coils at three different levels: chromatids, half-chromatids, and fourth-chromatids.

(e) No sheath or matrix can be observed.

Résumé. La structure des chromosomes somatiques apparaît comme une série de spiralisations plectonémiques successives à trois niveaux différents, celui des chromatides, des subchromatides et des demisubchromatides.

G. GIMÉNEZ-MARTÍN, J. F. LÓPEZ-SÁEZ,
and A. GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ

Sección de Citología, Instituto de Edafología y Biología Vegetal, C.S.I.C. Madrid (Spain), May 27, 1963.

- ¹ C. D. DARLINGTON, *Nature* 176, 1139 (1955).
- ² D. STEFFENSEN, *Brookhaven Symposia in Biology* 12, 103 (1959).
- ³ E. HEITZ, *Planta* 12, 775 (1931).
- ⁴ B. P. KAUFFMANN, *Botan. Rev.* 14, 57 (1948).
- ⁵ H. RIS, in *Chemical Basis of Heredity* (W. D. McELROY and B. GLASS, eds., Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland), p. 23.
- ⁶ J. H. TJIO and A. LEVAN, *An. Aula Dei* 4, 185 (1956).
- ⁷ B. P. KAUFFMANN, HELEN GAY, and M. R. McDONALD, *Internat. Rev. of Cytol.* 11, 77 (1960).
- ⁸ L. F. LA COUR and A. RUTISHAUSER, *Chromosoma* 6, 696 (1954).
- ⁹ J. H. TAYLOR, *Amer. Naturalist* 91, 209 (1957).
- ¹⁰ C. P. SWANSON, *Bot. Gaz.* 10, 457 (1942).
- ¹¹ B. P. KAUFFMANN and D. N. DE, *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 2nd Suppl., 419 (1956).
- ¹² J. H. TJIO and A. LEVAN, *An. Aula Dei* 1, 21 (1950).

Quadruple Transversal Structure of Centromere

LIMA DE FARIA¹⁻⁸ observed in chromosomes of *Secale cereale* at pachytene a centromeric structure made by four chromomeres, forming a longitudinal series. According to this, at pachytene 'the two chromomeres of the most interior zone are usually smaller than those of the median zone. The chromomeres of the interior zone are on the threshold of the limit of resolution, and for this reason deeply stained fibrillae may be seen instead. In other cases only one chromomere is observed at this zone. A third zone is constituted by the weakly stained fibrillae that unite the large chromomeres of the median zone with

the arms. This structure has been repeatedly observed without previous treatment⁸. TJIO and LEVAN⁹ found from early mitotic prophase up to metaphase four centro-

- ¹ A. LIMA DE FARIA, *Hereditas* 35, 77 (1949).
- ² A. LIMA DE FARIA, *Chromosoma* 5, 1, 68 (1952).
- ³ A. LIMA DE FARIA, *Chromosoma* 6, 33, 44 (1953).
- ⁴ A. LIMA DE FARIA, *Hereditas* 41, 238, 240 (1955).
- ⁵ A. LIMA DE FARIA, *Hereditas* 42, 85, 160 (1956).
- ⁶ A. LIMA DE FARIA, *Chromosoma* 6, 330 (1954).
- ⁷ A. LIMA DE FARIA, *Hereditas* 43, 462 (1957).
- ⁸ A. LIMA DE FARIA, *Int. Rev. Cytol.* 7, 123 (1958).
- ⁹ J. H. TJIO and A. LEVAN, *Nature* 165, 368 (1950).