

nant une certaine dépense énergétique. Cette diminution se poursuit d'ailleurs au cours de la seconde période et l'utilisation du glycogène peut être expliquée alors par la comportement biologique de l'animal qui effectue sa ponte au cours de cette période. Le phénomène semble s'effectuer par étapes successives. La troisième période correspond à un stade de récupération identique à celui observé pour les protéines totales. Au cours de la quatrième période le pic important relevé semble devoir être expliqué par des conditions écologiques externes et non pas par l'action directe du phénomène sexuel.

(3) Pour les lipides totaux, les variations observées sont le plus souvent inverses de celles du glycogène et ce, avec un certain retard. Il semble que, comme pour toutes les espèces animales, les lipides ne soient que tardivement modifiés par les conditions physiologiques et écologiques.

(4) Les éléments minéraux se comportent de la même manière.

Il semble donc que le phénomène sexuel n'entraîne de modifications directement interprétables, qu'au niveau du métabolisme glucidique³.

Summary. The variations of glycogen, lipids and ashes in muscular tissue of the Rainbow trout (*Salmo gairdnerii* Rich.) show that during sexual cycle there are 4 periods. Each period corresponds to a particular biological activity. The sexual activity cannot explain all the modifications of glycogen content.

J. GRAS, R. REYNAUD, L. GAMOTY,
J. FREY et J. C. HENRY

Laboratoire de Chimie Biologique Médicale,
Faculté mixte de Médecine et Pharmacie, 69-Lyon 8^e
(France), 17 juin 1966.

³ Avec la collaboration technique de Madame Y. GUDEFIN.

Acetylcholine as an Activator of Oxidation Reactions

It is well known that esters of phosphoric and thiophosphoric acids (organophosphorous nerve poisons) competitively inhibit cholinesterase¹. It is generally supposed that the esters mentioned associate with cholinesterase by a similar mechanism as acetylcholine does in the normal physiological function. It is also known that organophosphorous poisons act as activators of oxidation reactions which are the basis of the chemiluminescence of luminol² and lucigenin³, the fluorescence of indole solution during oxidation⁴ and the formation of colour in solutions of benzidine and o-dianisidine⁵. The initial step in these oxidation reactions is the formation of a complex between the activator, the oxygen-donor (hydrogen peroxide or sodium perborate) and the substrate of the reaction (luminol, lucigenin, indole, benzidine, o-dianisidine).

If we connect the 2 above-mentioned, well-known facts it seems very probable that acetylcholine will also act as an activator in all the reactions described which are accompanied by very pronounced optical effects. Very favourable to this assumption seemed the finding that one of these reactions, the chemiluminescence of luminol, was activated by a cholinomimetic agent, i.e. pilocarpine hydrochloride⁶.

The chemiluminescence of luminol in alkaline solutions in the presence of hydrogen peroxide was indeed found to be induced by acetylcholine. By photoelectrical measurements it was established that a straight line relationship exists between the maximal intensity of luminescence in the course of the reaction, and the concentration of acetylcholine (Figure 1). A similar relationship between the intensity of fluorescence and the concentration of the activator was found when the oxidation of indole was investigated in water-acetone solution in the presence of sodium perborate (Figure 2). The curves obtained suggest that acetylcholine activates the oxidation of indole more effectively than that of luminol. We have also investigated the effect of acetylcholine on the

water-acetone solutions of benzidine and o-dianisidine in the presence of sodium perborate as oxygen-donor⁷. The extinction was measured at 450 nm, 1 h after adding acetylcholine. The plot of extinction vs. concentration yielded also straight lines (Figure 3). Acetylcholine appears to be a more effective activator for o-dianisidine than for benzidine.

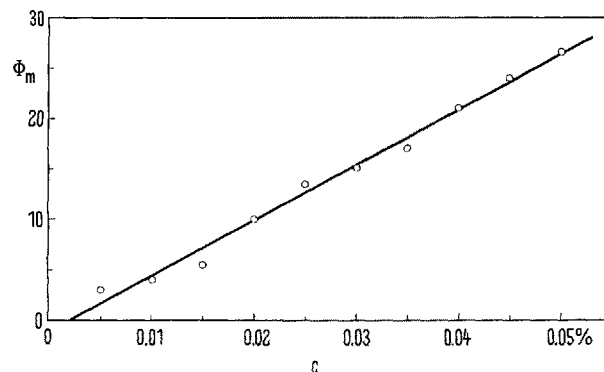


Fig. 1. Maximal intensity of luminescence of luminol (Φ_m) as a function of acetylcholine concentration (c).

- 1 W. N. ALDRIDGE, *Chem. Ind.* 24, 473 (1954); A. L. GREEN and B. SASILE, *J. chem. Soc.* 1956, 3887.
- 2 J. GOLDENSON, *Analyt. Chem.* 29, 877 (1957); K. WEBER, L. J. HUIĆ and M. MRAZOVIĆ, *Arh. Hig. Rada* 9, 325 (1958).
- 3 K. WEBER and J. MATKOVIĆ, *Arch. Tox.* 27, 38 (1965).
- 4 B. GEHAUF and J. GOLDENSON, *Analyt. Chem.* 29, 276 (1957).
- 5 B. GEHAUF, J. EPSTEIN, G. M. WILSON, B. WITTEN, S. SASS, V. E. BAUER and W. H. C. RUEGGERBERG, *Analyt. Chem.* 29, 278 (1957); J. EPSTEIN, D. H. ROSENBLATT and M. M. DEMEK, *J. Am. chem. Soc.* 78, 341 (1956).
- 6 E. KUNEC-VAJIĆ and K. WEBER, *Croat. chem. Acta* 37, 211 (1965).
- 7 The course of this reaction was qualitatively investigated by G. AKSNEŠ and K. SANDBERG, *Acta chem. scand.* 11, 876 (1957).

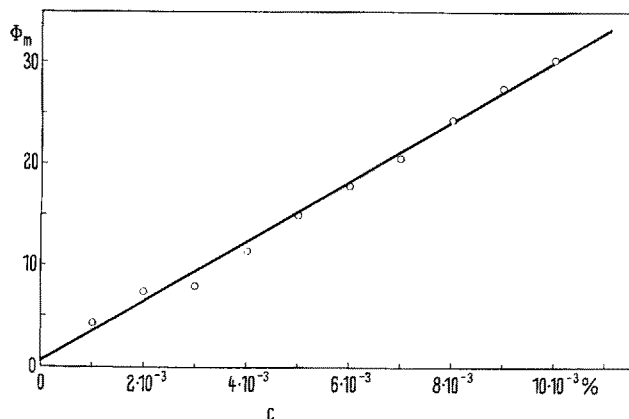


Fig. 2. Maximal intensity of fluorescence of the indole reagent (Φ_m) as a function of acetylcholine concentration (c).

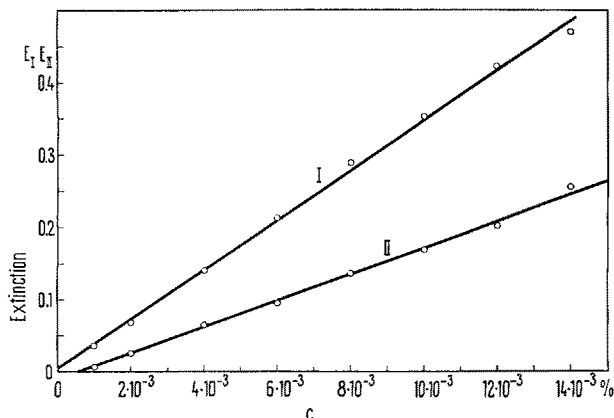


Fig. 3. Extinction of the solution of benzidine (I) and o-dianisidine (II) as a function of acetylcholine concentration (c).

The action of other cholinomimetic agents is under investigation, and, according to the first results, some of them act in a similar way as acetylcholine. The effects observed, which are being further studied, may constitute a basis for quantitative determinations in biological specimens.

Zusammenfassung. Acetylcholin wirkt als Aktivator auf Oxydationsreaktionen mit Wasserstoffperoxyd in alkalischer Lösung. Solche Wirkungen auf die Chemi-

lumineszenz des Luminols (3-Aminophthalhydrazid), auf die Oxydation des Indols, Benzidins und o-Dianisidins wurden durch Messungen der Lumineszenzintensität (Φ), bzw. der Extinktion (E) näher untersucht.

E. KUNEC-VAJRIĆ and K. WEBER

Department of Pharmacology and Department of Forensic Medicine, Medical Faculty, University of Zagreb (Yugoslavia), 29th December 1966.

La vitellogenesi in *Arbacia lixula* e *Sphaerechinus granularis* (Echin. Echin.)

Allo stato attuale esistono 3 orientamenti fondamentali per cercare di chiarire l'origine del vitello negli ovociti in accrescimento di numerose specie di Vertebrati e di Invertebrati: secondo un primo il vitello prenderebbe origine esclusivamente ad opera dell'ergastoplasma, secondo un altro in rapporto con l'apparato del Golgi, secondo un terzo in intima relazione con i mitocondri. Il microscopio elettronico ha consentito di accertare in particolare che in *Paracentrotus lividus*, *Arbacia lixula*, *Sphaerechinus granularis*¹, *Aplysia depilans*², *Patella coerulea*³, e *Planorbis corneus*⁴, il vitello si forma in ogni caso per aggregazione di particelle ribonucleoproteiche, aggregazione che nelle prime 3 specie si verifica liberamente nel citoplasma, in *Patella* avviene entro le maglie del reticolo endocitoplasmatico, in *Aplysia* su dittosomi o corpi del Golgi preventivamente trasformati, ed in *Planorbis* entro mitocondri. Questa modalità di formazione del vitello lascia adito all'ipotesi che in generale nei globuli vitellini, almeno in una prima fase della loro formazione, si trovi ARN; questo fatto è stato già dimostrato nei globuli vitellini degli ovociti di *Aplysia* all'inizio della loro formazione⁵. La stessa specie peraltro aveva consentito di ammettere in precedenza⁶ che le diverse affinità tintoriali rivelatesi col metodo Mallory nei globuli di vitello in fasi successive della loro costituzione, andavano forse attribuite ad un loro passaggio da uno stato di maggiore densità ad uno stato di minore densità. Altre ricerche infine effettuate ancora su *Aplysia*⁷,

come pure su *Planorbis*⁴, avevano permesso di individuare un rapporto fra zone del Golgi e sintesi del vitello, nel senso che si determinerebbero condizioni fisico-chimiche tali da provocare la precipitazione dell'argento dei relativi metodi impiegati.

Per confermare alcuni di detti risultati e per estendere le indagini sulla presenza di ARN nei globuli vitellini, abbiamo ritenuto ora di prendere in considerazione due specie di Echinodermi: *Arbacia lixula* e *Sphaerechinus granularis*.

Gli individui sono stati pescati rispettivamente nel mare di Ganzirri (Messina) e di Palmi (Reggio Calabria). I frammenti di gonade femminili appena prelevati sono stati posti nei liquidi fissativi. Sono stati usati l'Hollande con aggiunta di bicloruro di mercurio, il Bouin e l'Helly per i comuni metodi di colorazione, il Da Fano ed il Golgi 1908 per la messa in evidenza dell'apparato del Golgi ed il Regaud per il condrioma. I metodi di colorazione adottati sono stati il Galgano I, il Dominici e l'Unna-Pappenheim. Ai fini della dimostrazione dell'ARN, nei metodi Dominici e Unna è stata introdotta la digestione con ribonucleasi secondo Brachet.

¹ A. BOLOGNARI, Atti Soc. pelorit. Sci. fis. mat. nat. 6, 55 (1960).

² A. BOLOGNARI, Boll. Zool. 25, 171 (1958).

³ A. BOLOGNARI, Boll. Zool. 25, 155 (1958).

⁴ M. P. ALBANESE e A. BOLOGNARI, Experientia 20, 29 (1964).

⁵ A. BOLOGNARI e A. DONATO, Acta histochem. 19, 285 (1964).

⁶ A. BOLOGNARI, Archo zool. ital. 41, 261 (1956).

⁷ A. BOLOGNARI, Boll. Zool. 31, 501 (1964).