

une condition complémentaire, qui réside probablement dans une interaction avec un des principes dont nous signalions plus haut l'existence dans l'ento-chordo-mésoblaste; il s'agit vraisemblablement, d'après ce que l'on sait aux stades plus avancés, de la plaque préchordale.

Conclusion. — Il existe, dans l'œuf segmenté du discoglosse, au sein de la localisation germinale principale qu'est le centre organisateur, des localisations secondaires organogènes, qui n'impliquent cependant pas une détermination stricte. De plus, dans ce centre organisateur, le principe inducteur (organisine) est réparti selon un vaste gradient décroissant vers le haut et vers les côtés à partir de la zone sus-blastoporale.

(Université de Bruxelles, laboratoire d'embryologie
de la Faculté de médecine.)

INFLUENCE DE DIVERS FACTEURS
SUR LA TENEUR EN BACTÉRIOPHAGE LIBRE DES CULTURES²
DE *Bacillus megatherium* LYSOGÈNE,

par ANDRÉ GRATIA.

Au cours de recherches effectuées en 1926 mais qui n'ont pu être publiées qu'en 1932, j'ai étudié les conditions de régénération du Bactériophage dans les cultures de *B. coli* lysogène (1*). J'ai constaté notamment que si l'onensemence de *B. coli* lysogène de l'eau peptonée glucosée il y a, parallèlement au développement de la culture microbienne, un développement de Bactériophage, mais qui disparaît ensuite rapidement car la fermentation du glucose produit une acidification mortelle pour le Bactériophage. Or, dans cette culture où tout Bactériophage libre a été détruit, chaque individu microbien, tant qu'il reste vivant, a conservé intact son pouvoir lysogène. Dans la suite, j'ai tenté de libérer le Bactériophage contenu à l'intérieur de ces corps microbiens en dissolvant ceux-ci par le *Streptothrix*. Ainsi que je l'ai rapporté précédemment (2*), n'ayant pas obtenu de résultats suffisamment nets, je n'avais pas cru pouvoir publier ces expériences. Au cours de cette année, j'ai repris celles-ci avec le *B. megatherium* de den Dooren de Jong en le dissolvant, soit par le *Streptothrix* comme je l'avais tenté pour le *B. coli* lysogène,

(1*) Ann. de l'Inst. Pasteur, 1932, t. 48, p. 413.
(2*) Ann. de l'Inst. Pasteur, 1936, t. 56, p. 307.

gène, soit par le lysozyme comme M. et Mme Wollman l'avaient récemment fait; mais, à l'inverse de ces auteurs (3*), je n'ai obtenu que des résultats entièrement négatifs. Toutefois, ces recherches m'ont apporté quelques enseignements intéressants que je me propose de résumer brièvement ici.

Tout d'abord, j'ai mis au point une technique de numération simultanée des colonies lysogènes et des taches de Bactériophage libre que peut former une culture de microbes lysogènes. En voici le principe. A 3,5 c.c. d'une émulsion en eau peptonée de microbes sensibles on ajoute 0,5 c.c. d'une dilution convenable de la culture du microbe lysogène, on y ajoute 1 c.c. de gélose à 2,5 p. 100. On prélève aussitôt 1 c.c. de ce mélange qu'on verse à la surface d'une boîte de Petri contenant déjà une couche épaisse de gélose nutritive solide. Le mélange s'étale spontanément à la surface de celle-ci grâce à sa légère viscosité. On peut néanmoins favoriser cet étalement en animant la boîte d'un léger mouvement de circonduction. Lorsque la couche mince du mélange se sera solidifiée à la surface de la gélose nutritive, on place la boîte de Petri, retournée, à l'étuve. On obtient ainsi des résultats particulièrement nets et précis. On verra apparaître à la fois des taches vierges de Bactériophage libre et des taches identiques sauf que leur centre est occupé par une minuscule colonie de microbe lysogène. Ainsi se trouve automatiquement inscrit le rapport entre les colonies lysogènes et les taches de Bactériophage libre d'une culture lysogène.

On pourra à volonté obtenir également ces deux données séparément. Pour avoir les colonies seules, on remplacera dans le mélange les 3,5 c.c. d'émulsion de microbe sensible par 3,5 c.c. de bouillon; pour avoir les taches de Bactériophage seules, on ajoutera aux 3,5 c.c. d'émulsion sensible 0,5 c.c. de culture lysogène préalablement débarrassée de ses corps microbiens par la centrifugation (5 min. à 5.000 t/m). Selon ces trois variantes on obtiendra des résultats tels que ceux-ci :

- 1) Numération simultanée : 60 colonies et 50 taches.
- 2) Numération des colonies seules : 59 colonies.
- 3) Numération des taches seules : 48 taches.

Je n'ai jamais observé, contrairement au résultat récemment rapporté par M. et Mme Wollman (4*), que la centrifugation libérât dans une émulsion de bactéries lysogènes, du Bactériophage qui ne s'y trouvait déjà comme tel avant.

C'est grâce à cette technique que j'ai étudié la teneur en Bactériophage libre des cultures lysogènes en bouillon et sur gélose.

(3*) C. R. de la Soc. de biol., 1935, t. 119, p. 47. Ann. de l'Inst. Pasteur, 1936, t. 56, p. 137 et C. R. de la Soc. de biol., 1936, t. 122, p. 812.
(4*) C. R. de la Soc. de biol., 1936, t. 122, p. 190.

Cette teneur varie beaucoup selon diverses circonstances. Sauf pour Galli-Valerio (5*) l'agitation est généralement considérée comme défavorable au développement microbien. En tout cas pour le *B. megatherium* et pour d'autres encore, j'ai constaté que l'agitation avait une influence singulièrement favorable. Agitée, la culture de *B. megatherium* en bouillon se développe avec une rapidité et une intensité extraordinaire. Après 2 heures, alors que la culture au repos est à peine légèrement trouble, la culture agitée présente un trouble extrêmement dense. Corrélativement, le titre en Bactériophage libre de la culture au repos est à ce moment de 10^6 à 10^7 , alors que dans la culture agitée il est de 10^9 à 10^{10} . Ce titre se maintient pendant 24 heures, puis commence à descendre progressivement; après 55 heures il est déjà retombé à 10^8 . L'influence de l'agitation est en grande partie due à une oxygénation plus intense de la culture car on obtient des résultats à peu près comparables en cultivant le *B. megatherium* dans du bouillon étalé en couche mince, par conséquent fortement aéré.

Quant au titre lytique des cultures sur gélose, il varie aussi selon divers facteurs, notamment l'âge de la culture et selon la façon dont est faite l'émulsion. A émulsion égale, une culture âgée de 5 heures à 37° contient dix fois plus de Bactériophage libre qu'une culture âgée de 18 heures (13 heures à 37° et 5 heures à 20°); d'autre part, pour une même culture et à dilution équivalente, le titre varie notablement selon que l'émulsion mère a été faite très légère ou très dense, c'est-à-dire selon que, dans 10 c.c. de bouillon, on délaie soit une toute petite partie de la culture, soit la totalité de la culture. Pour un même nombre de colonies lysogènes, 60 par exemple, on trouve dans l'émulsion « partielle » d'une culture de 5 heures, 1.200 taches de Bactériophage libre, c'est-à-dire 20 fois plus de taches que de colonies; et dans l'émulsion « totale » d'une culture de 18 heures, 3 taches seulement, soit donc 20 fois moins de Bactériophage que de colonies. On peut obtenir des différences plus grandes encore. Comme j'ai pu le vérifier, ces variations sont dues à des phénomènes de fixation: le Bactériophage libre de la culture étant secondairement fixé sur les microbes mêmes de la culture lysogène lors de la mise en émulsion de celle-ci. Dans une émulsion de ces microbes lysogènes, chacun d'eux contient donc non seulement du Bactériophage intracellulaire, mais encore du Bactériophage qui s'est secondairement fixé sur lui. Chose curieuse, ce dernier, pas plus que le premier, ne se libère lors de la dissolution de la bactérie par le *Streptothrix* ou le lysozyme. Nous

(5*) *Centralbl. f. Bakter.*, 1904, Orig., t. 37, p. 151.

en montrerons la raison ultérieurement. En attendant, en voici toujours un exemple démonstratif: numération simultanée de l'émulsion lysogène normale: 90 colonies lysogènes, 36 taches de Bactériophage libre; émulsion normale centrifugée: 0 colonie, 39 taches; émulsion lysozymée: 0 colonie, 35 taches; émulsion lysozymée centrifugée: 0 colonie, 35 taches.

Contrairement aux données de M. et Mme Wollman, une émulsion lysogène ne contient, ni après sa centrifugation, ni après sa dissolution, d'autre Bactériophage libre que celui qui s'y trouvait déjà comme tel auparavant.

(Institut de bactériologie de l'Université de Liège.)

PERTE ET RÉCUPÉRATION DE LA PROPRIÉTÉ « CARRIER »
DE VIRUS X CHEZ LA POMME DE TERRE,

PAR ANDRÉ GRATIA ET PAUL MANIL.

Dans une note récente (1), nous avons montré que la propriété « carrier » de virus X que possèdent certaines variétés de pomme de terre et qui se transmet indéfiniment à la descendance lorsque celle-ci est assurée par la voie végétative, se perd au contraire dès la première génération lorsque la reproduction est faite par la voie sexuée. En effet, les plantes de la variété « Jaune d'Or », « carrier » de virus X que nous avons obtenues en plantant des tubercules d'une part, en semant des graines d'autre part, sont identiques et d'aspect normal; mais si le suc des plantes provenant de tubercules est énergiquement floclé par le sérum anti-virus X et est infectant; par contre, le suc des plantes provenant des graines n'est pas infectant et n'est pas floclé par le sérum anti-virus X.

Il nous a paru intéressant de compléter cette expérience en recherchant comment se comporteraient les plantules provenant de graines et ainsi privées de propriété « carrier » si on les soumettait à l'inoculation du virus contenu dans les plantes « carriers » issues de tubercules. Nous avons soumis à cette inoculation un lot de plantules « Jaunes d'Or » issues de graines et vérifiées dépourvues de propriété « carrier » et deux lots témoins l'un de tabac et l'autre de *datura*. Lorsque, deux semaines environ plus tard, ces deux derniers lots présentent les symptômes caractéristiques, nous soumettons à l'épreuve sérologique les trois lots inoculés ainsi qu'un lot témoin de plantules « Jaune d'Or » « non

(1) *C. R. de la Soc. de biol.*, 1936, t. 122, p. 814.