

P. 192

N° 1—2 B1

JANVIER—FÉVRIER

1936

BULLETIN INTERNATIONAL  
DE L'ACADÉMIE POLONAISE  
DES SCIENCES ET DES LETTRES

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES

SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES (I)

CRACOVIE

IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ

1936



rcin.org.pl

Publié, par l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres, sous la direction de  
M. S. Maziarski, Secrétaire de la Classe des Sciences Mathématiques et Natu-  
relles (Cracovie, Institut d'Histologie de l'Université, rue Wielopole 15).

Nakładem Polskiej Akademji Umiejętności.  
Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego pod zarządem Józefa Filipowskiego.

**BULLETIN INTERNATIONAL**  
**DE L'ACADÉMIE POLONAISE DES SCIENCES ET DES LETTRES**  
**CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES**  
**SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES (I)**

1936

*O kwasie nukleinowym sporyszu. Cz. II. — L'acide nucléique de l'ergot de seigle (II<sup>e</sup> partie).*

Mémoire

de MM. **M. GATTY-KOSTYAL** et **J. TESARZ**,

présenté le 13 janvier 1936, par M. L. Marchlewski m. t.

Dans leur précédente publication<sup>1)</sup> les auteurs ont rapporté les résultats de leurs recherches sur les composés phosphorés de l'ergot de seigle, sclérote du champignon *Claviceps purpurea* T. et ont insisté surtout sur son contenu d'acide nucléique. La constatation du taux élevé d'acide phosphorique dans l'ergot a encouragé les auteurs à doser le phosphore total et à étudier les genres de composés phosphorés de l'ergot. L'analyse a révélé la présence de fortes quantités de phosphore total et de composés lécithiques, surtout de composés nucléiques, cette dernière constatation étant d'une grande importance. Pour isoler l'acide nucléique, nous avons appliqué la méthode de Jones et Folkoff. Nous avons obtenu d'un kg d'ergot 1,5 gr d'une préparation qui contenait 8,73% de P et 15,21% de N; le rapport P:N équivalant à 1:1,74. La préparation donnait toutes les réactions et avait toutes les propriétés caractéristiques des acides nucléiques. Le fait établi par des chercheurs plus anciens, que l'ergot renferme de la verine, du riboside, de la guanine et de l'uracile, ainsi que de la 2-4-dioxyypyrimidine paraît donc motivé à la lumière de ces recherches.

La présence d'une quantité relativement élevée de composés nucléiques qu'on trouve à côté d'alcaloïdes, est probablement d'une

<sup>1)</sup> M. Gatty-Kostyal et J. Tesarz: L'acide nucléique de l'ergot de seigle. Bull. Acad. Pol. Sc. Lettres; Série B: 1933, p. 1. — O kwasie nukleinowym sporyszu. Wiadomości farmaceutyczne 1934. p. 17.

grande importance pour la chimie de l'ergot; en effet les sels des acides nucléiques ne sont pas solubles dans l'eau, ce qui pourrait jeter de la lumière sur une série de questions qui se posent lorsqu'il s'agit de produire certaines préparations d'ergot et de se rendre compte de leur valeur pharmacologique.

Le but principal du présent travail consistait à tirer de l'ergot de plus grandes quantités d'acide nucléique et à définir la structure chimique de celui-ci en le décomposant.

Seuls des tissus ou des matières riches en acides nucléiques, dont on peut facilement se procurer de plus grandes quantités, peuvent servir à des recherches sur ces substances. Sans parler du mauvais rendement, puis de la perte de temps et des frais qu'il entraîne, un matériel pauvre en composés nucléiques ne donne la plupart du temps que des préparations plus ou moins altérées par suite de l'action d'enzymes ou d'agents chimiques. L'analyse d'un matériel pareil conduit évidemment à des résultats peu précis. En s'appuyant sur les données citées ci-dessus pour calculer le phosphore nucléique, on obtient environ 1.5% comme quantité moyenne d'acide nucléique dans la masse sèche de l'ergot. Nous trouvons des quantités analogues pour les matières végétales riches en noyaux cellulaires, telles que la levure, les embryons de froment et les bactéries, ce qui nous permet d'étudier dans les détails les composés nucléiques de l'ergot de seigle.

Comme ils sont un des éléments constitutifs du noyau cellulaire, les acides nucléiques sont très répandus dans le règne végétal. On se servait jusqu'ici surtout de deux acides pour faire des recherches sur la structure et les propriétés des acides nucléiques; on employait notamment dans ce but l'acide nucléique de la levure, comme caractéristique pour les plantes inférieures, et l'on avait recours au même acide tiré d'embryons de froment, particulier aux plantes supérieures. Des travaux poursuivis pendant près de soixante ans permirent aux chercheurs de se faire une idée approximativement exacte de la structure de ces acides. Leur identité a été démontrée et l'on admet que leur structure est commune à tous les acides nucléiques d'origine végétale. On oppose à l'acide phytonucléique de levure, l'acide zoonucléique tiré du thymus, comme représentant typique des acides nucléiques d'origine animale. Ces temps derniers on a établi une série de faits, qui ébranlent,

respectivement limitent la signification de cette dualité. Ainsi on a découvert d'une part dans le pancréas des acides nucléiques d'un ordre plus élevé, qui diffèrent par la structure des acides nucléiques connus jusqu'à présent, de l'autre on a obtenu de très curieux résultats en examinant les acides nucléiques isolés de certaines bactéries. L'acide nucléique isolé du bacille de Koch, microorganisme pathogène de la tuberculose, a surtout été étudié. Les premiers chercheurs, comme Ruppel<sup>1)</sup> et T. B. Johnson<sup>2)</sup> avec ses collaborateurs, ont découvert, entre autres, dans ce bacille 2 bases pyrimidiques, savoir: la thymine et la cytosine, ainsi que les acides: lévulique et formique, produits de la décomposition de la partie hydrocarbonée, aussi ces résultats les amenèrent-ils à ranger dans le type animal l'acide nucléique tiré du bacille de Koch. Ce n'est que peu de temps après que Johnson et Coghill<sup>3)</sup> ont signalé l'isolation d'une nouvelle base pyrimidique, la 5-méthylcytosine. A la lumière de ces faits, l'acide nucléique extrait du bacille de la tuberculose constituerait une unité chimique à part. Encouragé par ces résultats Coghill<sup>4)</sup> entreprit d'isoler et d'étudier les acides nucléiques tirés d'autres bactéries, telles que *Mycobacterium phlei* (Moeller). Contrairement à ce qu'on s'attendait, on s'aperçut que l'acide nucléique extrait de ce microorganisme se rattachait au type végétal, si l'on tenait compte de l'affinité de *Mycobacterium* avec le bacille de Koch. Coghill et Barnes<sup>5)</sup> étudièrent ensuite l'acide nucléique isolé de bacilles de la diphtérie. Ils y décelèrent de la guanine, de l'adénine, des bases pyrimidiques, tels que la cytosine, l'uracile et la thymine (seulement par des réactions colorantes), puis ils trouvèrent 13·8% de pentose et constatèrent la présence d'un groupement de sucre (désoxyribose), caractéristique pour les acides zoonucléiques. L'analyse quantitative d'après Wildström a démontré, que 25% de l'acide représentent le type animal. Ainsi cet acide nucléique constituerait un type nouveau et distinct. Des recherches plus ap-

<sup>1)</sup> Ruppel, Z. f. physiol. Chem. **26**, 218, (1899).

<sup>2)</sup> Johnson a. Brown, Proc. Nat. Acad. Sc. **8**, 187, (1922). J. Biol. Chem. **54**, 721, (1932); J. Am. Chem. Soc., **45**, 1832, (1923).

<sup>3)</sup> Johnson and Coghill, J. Am. Chem. Soc., **47**, 2838, (1925).

<sup>4)</sup> Coghill, J. Biol. Chem., **89**, 57, (1930).

<sup>5)</sup> Coghill & Barnes, Annales de la Sociedad Espanola de Fis. y Quim., **30**, 208 (1932).

profondies sont évidemment nécessaires, ne serait-ce que pour établir si l'on est en présence de 2 acides différents, ou s'il s'agit d'un seul tout qui renferme des éléments des acides: phytonucléique et zoonucléique. Nous ne sommes pas suffisamment renseignés sur d'autres acides nucléiques d'origine végétale; aussi ne trouvons-nous que de brèves mentions sur les acides nucléiques que renferment l'azotobacter<sup>1)</sup>, le colibacille<sup>2)</sup>, le mycélium d'*Aspergillus oryzae*<sup>3)</sup>, les embryons de riz<sup>4)</sup>, les feuilles de thé<sup>5)</sup> et le résidu resté après la fabrication de saké<sup>6)</sup>. Quant aux autres matières végétales, nous ne disposons que de données peu nombreuses concernant les nucléoprotéides encore peu connus et les dosages du phosphore. Les données positives se rapportant à la répartition et aux variétés des acides nucléiques dans les différents groupes de végétaux sont par conséquent insuffisantes. Il paraît donc indiqué d'étudier à fond un plus grand nombre d'acides nucléiques pour disposer de matériaux exactement connus, et pour pouvoir étayer par des preuves les différentes théories concernant leur composition.

Nous profitons de l'occasion pour rappeler qu'on trouve dans le règne végétal des composés rapprochés des produits de la désagrégation des acides nucléiques connus, quoiqu'ils n'entrent pas dans leur composition. Il s'agit notamment du thiométhylpentoside d'adénine<sup>7)</sup>, décelé dans la levure et du crotonoside<sup>8)</sup>, riboside de l'isoguanine, que contiennent les graines de *Croton tiglium* L. On ne peut guère se prononcer sur les composés que

<sup>1)</sup> Mockeridge, Biochem. Journ., **18**, 550 (1924).

<sup>2)</sup> Schäffer, Folkoff and Jones, Bull. Johns Hopkins Hosp. **33**, 151 (1922).

<sup>3)</sup> Rychei Takata, J. Soc. chem. Ind. Japan (Suppl.) **32**, 245 B, (1929). Ch. Z. 1930, I, 605.

<sup>4)</sup> Masaji Kimura, J. Soc. chem. Ind. Japan (Suppl.) **37**, 199 B, 200 B, (1934), Ch. Z. 1934, II, 2993.

<sup>5)</sup> Calvery, J. Biol. Chem. **72**, 549, (1927); J. Biol. Chem. **68**, 593 (1926).

<sup>6)</sup> Masaji Kimura, J. Soc. chem. Ind. Japan. (Suppl.), **36**, 50 B, (1933); **36**, 85 B, (1933), **37**, 8 B, (1934). — Chem. Z. 1933, II, 3059, Ch. Z. 1933, II, 3059, Ch. Z. 1934, II, 153.

<sup>7)</sup> Suzuki, Odake, Mori, Biochem. Zeitschr., **154**, 278, (1924).

<sup>8)</sup> Cherbulliez et Bernhard, Helv. Chim. Acta, **15**, 464 (1932) et **15**, 978 (1932).

ces corps forment le cas échéant avec les acides nucléiques, mais il importe de souligner que p. ex. la ribose qui entre dans la composition du crotonoside, n'a été décelée jusqu'ici que dans les composés nucléiques et dans les flavines.

Des comparaisons curieuses viennent à l'esprit, lorsqu'on considère les rapports entre un parasite tel que l'ergot d'une part, et de l'autre le seigle et le froment, ces plantes lui servant le plus fréquemment d'hôtes. En effet, aussi bien l'ergot que ces céréales sont riches en composés nucléiques. La composition de l'acide nucléique extrait d'embryons de froment, nous est d'ailleurs bien connue.

### **Les procédés employés pour extraire l'acide nucléique de l'ergot.**

Pour isoler l'acide nucléique, on s'est servi d'ergot fraîchement recueilli, dont on soumettait des portions au lessivage dans une période s'étendant à six mois. L'ergot, préalablement pulvérisé, était lessivé d'abord avec de l'éther de pétrole, en vue de le dégraisser, cependant on ne put arriver à un dégraissage complet, vu les propriétés bien connues de l'ergot.

**Préparation I. Méthode d'Altmann<sup>1)</sup>.** 1 kg 200 gr d'ergot furent soumis pendant 1<sup>h</sup> à l'extraction, par une quantité cinq fois aussi forte de solution de NaOH à 1%, ensuite le matériel fut bien pressuré (le temps nécessaire à cette opération était compris dans l'espace d'une heure). Le liquide (environ 5 litres) fut additionné d'acide chlorhydrique jusqu'à ce que la réaction devint légèrement alcaline au papier tournesol, et acide à la phénolphaléine; ensuite il était fortement acidifié avec de l'acide acétique. Il se forma un abondant précipité floconneux de protéides qu'on abandonna pendant la nuit. On tira le lendemain à l'aide d'un siphon le liquide clair au-dessus du dépôt, puis on filtra sur des filtres à plis la couche renfermant le précipité. Les deux liquides réunis (environ 4.3 litres) furent traités par un volume égal d'alcool, qui contenait autant d'acide chlorhydrique qu'il fallait pour obtenir dans la solution aqueuse une première opacification persistante, puis pour produire une concentration de 2.5--3<sup>o</sup>/<sub>100</sub> de HCl libre dans le volume total du liquide. Un précipité d'acide

<sup>1)</sup> Altmann, Archiv f. Anat. u. Physiol. -- Physiol. Abt. 1889, 524.

nucléique floconneux et coloré se forma dans le liquide. Il fut filtré le lendemain, traité par de l'alcool concentré et abandonné pendant 24<sup>h</sup>. Le précipité fut filtré sous pression et trituré successivement dans de l'alcool à 95% et dans de l'éther. Il était placé ensuite pendant un certain temps dans le vide, enfin dans un dessiccateur, au-dessus d'acide sulfurique.

Après avoir appliqué les procédés décrits ci-dessus à 3 portions d'ergot, dont chacune pesait 1 kg 200 gr, soit à 3 kg 600 gr de matériel, on obtint 18.8 gr d'acide nucléique brut sous forme d'une poudre colorée, renfermant 6.19% de P et 10.95% de N, le rapport P:N équivalant à 1.76.

Pour le purifier, il était dissous dans quelques centaines de cm<sup>3</sup> d'eau, additionnée d'aussi peu d'ammoniaque que possible, puis on le précipitait avec de l'acide chlorhydrique et de l'alcool comme auparavant. Le précipité filtré fut redissous dans un petit excès d'ammoniaque dans 250 cm<sup>3</sup> d'eau, légèrement acidifié avec de l'acide acétique et traité par un volume égal d'alcool à 95%. Le précipité composé surtout d'impuretés, fut filtré le lendemain et le filtrat traité par de l'acide chlorhydrique jusqu'à ce qu'il contienne 3% de HCl libre dans le volume total. Le précipité formé était rapidement filtré, lavé avec de l'alcool à 50% et séché comme le précédent. On obtint ainsi 6.5 gr d'une poudre faiblement colorée.

Avant de l'analyser, elle fut séchée à une température de 95° jusqu'à poids constant.

0.2674 gr . . . . .	0.0812 gr Mg <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> = 8.45% P
0.2007 gr . . . . .	22.19 cm <sup>3</sup> n/10 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> = 15.47% N
	P : N = 1 : 1.84.

Préparation II. En appliquant la méthode décrite ci-dessus, deux portions de matériel d'une autre origine, dont chacune de 1.2 kg, puis une portion de 0.6 kg, soit 3 kg d'ergot, donnèrent 19.2 gr d'acide nucléique brut renfermant 9.22% de P et 9.12% de N, le rapport P:N étant de 1.098. Ces valeurs paraissaient indiquer que la préparation contenait des impuretés sous forme de composés inorganiques de phosphore. Le produit fut purifié d'après la méthode de Jones et Folkoff<sup>1)</sup>. On a dissous la

<sup>1)</sup> Jones a. Folkoff, Bull. Johns Hopkins Hosp. Baltimore, **33**, 433 (1922).

substance dans 250 cm<sup>3</sup> d'eau à l'aide d'un petit excès d'ammoniac en la chauffant doucement au bain-marie, ensuite on l'a traitée par un volume égal d'alcool à 95%, et neutralisé au tournesol avec de l'acide acétique.

Le filtrat fut additionné d'un volume égal d'alcool à 95% et le lendemain on sépara par filtration le précipité du liquide, puis on l'a dissous dans 250 cm<sup>3</sup> d'eau. Pour faire déposer le précipité, on le traita comme auparavant par de l'acide chlorhydrique et de l'alcool. Le dépôt fut lavé avec de l'alcool à 50% et traité comme d'habitude. On obtint ainsi 4.9 gr de préparation. Avant de l'analyser, elle fut séchée à une température de 95° jusqu'à poids constant.

0.2543 gr . . . . . 0.0757 gr Mg<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> = 8.30% P

0.2005 gr . . . . . 21.48 cm<sup>3</sup> n/10 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 15.00% N

P : N = 1 : 1.80.

Préparation III. Méthode de Clark et Schryver<sup>1)</sup>. Le matériel réduit en granules et dégraissé avec de l'éther de pétrole, fut soumis durant 48<sup>h</sup> à l'extraction alcoolique dans un percolateur et séché à l'air. On l'a fait bouillir ensuite pendant 2<sup>h</sup> dans de l'alcool, puis on le pressura et le sécha.

1.0 kg d'ergot fut digéré avec 10 litres de chlorure de sodium à 10% à 60—80° C. pendant 4—5 jours. Après avoir séparé le liquide et pressé les restes du précipité, on a traité les liquides réunis par 90 cm<sup>3</sup> d'acide chlorhydrique à 18.5%, en agitant énergiquement. Lentement apparaît un précipité caractéristique, fortement coloré, qui s'attache aux parois et au fond du récipient. Après 2<sup>h</sup> on a tiré le liquide surnageant, puis filtré et lavé le précipité jusqu'à ce qu'aient disparu les ions Cl et l'on continuait à le traiter comme d'habitude. On procéda ainsi avec 8 portions d'ergot de 1 kg chacune et l'on obtenait des différentes portions, 2.0 à 5.2 gr de préparation. La quantité globale d'acide nucléique s'élevait à 25.2 gr. L'acide en question était fortement coloré et contenait 4.60% de P ainsi que 11.78% de N. La valeur du rapport P:N correspondait à 1 : 2.56. Ce produit brut, purifié d'après la méthode d'Altman (comp. préparation I) a donné 13.9 gr de préparation.

1) Clarke a. Schryver, Biochem. J., 11, 319 (1917).

Avant de procéder à l'analyse, on séchait la préparation jusqu'à poids constant à une température de 95° C.

0.2500 gr . . . . .	0.0749 gr $Mg_2P_2O_7$ = 8.35% P
0.2035 gr . . . . .	21.24 cm <sup>3</sup> n/10 $H_2SO_4$ = 14.53% N
	P : N = 1 : 1.75.

Ces préparations se présentent sous forme de poudres légèrement colorées dont la teinte est caractéristique pour les substances colorantes que renferme l'ergot. La coloration de la préparation III était la plus intense.

Insolubles dans l'eau, ces préparations passent dans les solutions après y avoir ajouté des alcalis et de l'ammoniaque, et donnent des dilutions claires (la préparation III était presque claire). Elles donnent des réactions positives pour les composants typiques de l'acide nucléique tiré de la levure.

La teneur en P oscille entre 8.30 et 8.45%, tandis que la teneur en N varie de 14.63 à 15.47. Le rapport P:N est sujet à des fluctuations comprises entre 1:1.75 et 1:1.84. Il convient de mentionner le fait que pour une autre préparation que nous avons isolée et décrite<sup>1)</sup>, on obtint les valeurs suivantes: P = 8.73, N = 15.21, P : N = 1 : 1.74.

D'après la formule généralement admise, que Levene a proposée pour l'acide phytonucléique, sa teneur en P s'élève à 9.51%, celle en N correspond à 16.11%, tandis que le rapport P:N équivaut à 1:1.70. Il en est autrement de la formule de Kowalewsky<sup>2)</sup>, plus d'une fois discutée dans la littérature scientifique, mais n'ayant que peu d'arguments à son appui. Cette formule qui admet une structure trinuéclotide, réclame les valeurs suivantes: P = 9.34, N = 18.26, P : N = 1 : 1.96.

Les propriétés chimiques et physicochimiques des acides nucléiques nous expliquent comment il se fait que les chercheurs se servaient jusqu'à présent de préparations plus ou moins impures, circonstance à laquelle on n'attachait pas beaucoup d'importance. Quant aux préparations que nous avons obtenues nous-mêmes, elles sont suffisamment pures pour faire les recherches que nous nous sommes proposé d'entreprendre. Le rapport P:N

<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> Kowalewsky, Z. f. Physiol. Chem. **69**, 240 (1910).

se rapproche beaucoup de celui que réclame la théorie. Conformément aux observations enregistrées par Osborne et Harris<sup>1)</sup>, il faut expliquer un certain excédent d'azote, par le fait que l'acide nucléique précipité dans une solution renfermant des sels d'ammonium, contient toujours une certaine quantité de composés ammoniacaux.

### Les bases puriques.

Toutes les recherches exécutées jusqu'à présent s'accordent à constater que tous les acides nucléiques jusqu'ici étudiés, qu'ils soient simples ou composés, qu'on trouve dans la nature ne contiennent que deux bases puriques préexistantes, savoir: la guanine (2-amino-6-oxyurine) et l'adénine (6-aminopurine).

En 1927 Buell et Perkins<sup>2)</sup> découvrirent comme produit de l'hydrolyse des acides nucléiques du sang de porc, une nouvelle base purique, notamment la 2-oxy-6-aminopurine que ces auteurs appelèrent oxyadénine. Ils l'ont considérée comme un produit d'oxydation de l'adénine et, se rapportant à l'opinion de Fischer, ils ont insisté sur la nécessité de ne pas perdre de vue la possibilité de la présence de cette base qu'on avait complètement négligée jusqu'ici dans les recherches sur les acides nucléiques.

En 1932 Cherbulliez et Bernhard<sup>3)</sup>, décrivant la façon d'isoler le nucléoside, nommé crotonoside, identifient l'aglucon comme 2-oxy-6-aminopurine. Ils l'appellent *isoguanine* à cause de son isomérisation avec la guanine (2-amino-6-oxyurine) et nient son identité avec l'oxyadénine de Buell et Perkins.

Ces temps derniers Schütz<sup>4)</sup> a vainement essayé d'isoler l'oxyadénine du sang de porc, c'est pourquoi il doute de l'identité de l'oxyadénine avec l'isoguanine et avec la 2-oxy-6-aminopurine synthétique. L'isoguanine et sa présence éventuelle dans les acides nucléiques est donc toujours d'actualité et réclame encore des recherches. Comme les propriétés de l'isoguanine se rapprochent beaucoup de celles de la guanine isomère, on peut facilement confondre ces deux substances.

1) Osborn a. Harris, Z. Physiol. Chem. **36**, 85 (1902).

2) Buell a. Perkins, J. Biol. Chem. **72**, 745 (1927).

3) l. c.

4) Schütz, Biochem. Z., **273**, 52 (1934).

Tout ce que nous savons sur la quantité globale de bases puriques dans les acides nucléiques, qu'ils soient d'origine animale ou végétale et toutes nos connaissances sur les rapports quantitatifs entre ces bases, s'appuient surtout sur les procédés appliqués pour les isoler qualitativement. On a admis d'après la quantité des dérivés isolés de la purine, que la molécule d'acide nucléique tirée de la levure, renferme deux bases, savoir: la guanine et l'adénine dont le rapport est équimoléculaire. On ne trouve guère dans la littérature de données précises sur cette question et si on les découvre, elles laissent souvent beaucoup à désirer au point de vue méthodologique.

Steudel et Peiser<sup>1)</sup> ont dernièrement exprimé l'opinion que «les recherches entreprises jusqu'ici, y compris celles de Kowalewsky, ne sont pas toujours irréprochables; en effet le dosage des bases puriques et pyrimidiques entraîne de fortes pertes de substance; d'autre part les dosages des pentoses sont également très inexacts».

Le manque d'une méthode appropriée se fait surtout sentir, lorsqu'il s'agit de doser les acides nucléiques dans de petites quantités de matériel; en effet, les dosages entrepris jusqu'à présent ont été exécutés en se servant de fortes quantités de celui-ci. Dans cet état de choses, nous avons résolu de nous occuper du dosage des bases puriques dans les acides nucléiques, de fixer une méthode adéquate et de faire une série de déterminations.

La teneur totale en bases puriques des acides nucléiques a fait l'objet de plusieurs travaux dans le courant des dernières années. Ainsi Kollmann<sup>2)</sup> admet qu'il est indispensable de procéder à une double précipitation, d'abord sous forme de composés cuivreux, puis sous celle de composés d'argent. S'appuyant sur les résultats obtenus, il conclut cependant que cette méthode donne des valeurs trop basses, vu qu'elles sont inférieures de 20 à 30% à celles qu'on pouvait s'attendre à obtenir. Alders<sup>3)</sup> confirme l'exactitude des résultats de Kollmann et Assenhajm<sup>4)</sup> contrôle encore une fois la méthode en se ser-

<sup>1)</sup> Steudel u. Peiser, *Die Nucleinkörper*, Klein's Handbuch der Pflanzenanalyse B. IV, 434 (1934).

<sup>2)</sup> Kollmann, *Biochem. Z.* **144**, 219 (1924).

<sup>3)</sup> Alders, *Biochem. Z.* **181**, 400 (1927).

<sup>4)</sup> Assenhajm, *Acta Biol. Exp.* **4**, 167 (1929).

vant de préparations d'acide nucléique de levure, en vente dans le commerce (Merck et Böhringer). Après une double précipitation par du cuivre, il n'obtint qu'une perte en azote purique équivalant à 66%, tandis que la précipitation combinée par du cuivre et de l'argent donne 81—83% d'azote purique, c'est-à-dire des valeurs rapprochées de celles de Kollmann et Alders.

Travaillant sous la direction de Fürth<sup>1)</sup>, Leipert et Kurokawa précipitent une seule fois avec du cuivre. Après l'hydrolyse durant 4 heures avec de l'acide sulfurique à 25%, ils obtiennent pour les préparations en vente dans le commerce 91.3 à 96.5% de la quantité de N purique que réclame la théorie, tandis que dans les préparations purifiées cette quantité correspond en moyenne à 99.5%.

En rapportant les résultats des déterminations quantitatives concernant les acides nucléiques, il est indispensable, à notre avis, non seulement de les comparer avec les quantités d'acide soumises à l'analyse, car il importe également de tenir compte de la pureté de la préparation. En effet toutes les préparations, dont les auteurs se sont servis, renfermaient plus ou moins d'impuretés dont on ne peut débarrasser l'acide nucléique que dans une certaine mesure. Comme critérium de la pureté de telle ou telle autre préparation et comme mesure de sa teneur en acide nucléique pure, on doit considérer le rapport du taux de phosphore à la teneur théorique en ce élément ( $P = 9.51\%$  d'après Levene). Nous nous en tiendrons à cette règle dans toutes nos déterminations quantitatives de l'acide nucléique.

A la lumière de ces considérations, on s'aperçoit que les chiffres cités par les auteurs mentionnés (sans excepter les valeurs obtenues par Leipert et Kurokawa) ne sont pas probants, vu que ces chercheurs rapportent directement au poids de l'acide nucléique les quantités décelées d'azote purique, sans tenir compte de la pureté de l'acide. Dans ces conditions il faut considérer les valeurs obtenues comme inférieures aux valeurs réelles, surtout quand on se sert de préparations fortement souillées, comme on les trouve dans le commerce.

Pour déterminer quantitativement les purines, la meilleure, la plus commode et la plus exacte est la méthode consistant à les

<sup>1)</sup> Fürth, Leipert u. Kurokawa, *Biochem. Z.* **246**, 1 (1932).

précipiter en présence d'ammoniaque, au moyen d'une solution ammoniacale de chlorure ou de nitrate d'argent, formant des composés Pur-Ag<sub>2</sub>O. On peut aussi les précipiter dans une solution faiblement acidulée en les traitant par du sulfate de cuivre et du bisulfite de sodium à la température d'ébullition, en présence d'une certaine quantité de sels d'un faible acide et d'une base forte (acétate de sodium) avec formation d'un composé Pur-Cu<sub>2</sub>O<sup>1)</sup>.

Les réactions analytiques mentionnées des purines sont sensibles et assez spécifiques. Les précipités plusieurs fois soigneusement lavés à l'eau bouillante sont ensuite bouillis avec de la magnésie, afin de les débarrasser des composés ammoniacaux adsorbés et de les doser, en appliquant la méthode de Kjeldahl. Pour fixer une méthode appropriée, on a effectué une série de dosages d'azote purique en se servant d'acide nucléique en vente dans le commerce, provenant de la firme Böhringer, et dont la teneur en P équivalait à 8·64%, tandis que la teneur en N correspondait à 15·55%.

En hydrolysant pendant 1<sup>h</sup>, avec de l'acide sulfurique à 10% à la température de l'eau bouillante et en précipitant les bases puriques à l'état de composés d'argent, on obtint 10·54 et 10·56 atomes N pour 4 atomes P. La précipitation à l'état de composés cuivreux a donné 10·69—10·85 atomes N pour 4 atomes P. Nous supposons que ces résultats différents de ceux que réclame la théorie, s'expliquent par l'adsorption d'autres corps sur le copieux précipité floconneux, que, malgré les plus soigneux lavages, nous n'avons pas réussi à débarrasser de ses impuretés.

Cette supposition a été confirmée par les essais suivants, où l'on a appliqué une double précipitation, sous forme de composés d'argent, après avoir préalablement décomposé le premier dépôt par de l'hydrogène sulfuré et où on a obtenu 10·06 et 10·07 atomes N pour 4 atomes P. En appliquant la première fois la précipitation des composés cuivreux et la seconde fois, après la décomposition de ceux-ci par l'hydrogène sulfuré, l'isolation au moyen de composés d'argent, nous avons obtenu 10·02 et 10·21 atomes N pour 4 atomes P. On voit que la combinaison arbitraire des deux méthodes donne des résultats concordants; cependant le sulfure d'argent, plus commode au cours des opérations, nous fait préférer la première combinaison (emploi de sels d'argent Ag-Ag).

<sup>1)</sup> v. p. ex. Jones, *Nucleic Acids* (1920).

Pour doser dans l'acide nucléique l'azote total de purines, il est donc nécessaire de procéder à une double précipitation de celles-ci et de doser l'azote dans le précipité par la méthode de Kjeldahl.

TABLEAU I.

No	Ac. nucl. en gr séché à 95° P = 8.64%	Ac. nucl. en gr calculé d'après la teneur en P	Hydrolyse t = 100°		Moyen de précipiter les bas. pur.	Quantité de N	% de N pur.	Quantité d'atomes N pour 4 atomes P
			durée	5 cm <sup>3</sup> d'acide				
1	0.2596	0.2358	1 <sup>h</sup>	10%	Cu	0.02707	11.48%	10.69
2	0.2538	0.2305	1 <sup>h</sup>	10%	Cu	0.02689	11.66%	10.85
3	0.2520	0.2289	1 <sup>h</sup>	10%	Ag	0.02595	11.33%	10.54
4	0.2562	0.2327	1 <sup>h</sup>	10%	Ag	0.02641	11.35%	10.56
5	0.2512	0.2282	1 <sup>h</sup>	10%	Ag-Ag	0.02472	10.83%	10.08
6	0.2713	0.2463	1 <sup>h</sup>	10%	Ag-Ag	0.02664	10.81%	10.06
7	0.2615	0.2375	1 <sup>h</sup>	10%	Cu-Ag	0.02557	10.76%	10.02
8	0.2440	0.2216	1 <sup>h</sup>	10%	Cu-Ag	0.02431	10.97%	10.21
9	0.2528	0.2297	1 <sup>h</sup>	5%	Ag-Ag	0.02566	11.12%	10.35
10	0.2571	0.2335	1 <sup>h</sup>	5%	Ag-Ag	0.02620	11.22%	10.44
11	0.2547	0.2314	1 <sup>h</sup>	2½%	Ag-Ag	0.02467	10.66%	9.92
12	0.2522	0.2291	1 <sup>h</sup>	1¼%	Ag-Ag	0.01981	8.54%	8.04

Les résultats obtenus nous apprenent qu'après l'hydrolyse complète, soit après avoir appliqué pendant 1<sup>h</sup> de l'acide sulfurique à une température de 100°, on trouve dans l'acide nucléique de levure 10 atomes de N purique pour 4 atomes de P, même si l'on tient compte des pertes insignifiantes attribuables à la désamination partielle de la guanine. Ce rapport de P à N s'accorde avec les suppositions théoriques sur lesquelles s'appuie la formule de Levene. La teneur des préparations en N purique, exprimée en %, se rapproche de très près de la valeur théorique 10.74.

Le dosage de l'azote purique total, effectué en nous servant de l'acide nucléique que nous avons isolé de l'ergot et en appliquant la méthode indiquée ci-dessus, donna les résultats suivants:

0.2511 gr prép. III = 0.2204 gr d'ac. nucl.

0.02375 gr N—10.77% N pur. 10.03 at. N:4 at. P.

0.2505 gr prép. I = 0.2228 gr d'ac. nucl.

0.02423 gr N—10.87% N pur. 10.12 at. N:4 at. P.

On s'aperçoit que nos résultats s'accordent non seulement avec la formule de Levene, mais aussi avec les données analogues que nous avons obtenues pour l'acide nucléique de levure.

Après avoir déterminé la quantité globale des purines de l'acide nucléique, il s'agissait du problème relatif au rapport quantitatif entre les différentes purines que renferme cet acide. Comme l'acide nucléique ne contient que deux bases puriques: la guanine et l'adénine, il fallait absolument les séparer, en précipitant préalablement la guanine.

L'ammoniaque, l'acide acétique et l'acide métaphosphorique, sont les réactifs les plus appropriés pour précipiter la guanine et laisser en solution l'adénine. Nous avons examiné d'abord comment se comporte la guanine envers ces réactifs, d'autant plus que les données sur ce sujet sont soit incomplètes, soit qu'elles font défaut.

On se sert surtout d'ammoniaque pour précipiter la guanine, lorsqu'il s'agit de l'isolation qualitative de cette substance. D'après la littérature elle est »presque insoluble« respectivement »guère soluble« dans les solutions ammoniacales. La solubilité augmente à mesure que la température et la concentration de l'ammoniaque montent. Quoique le reste de guanine dans la solution ammoniacale ne joue pas un grand rôle quand on isole de plus grandes quantités de cette substance, il n'en est pas moins vrai que ce reste empêche d'obtenir des résultats précis lorsqu'on applique cette méthode pour séparer ces bases. L'ammoniaque ne précipite ni l'adénine, ni la xanthine, ni l'hypoxanthine.

Nous procédions comme suit en faisant les dosages: dans une capsule de verre à fond arrondi, nous introduisons 5 ou 10 cm<sup>3</sup> d'une solution de guanine, diluée dans une solution d'hydrate de soude caustique, puis nous ajoutons de l'eau jusqu'à 10 cm<sup>3</sup>, en tenant compte de l'ammoniaque à ajouter ensuite. Après avoir placé la capsule au bain-marie, nous ajoutons autant d'acide sulfurique qu'il fallait pour obtenir à chaud une solution acide de sulfate de guanine. Le liquide chaud était neutralisé avec de l'ammoniaque dont on a ajouté ensuite la quantité qu'il fallait pour obtenir la concentration d'ammoniaque nécessaire dans la solution. Il se forme lentement un précipité blanc et laiteux. La capsule est enlevée du bain-marie, couverte et abandonnée pendant 24 heures. On procède ensuite au filtrage du précipité sur un filtre de 6 cm

de diamètre, on lave 5 fois avec  $2.5 \text{ cm}^3$  de liquide de la même composition, que celui employé dans la précipitation, en faisant passer toute la guanine sur le filtre. On introduit le dépôt avec le filtre dans un matras de Kjeldahl, fait bouillir avec de la magnésie, afin de chasser l'ammoniaque, puis on calcine et détermine l'azote d'après la méthode de Kjeldahl, et l'on calcule la quantité de guanine.

TABLEAU II.

No	Quantité de guanine en gr	Concentr. de guanine dans la solution	Moyen de précipitation	Guanine trouvée	
				en gr	en % de la quantité moyenne
1	0.02579	0.25%	1% $\text{NH}_3$	0.02256	87.5%
2	0.02467	0.25%	2% $\text{NH}_3$	0.02220	89.5%
3	0.04935	0.5%	2% $\text{NH}_3$	0.04636	93.9%
4	0.02467	0.25%	5% $\text{NH}_3$	0.02002	81.1%
5	0.02467	0.25%	10% $\text{NH}_3$	0.01724	73.8%
6	0.02540	0.25%	1% $\text{NH}_3$ + 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.02534	99.7%
7	0.02579	0.25%	2% $\text{NH}_3$ + 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.02543	98.5%
8	0.02540	0.25%	2% $\text{NH}_3$ + 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.02594	98.2%
9	0.02467	0.25%	2% $\text{NH}_3$ + 2½% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.02362	95.6%
10	0.02467	0.25%	2% $\text{NH}_3$ + 5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.02362	95.6%
11	0.02540	0.25%	5% $\text{NH}_3$ + 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.02470	97.2%
12	0.02448	0.125%	1% $\text{NH}_3$ + 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.02380	97.3%

Les résultats obtenus indiquent qu'en se servant d'une solution d'ammoniaque pure dans la précipitation et le lavage, on aboutit à des valeurs qui ne permettent pas d'évaluer quantitativement la guanine, surtout quand il s'agit de petites quantités de celle-ci. La perte en substance s'élève à 6—26% et augmente à mesure que monte la concentration de l'ammoniaque employé et que la concentration de la guanine diminue.

Nous avons pu établir que les sels ammoniacaux ont une grande influence sur la solubilité de la guanine dans un milieu ammoniacal. Nous aboutîmes à des résultats satisfaisants, en additionnant le liquide, avant de le traiter par de l'ammoniaque, de quantités

définies de sulfate d'ammonium et en appliquant aux lavages une solution contenant la même quantité de sulfate d'ammonium. Les plus faibles concentrations d'ammoniaque, p. ex. à 1%, sont les plus appropriées, car une plus forte teneur en sels dissout le précipité. En précipitant par un mélange d'ammoniaque à 1% et de sulfate d'ammonium à 1%, ni le filtrat, ni les liquides employés aux lavages ne donnent immédiatement de précipité avec une solution ammoniacale de nitrate d'argent, et ce n'est qu'après un temps plus prolongé, qu'apparaît un trouble très léger. L'addition d'autres sels minéraux, comme le sulfate de sodium, n'a pas d'influence sur la solubilité.

Nous constatons en somme, que la précipitation de la guanine par l'ammoniaque, en présence de quantités définies de sulfate d'ammonium s'effectue presque quantitativement, de sorte qu'elle permet de doser cette base purique, non seulement dans les produits de l'hydrolyse des acides nucléiques, mais aussi au cours d'autres déterminations biochimiques. La concentration: ammoniaque à 1% + sulfate d'ammonium à 1%, est la plus appropriée.

Nous avons étudié également la manière de se comporter de la guanine envers l'acide acétique. Ce réactif précipite la guanine, laissant l'adénine en solution, cependant il précipite aussi l'hypoxanthine et la xanthine. L'acide formique et, vraisemblablement, aussi les autres acides organiques, se comportent d'une manière analogue. Décrivant une méthode d'isoler les bases puriques des acides nucléiques, Levene et Jorpes<sup>1)</sup> se servent d'acide acétique pour isoler la guanine. D'après ces auteurs 1.000 gr de guanine dissoute dans de la soude caustique, puis précipitée par de l'acide acétique, donnent 0.968 gr.

En procédant aux dosages nous avons versé dans une petite capsule de verre à fond arrondi, une quantité définie d'une solution titrée de guanine dans la soude caustique; ensuite nous l'avons diluée avec de l'eau suivant la concentration nécessaire, en tenant compte du volume d'acide acétique à ajouter. La solution était chauffée au bain-marie, neutralisée avec de l'acide acétique et additionnée de cet acide jusqu'à la concentration voulue. On procédait ensuite comme on l'avait fait pour précipiter la guanine par de l'ammoniaque.

<sup>1)</sup> Levene et Jorpes, J. Biol. Chem. **86**, 389 (1930).

TABLEAU III.

No	Quantité de guanine en gr	Concentration de la guanine dans la solution	Moyen de précipitation	Guanine trouvée		Remarques
				en gr	en % de la quantité employée	
1	0.04936	0.5%	1% HCOOH	0.04771	96.7%	
2	0.02448	0.125%	1% CH <sub>3</sub> COOH	0.02380	97.3%	
3	0.02467	0.25%	1% CH <sub>3</sub> COOH	0.02449	99.3%	
4	0.04935	0.5%	1% CH <sub>3</sub> COOH	0.04911	99.5%	
5	0.02468	0.25%	5% CH <sub>3</sub> COOH	0.02413	97.8%	
6	0.02579	0.25%	10% CH <sub>3</sub> COOH	0.02555	99.0%	
7	0.02448	0.25%	1% CH <sub>3</sub> COOH	0.02407	98.3%	filtré après 15m à chaud
8	0.02347	0.25%	1% CH <sub>3</sub> COOH	0.02338	99.5%	dtto
9	0.02448	0.25%	1% CH <sub>3</sub> COOH	0.02371	96.8%	dtto

Comme le montre le tableau ci-contre, l'acide acétique précipite la guanine quantitativement, mais il faut éviter d'employer une concentration au-dessous d'un certain minimum de guanine. Des concentrations plus élevées du réactif donnent des résultats plus médiocres, aussi la concentration de 1% est-elle la plus appropriée. La filtration immédiate à chaud donne des résultats analogues à ceux obtenus après 24<sup>h</sup> de repos. L'emploi d'acide formique au lieu d'acide acétique n'offre aucun avantage.

L'acide métaphosphorique est le troisième réactif dont nous nous sommes servis pour doser la guanine. Wulff<sup>1)</sup> a décrit entre autres l'action de l'acide métaphosphorique sur les bases puriques. Cet acide n'agit pas sur l'hypoxanthine, tandis que l'adénine donne un précipité soluble dans des alcalis et des acides dilués, selon leurs concentrations, ainsi que dans l'excès du réactif. La guanine forme un précipité soluble dans les alcalis, peu soluble dans les acides minéraux dilués, insolubles dans l'eau et dans l'excès de l'acide métaphosphorique.

Les procédés employés au cours des dosages étaient analogues à ceux appliqués dans les essais où l'on se servait d'acide acétique, toutefois le précipité était filtré après une 1/2 h.

<sup>1)</sup> Wulff, Z. physiol. chem. **17**, 468 (1893).

TABLEAU IV.

No	Quantité de guanine	Concentration de la guanine dans la solution	Moyen de précipitation	Guanine trouvée	
				en gr	en % de la masse employée
1	0.02579	0.25%	1% HPO <sub>3</sub>	0.02419	93.8%
2	0.02579	0.25%	5% HPO <sub>3</sub>	0.02452	98.9%
3	0.02579	0.25%	10% HPO <sub>3</sub>	0.02437	98.4%

Il appert du tableau ci-dessus que la précipitation de la guanine donne de bons résultats, lorsque la concentration de l'acide métagosphorique varie de 5 à 10%. Le précipité ne se laisse que difficilement filtrer et laver.

En fait d'autres méthodes pour doser la guanine, qui ne réclament pas la séparation de celle-ci, il nous faut mentionner la méthode enzymatique de Schmidt et Engel<sup>1)</sup> et la méthode iodométrique de Grynberg<sup>2)</sup>, appliquée par Dmochowski, Zajdeman et Rabanowska<sup>3)</sup> pour doser la guanine des muscles.

Après avoir fixé les conditions optimum de la précipitation avec les réactifs décrits plus haut, nous avons étudié la précipitation de la guanine en présence d'adénine.

Nous savons qu'en se précipitant, la guanine entraîne avec elle d'autres corps que renferme la solution, entre autres l'adénine. Nous nous sommes proposé d'établir si, en choisissant des concentrations appropriées de la précipitation, nous ne réussirons pas à précipiter la guanine tout en laissant dans la solution le contenu entier d'adénine.

Le mode du dosage était analogue à celui dont on s'était servi pour doser la guanine, à la différence près qu'on additionnait la solution d'une quantité à peu près équimoléculaire d'adénine.

<sup>1)</sup> Schmidt u. Engel, Z. physiol. chem. **208**, 225 (1932).

<sup>2)</sup> Grynberg, Z. physiol. Ch. **253**, 143 (1932).

<sup>3)</sup> Dmochowski, Zajdeman u. Rabanowska, Z. physiol. Ch. **279**, 289 (1935).

TABLEAU V.

No	Guanine en gr	Adénine en gr	Concentration de la guanine resp. de l'adénine en %	Moyen de précipitation	Guanine		Remarques
					en gr	trouvée en % de la quantité employée	
1	0.02448	0.025	0.125	1% NH <sub>3</sub> + 1% (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.02498	102.3	fut précip. en milieu alcal. NaOH par NH <sub>4</sub> SO <sub>4</sub>  filtré à chaud solut. acide d'acétate d'ammonium filtré après 12 h.  } double précipit.
2	0.02540	0.025	0.25	1% NH <sub>3</sub> + 1% (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.02691	105.8	
3	0.02540	0.025	0.25	2% NH <sub>3</sub> + 1% (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.02640	103.1	
4	0.02540	0.025	0.25	5% NH <sub>3</sub> + 1% (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.02652	104.4	
5	0.02448	0.025	0.25	2% NH <sub>3</sub> + 1% (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.02582	105.4	
6	0.02448	0.025	0.25	1% CH <sub>3</sub> COOH	0.02588	105.7	
7	0.02540	0.025	0.25	1% CH <sub>3</sub> COOH	0.02712	106.7	
8	0.02540	0.025	0.25	5% CH <sub>3</sub> COOH	0.02781	109.5	
9	0.02540	0.025	0.25	10% CH <sub>3</sub> COOH	0.02770	109.0	
10	0.02448	0.025	0.25	1% CH <sub>3</sub> COOH	0.02996	97.8	
11	0.02448	0.025	0.25	1% CH <sub>3</sub> COOH	0.03301	137.0	
12	0.02448	0.025	0.25	5% HPO <sub>3</sub>	0.02579	105.3	
13	0.02347	0.025	0.25	1% NH <sub>3</sub> + 1% (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.02277	97.0	
14	0.02347	0.025	0.25	1% NH <sub>3</sub> + 1% (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>2</sub>	0.02322	99.2	
15	0.02347	0.025	0.25	1% CH <sub>3</sub> COOH	0.02280	97.2	
16	0.02347	0.025	0.25	1% CH <sub>3</sub> COOH	0.02410	102.7	

Il résulte du tableau V que lorsqu'on emploie diverses concentrations des trois réactifs dans des conditions de précipitations différentes, en ayant soin de garder à peu près le même rapport équimoléculaire entre les deux bases, on obtient pour la guanine des valeurs supérieures de 2.3 à 9.5% aux données théoriques. De faibles concentrations, telles qu'une solution d'ammoniaque à 1% + une solution de sulfate d'ammonium et d'acide acétique à 1% donnent les meilleurs résultats. L'acide métaphosphorique à 5%, qui précipite totalement la guanine en 1/2 h, n'agit qu'après 12 h en présence d'adénine.

Nous ne nous sommes pas plus longuement occupés de l'acide métaphosphorique comme réactif précipitant la guanine, car ces

précipités filtrent et se lavent difficilement. On obtient de bons résultats par une précipitation avec de l'acide acétique à 1% en filtrant encore à chaud, cependant cette méthode ne se prête pas à isoler les bases puriques de l'acide nucléique, vu qu'elle retarde la précipitation de la guanine. En conséquence, nous avons fait une double précipitation de la guanine, en procédant comme suit: le premier précipité de guanine obtenu comme d'habitude, était dissous deux fois sur le filtre avec 2.5 cm<sup>3</sup> de soude caustique bouillante à 1% et quatre fois avec autant de cette substance à 0.5%. Tous les liquides étaient recueillis dans la capsule où l'on avait précédemment opéré la précipitation. Après l'avoir acidifié avec de l'acide sulfurique dilué, on évaporait au volume de 10 cm<sup>3</sup> et précipitait une fois encore comme d'habitude. Les résultats s'accordent avec les données théoriques. Pour précipiter quantitativement la guanine, en présence d'adénine, il faut donc précipiter 2 fois, soit avec de l'ammoniaque à 1% + du sulfate d'ammonium à 1%, soit avec de l'acide acétique à 1%.

Après avoir établi les méthodes d'isolation des bases puriques pour des substances pures, nous avons étudié le même problème sur les produits de l'hydrolyse de l'acide nucléique. Nous voulons insister à ce propos sur deux points. Nous avons dosé la quantité de substance recherchée dans les produits finals, en déterminant l'azote d'après Kjeldahl dans le précipité minéralisé avec le filtre. Les dosages gravimétriques souvent appliqués dans ces déterminations ne nous paraissent pas appropriés. En effet les dépôts de guanine sont fortement souillés, de sorte qu'au lieu de 46.35% de N ils n'en contiennent que 35%. En se déposant, la guanine entraîne divers corps que renferme la solution, par conséquent aussi des substances azotées telles que les humines. D'autre part, ces corps peuvent entraver, voir même rendre impossible la précipitation de la guanine. Les processus de la précipitation doit donc avoir lieu après avoir préalablement séparé les purines des autres produits de l'hydrolyse de l'acide nucléique.

Jusqu'à présent on a toujours dosé l'adénine dans le filtrat de guanine par la méthode gravimétrique, en l'obtenant sous forme de picrate. Si l'on est sûr cependant qu'en fait des bases puriques l'acide nucléique ne renferme que de l'adénine à côté de la guanine (on peut éviter la formation de xanthine et d'hypoxanthine en choisissant les conditions de l'hydrolyse d'une ma-

nière appropriée), la méthode la plus exacte et la plus commode consiste à précipiter l'adénine comme composé d'argent ou comme composé cuivreux et à doser l'azote d'après Kjeldahl dans le produit obtenu.

Après une série d'essais, nous avons fixé la méthode suivante pour doser les différentes bases puriques dans les acides nucléiques: 0.25 gr environ d'acide nucléique sont hydrolysés par 5 cm<sup>3</sup> d'ac. sulfurique à 2.5—10% dans un petit ballon muni d'un tuyau de reflux. Le ballon est plongé dans l'eau bouillante. On précipite les purines avec  $\text{Ag} + \text{NH}_3$  (ou bien avec  $\text{CuSO}_4 + \text{NaHSO}_3$ ) et l'on décompose les composés formés avec de l'hydrogène sulfuré comme d'habitude. On concentre ensuite jusqu'à un volume de 10 cm<sup>3</sup> et l'on précipite deux fois la guanine avec de l'ammoniaque ou de l'acide acétique, suivant le réactif employé, ainsi que nous l'avons dit précédemment. Les filtrats restés après la précipitation de la guanine, qui contiennent de l'adénine, sont légèrement acidifiés avec de l'acide sulfurique, puis l'adénine est précipitée avec  $\text{CuSO}_4 + \text{NaHSO}_3$  ou bien avec  $\text{Ag} + \text{NH}_3$ , comme d'habitude.

Il est préférable de se servir d'ammoniaque que d'acide acétique pour précipiter la guanine, vu que l'ammoniaque ne précipite pas en même temps la xanthine et l'hypoxanthine, comme le fait cet acide. Inutile de dire que les deux procédés sont tout aussi appropriés, lorsque l'hydrolyse est modérée et n'entraîne pas la désamination des aminopurines.

Le tableau VI donne les résultats du dosage de la guanine dans l'acide nucléique en vente dans le commerce, provenant de la firme Böhringer. Il en résulte que, suivant la manière d'hydrolyser, le rapport de la guanine à l'adénine oscille entre 1:1.1—1:1.3 et se rapproche en général du rapport équimoléculaire. Lorsque la concentration dépasse 2 $\frac{1}{2}$ % de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , la guanine se désamine déjà partiellement et passe en xanthine, ce qui diminue évidemment la quantité de guanine et fait monter les valeurs de l'adénine. On se rend bien compte, en jetant un coup d'oeil sur le tableau ci-contre. Après une hydrolyse d'une heure avec de l'acide sulfurique à 10% et précipitation avec de l'ammoniaque, le rapport entre les deux bases correspond à 1:1.3; l'acide sulfurique à 5% le fait tomber à 1:1.16; avec de l'acide sulfurique à 2.5% et à 1.25% on obtient la valeur 1:1.1. L'acide sulfurique à 5% appliqué pendant 1 h produit encore une entière séparation

TABLEAU VI.

No	Ac. nucl. en gr	Ac. nucl. pure en gr	Teneur théorique d'après formule de Levene		Concentration de l'acide sulfurique	Durée de l'hydrolyse	Moyen de séparation des bases puriques	Trouvée		Rapport		
			guanine	adénine				en gr	en gr	en % de la teneur théorique	adénine en gr	guanine:adénine
1	0-2729	0-2479	0-02871	0-02566	100%	1h	10/0 CH <sub>3</sub> COOH	0-02705	0-02788	94.1	108.6	1:1.15
2	0-2652	0-2409	0-02790	0-02491	100%	1h	10/0 CH <sub>3</sub> COOH	0-02583	0-02868	92.6	115.0	1:1.24
3	0-2734	0-2520	0-02910	0-02601	100%	1h	10/0 NH <sub>3</sub> + 10/0 (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0-02627	0-03020	90.2	116.1	1:1.28
4	0-2660	0-2416	0-02794	0-02498	100%	1h	10/0 NH <sub>3</sub> + 10/0 (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0-02458	0-02908	88.0	116.4	1:1.32
5	0-2491	0-2262	0-02620	0-02341	50%	1h	10/0 NH <sub>3</sub> + 10/0 (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0-02520	0-02634	96.2	112.4	1:1.16
6	0-2537	0-2304	0-02668	0-02385	50%	2h	10/0 NH <sub>3</sub> + 10/0 (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0-02476	0-02655	92.7	111.2	1:1.19
7	0-2654	0-2411	0-02792	0-02495	2.50%	1h	10/0 NH <sub>3</sub> + 10/0 (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0-02545	0-02529	91.1	101.3	1:1.11
8	0-2615	0-2375	0-02750	0-02458	2.50%	4h	10/0 NH <sub>3</sub> + 10/0 (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0-02488	0-02788	90.5	113.4	1:1.25
9	0-2458	0-2233	0-02885	0-02312	1.250%	1h	10/0 NH <sub>3</sub> + 10/0 (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0-01966	0-01981	76.0	85.6	1:1.12
10	0-2567	0-2332	0-02701	0-02414	0.60%	1h	10/0 NH <sub>3</sub> + 10/0 (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0-01450	0-01722	53.7	71.3	1:1.32

des bases puriques. Etant donné que pendant la précipitation par l'ammoniaque 2% environ de guanine passent dans la fraction d'adénine, le rapport des deux bases devrait être diminué de 0.05 pour l'adénine.

Nous avons exécuté des dosages analogues de la guanine et de l'adénine dans l'acide nucléique que nous avons isolé de l'ergot. L'hydrolyse durait 1<sup>h</sup>; l'acide sulfurique était porté à 100°.

0.2840 gr prép. I = 0.2524 gr ac. nucl.				0.01357 gr N guan.
				0.014476 gr N adén.
	calculée:	trouvée:	en%	
guanine	0.02923 gr	0.02884 gr	98.6	
adénine	0.02614 gr	0.02791 gr	106.7,	guanine: adénine = 1:1.08
0.2627 gr prép. I = 0.2424 gr ac. nucl.				0.01229 gr N guan.
				0.01292 gr N adén.
	calculée:	trouvée:	en%	
guanine	0.02808 gr	0.02651 gr	94.4	
adénine	0.02491 gr	0.02509 gr	99.2;	guanine: adénine = 1:1.05
0.2573 gr prép. III = 0.2259 gr ac. nucl.				0.00990 gr N guan.
				0.01167 gr N adén.
	calculée:	trouvée:	en%	
guanine	0.02616 gr	0.02135 gr	81.4	
adénine	0.02339 gr	0.02250 gr	96.2;	guanine: adénine = 1:1.18

Les résultats de l'analyse de la préparation I fournissent la preuve, que l'acide nucléique de l'ergot renferme les deux bases puriques dont le rapport est équimoléculaire. La préparation III révèle quelques écarts qui ne s'éloignent pourtant pas beaucoup de la norme. Les données rapportées ci-dessus s'accordent encore mieux avec la formule de Levene, que les données analogues pour l'acide nucléique de levure.

### L'isolation des bases puriques.

Plusieurs méthodes d'isoler les bases puriques renfermées dans les acides nucléiques ont déjà été publiées dans la littérature. Quant à nous, nous avons appliqué notre méthode décrite ci-dessus pour doser les différentes purines et pour corroborer entre autres les résultats de nos dosages.

4.0 gr de la préparation I furent hydrolysés à 100° C avec 80 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique à 5%. Le ballon était plongé dans l'eau bouillante. La solution diluée fut neutralisée, après s'être refroidie,

avec de l'ammoniaque dont on ajoutait autant qu'il fallait pour obtenir une concentration de 2%. Les purines étaient précipitées avec une solution ammoniacale de nitrate d'argent. Le précipité recueilli et lavé à l'eau chaude, fut décomposé avec de l'hydrogène sulfuré, et le filtrat concentré jusqu'au volume de 150 cm<sup>3</sup>. On l'additionna de solution de sulfate d'ammonium à 1% et d'ammoniaque jusqu'à ce qu'il fut neutralisé, puis jusqu'à ce que sa concentration dans le liquide atteignît 1%. Après 12<sup>h</sup> on filtra, lava 5 fois avec une liqueur qui contenait 1% NH<sub>3</sub> + 1% (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Le précipité fut dissous sur le filtre dans de la soude caustique à 1%. Le filtrat légèrement acidulé, à peine coloré, fut décoloré avec une petite quantité de noir animal, encore une fois évaporé à 150 cm<sup>3</sup> et précipité avec l'ammoniaque en présence de sulfate d'ammonium comme auparavant. Le précipité recueilli dans un creuset de Gooch et séché à 40° jusqu'à poids constant, représente 0.35 gr d'une substance blanche-grisâtre. Cette quantité de guanine fut dissoute à chaud dans 10 cm<sup>3</sup> d'ac. sulfurique à 10% et abandonnée jusqu'à la cristallisation. Après 24<sup>h</sup> on jeta les cristaux sur un filtre et les lava avec précaution à l'alcool. Après la dessiccation à l'air on obtint 0.43 gr de sulfate de guanine (C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>O)<sub>2</sub>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 2 H<sub>2</sub>O sous forme de petites aiguilles, qui donnèrent une réaction positive pour la xanthine et une épreuve négative de Kossel pour l'adénine.

0.1797 gr séché 2 <sup>h</sup> t = 120°	0.0156 gr H <sub>2</sub> O
pour (C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> O) <sub>2</sub> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 2 H <sub>2</sub> O	calc. 8.25% H <sub>2</sub> O
	trouv. 8.68% H <sub>2</sub> O
0.0757 gr (C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> O) <sub>2</sub> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	18.79 cm <sup>3</sup> n/10 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
	0.02630 gr N
pour (C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> O) <sub>2</sub> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	calc. 34.82% N
	trouv. 34.75% N

Les filtrats réunis, après avoir séparé la guanine, furent légèrement acidulés avec de l'ac. sulfurique, concentrés et précipités avec un excès d'ac. picrique. Après 24<sup>h</sup> on filtra le dépôt et le lava avec de l'ac. picrique à 1%. Le précipité qui contenait encore beaucoup d'impuretés, fut soumis à la recristallisation dans 100 cm<sup>3</sup> d'ac. acétique à 25%. On obtint 0.84 gr de substance sous forme de longues aiguilles jaunes qu'on recristallisa encore une fois dans de l'ac. acétique à 25%. On les sécha à l'air, puis à 100°, enfin

on obtint 0.74 gr de picrate d'adénine anhydre  $C_5H_5N_5 \cdot C_6H_3N_3O_7$  se présentant sous l'aspect de petites aiguilles jaune-clair, d'un lustre soyeux et formant de petites bottes. La substance débarrassée d'ac. picrique, donne une réaction positive de Kossel. Elle commence à brunir au-dessus de  $225^{\circ}$ , et l'on observe un fort changement de sa coloration entre  $279$  et  $291^{\circ}$  où elle subit une décomposition partielle; enfin, rapidement chauffée, elle fond à  $294^{\circ}$  et se décompose.

0.1515 gr (18°, 754, 4 mm)	39.9 cm <sup>3</sup> N <sub>2</sub>
pour $C_5H_5N_5 \cdot C_6H_3N_3O_7$	calc. 30.65% N
	trouv. 30.57% N

En dehors de la seconde petite fraction de picrate d'adénine, nous n'avons pas réussi à isoler de plus grandes quantités de xanthine et d'hyoxanthine dans les lessives restées après la cristallisation de l'adénine. Evidemment les 2 bases puriques furent isolées en quantités, qui s'accordent d'après les calculs avec les déterminations quantitatives. Le dosage de l'eau de cristallisation dans le sulfate de guanine est la preuve que nous avons affaire à de la guanine et non à de l'isoguanine.

### Les composés pyrimidiques.

L'acide phytonucléique que représentent les acides nucléiques tirés de la levure et des embryons de froment, renferme deux bases pyrimidiques, savoir: la cytosine, soit la 2-oxy-6-aminopyrimidine et l'uracile, ou la 2-6-dioxyypyrimidine. Il résulte de la formule de Levene qui admet une structure quadrinucléotide de l'acide nucléique, que ces deux corps sont envers eux et envers les bases puriques en rapport équimoléculaire.

En 1910 Kowalewsky<sup>1)</sup> émit l'opinion, que l'uracile des acides nucléiques de levure est un produit enzymatique de la cytosine; partant de cette idée, elle formula l'hypothèse de la structure trinucleotide de l'acide nucléique.

Dans l'acide zoonucléique, représenté par l'acide tiré du thymus, on trouva la cytosine et la thymine (2-6-dioxy-5-méthylecytosine) en rapport équimoléculaire. On considère l'uracile, découvert également dans des produits de l'hydrolyse, comme produit de la désamination de la cytosine.

<sup>1)</sup> Kowalewsky l. c.

Une nouvelle base pyrimidique, découverte dans l'acide nucléique tiré de bacilles de la tuberculose, a été décrite en 1925 par Johnson et Coghill<sup>1)</sup>. Dans leur travail ces auteurs se demandent si après avoir étudiée une plus grande quantité d'acides nucléiques et avoir perfectionné les méthodes de l'analyse et de l'identification, le nombre des pyrimidines connues n'augmentera pas un jour. Le fait que sous l'action d'un acide, la cytosine se transforme en uracile, fait surgir la supposition que l'acide nucléique pourrait renfermer une amino-pyrimidine, soit la méthylcytosine qui par désamination pourrait passer en thymine. En effet, les auteurs mentionnés ont isolé une quantité minime d'une nouvelle base purique, soit la 5-méthylcytosine sous forme de picrate, qu'ils n'ont pu identifier que par l'étude cristallographique. Résumant les résultats obtenus, les auteurs croient indiqué de chercher encore d'autres aminopyrimidines dans toutes les recherches consacrées aux produits hydrolytiques des acides nucléiques et jugent qu'il importe de fixer l'attention sur le 2-aminouracile et la 2-amino-5-méthyl-6-oxypyrimidine. Sous l'action hydrolytique des acides, ces substances se désaminent, de sorte que la première se transforme en uracile, la seconde en thymine.

Un grand progrès fut réalisé dans la chimie des pyrimidines par le fait d'avoir décrit des réactions colorées sensibles, permettant de décélérer la thymine et la 5-méthylcytosine. Ces méthodes ont été élaborées par Baudisch et Johnson ainsi que par Johnson et Harkins<sup>2)</sup>. L'application de la nouvelle réaction permit à Johnson et Harkins<sup>3)</sup> d'établir que la 5-méthylcytosine et la thymine sont absentes dans l'acide nucléique tiré de la levure. S'appuyant sur cette méthode, Coghill et Barnes<sup>4)</sup> purent décélérer de la thymine dans l'acide nucléique extrait de bacilles de la diphtérie.

#### L'isolation des bases pyrimidiques.

1) Nous avons isolé, comme ci-dessus, les bases puriques de 40 gr de la préparation I, en nous servant d'une solution ammoniacale de nitrate d'argent. Le filtrat ammoniacal dont la quantité

<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> Johnson a. Harkins, J. Am. Chem. Soc. **51**, 1237, (1929).

<sup>3)</sup> Johnson a. Harkins. J. Am. Chem. Soc. **51**, 1779 (1929).

<sup>4)</sup> l. c.

correspondait à 3·5 gr de la préparation I, était acidifié avec de l'acide sulfurique, puis précipité comme d'habitude avec de l'hydrogène sulfuré. Débarrassé d'argent, le filtrat concentré au bain-marie était additionné d'acide sulfurique concentré jusqu'à une concentration de 33%, puis soumis à l'hydrolyse durant cinq heures dans un tube scellé, à une température de 150—160°. L'hydrolysate convenablement dilué et porté à l'ébullition, a été traité par de l'eau de baryte saturée à chaud. On recueillit sur un entonnoir de Buechner un abondant dépôt de sulfate et de phosphate de baryum, on le lava à l'eau chaude, puis on le laissa bouillir encore deux fois avec de l'eau. Le filtrat a été concentré sous pression réduite au volume 100 cm<sup>3</sup>, légèrement acidulé et additionné à chaud d'un excès d'acide picrique. Après 24<sup>h</sup> on a filtré le précipité du picrate de cytosine, lequel a donné après la cristallisation dans l'eau 0·44 gr de substance sous forme d'aiguilles jaunes, brunissant à 225° et fondant avec décomposition, quand on les chauffe rapidement à 265—266°. Au microscope, à la lumière des nicols croisés, les cristaux éteignent la lumière sous un angle de 45°. Le produit à analyser était recristallisé dans de l'acide acétique à 25%. Point de fusion, sans changement.

0·1183 g (18°, 746·6 mm)	25·6 cm <sup>3</sup> N <sub>2</sub>
pour C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> N <sub>3</sub> O·C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> O <sub>7</sub> N <sub>3</sub>	calculé 24·70% N
	trouvé 24·71%

0·1 gr de substance a été débarrassé d'acide picrique par de l'acide sulfurique et l'éther; la solution a été neutralisée avec de l'ammoniaque, puis évaporée sur un verre de montre. Le résidu a été soumis à la réaction de Wheeler-Johnson avec résultat positif.

Les filtrats de cytosine, acidifiés avec de l'acide sulfurique, ont été débarrassés de l'acide picrique en les agitant avec du benzène et de l'éther. Ayant éliminé l'excès d'acide sulfurique à l'aide d'hydroxyde de baryum, on a décoloré la solution avec de noir animal et évaporé à un petit volume sous pression réduite. On a laissé déposer assez longtemps, après quoi on a obtenu 0·12 gr d'uracile brut. On l'a recristallisé dans l'eau en présence de noir animal et on a obtenu 0·074 gr d'uracile sous forme de petites bottes d'aiguilles blanches. Chauffées rapidement, elles fondent à 323°, se décomposant entièrement après une décomposition par-

tielle préalable. Epreuve de Wheeler-Johnson avec 0.001 gr de substance -- positive.

0.0522 gr	9.28 cm <sup>3</sup>	n/10 H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.01299 g N
pour C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> N		calculé	25.05% N
		trouvé	24.89% N

2) 7.5 gr de la prép. III hydrolysés avec 40 cm<sup>3</sup> d'acide sulfurique à 25% dans un tube scellé pendant 5<sup>h</sup> dans un bloc à temp. 150°—160°. Le liquide dilué à 0.5 l. et chauffé à l'ébullition a été additionné d'une solution d'hydroxyde de baryum, saturée à chaud jusqu'à la réaction franchement alcaline. L'abondant précipité, filtré et lavé à l'eau chaude sur l'entonnoir de Buechner, a été bouilli deux fois avec de l'eau. On a précipité dans les filtrats réunis l'excès de baryum à l'aide d'acide sulfurique et les a concentré sous pression réduite. A la solution refroidie on ajoute du nitrate d'argent et sépare le plus tôt possible le dépôt des purines et humines. Le filtrat est encore additionné de nitrate d'argent, puis d'hydroxyde de baryum jusqu'au moment où le précipité cesse de se former. Le dépôt contenant les pyrimidines a été décomposé par de l'hydrogène sulfuré et concentré sous pression réduite au volume de 200 cm<sup>3</sup>.

Afin de constater la présence éventuelle de thymine ou de 5-méthylcytosine, on a débarrassé une quantité de solution équivalant à 0.5 gr d'acide nucléique de l'acide sulfurique par de l'hydroxyde de baryum; enfin l'excès d'hydroxyde de baryum a été précipité par du dioxyde de carbone, puis on exécuta l'épreuve de Johnson et Harkins. Le volume final du liquide examiné était de 3 cm<sup>3</sup>.

Aux rayons d'une lampe à mercure apparut une forte fluorescence bleue.

Au cas d'une hydrolyse incomplète en présence de nucléosides, les sucres contenus dans la solution peuvent se transformer en acétol dans les conditions de la réaction de Johnson et Harkins. Voulant tenir compte de cette éventualité, nous avons effectué avec une quantité égale de solution une réaction analogue, sauf l'addition d'eau bromée. Le liquide final, d'un volume de 3 cm<sup>3</sup>, révéla à la lumière d'une lampe à vapeur de mercure, une fluorescence bleue qui, quoique faible, était encore distincte.

Une quantité de solution équivalant à 1.0 gr d'acide nucléique,

a été additionnée d'acide sulfurique, jusqu'à la concentration de 33% et de nouveau hydrolysée 5<sup>h</sup> à 150°—160°. Comme d'habitude on a enlevé l'acide sulfurique avec de l'hydroxyde de baryum et l'excès de baryum avec du dioxyde de carbone, puis on a concentré jusqu'à 100 cm<sup>3</sup>. La solution a été divisée en deux portions. L'une a servi à l'épreuve caractéristique, l'autre à la réaction à blanc. L'une et l'autre épreuves donnèrent à la lumière d'une lampe à vapeur de mercure une fluorescence moyenne, dont l'intensité était à peu égale dans les deux cas.

Le liquide restant, correspondant à 5.5 gr d'acide nucléique fut additionné d'acide sulfurique jusqu'à la concentration de 5% et précipité avec de l'acide phosphotungstique comme d'ordinaire. Le précipité suspendu dans l'eau a été décomposé comme d'habitude avec de l'hydroxyde de baryum. L'excès de baryum a été précipité avec du dioxyde de carbone et la solution jaune concentrée sous pression, réduite à un petit volume. Après 24<sup>h</sup> on a filtré le précipité et on obtint 0.11 gr de cytosine brute desséchée. La coloration jaune de la solution indique la présence probable d'un pigment jaune, produit de l'oxydation de la cytosine.

La cytosine brute, dissoute dans de l'eau et précipitée avec un excès d'acide picrique, a fourni 0.22 gr de picrate de cytosine sous forme d'aiguilles jaunes. Après la recristallisation dans de l'eau elles brunissent à 255° et fondent avec décomposition à 270°. Après avoir mélangé cette préparation avec le picrate de cytosine isolé sous 1, on obtint le même point de fusion.

Le filtrat du précipité phosphotungstique fut débarrassé des acides sulfuriques et phosphotungstiques à l'aide d'hydroxyde de baryum. L'excès de baryum a été enlevé par le dioxyde de carbone, le liquide concentré sous pression réduite à un petit volume, acidulé avec de l'acide sulfurique et laissé à la cristallisation. Après 24<sup>h</sup> on a recueilli 0.34 gr de produit, qui soumis à la recristallisation dans l'eau en présence de noir animal, donna 0.28 gr d'uracile pur sous la forme habituelle de cristaux. Point de fusion en chauffant rapidement: environ 323°.

Réaction de Wheeler-Johnson avec 0.001 gr de substance — positive.

0.0988 gr	17.77 cm <sup>3</sup>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.0248 gr N
pour C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub>	calculé	25.05% N	
	trouvé	25.18% N	

Il ressort des analyses décrites ci-dessus qu'on a isolé la cytosine et l'uracile, tandis qu'on n'a pas décélé la thymine et la 5-méthylcytosine. Vu les difficultés liées à l'isolation des bases pyrimidiques, le résultat de l'épreuve 1 témoigne du rapport équimoléculaire des ces deux bases, tandis que l'expérience 2 donne pour l'uracile un rapport équimoléculaire envers les bases pures.

### Le groupe des sucres.

Le d-ribose et le d-2-désoxyribose sont les seuls sucres qui entrent dans la composition des acides nucléiques. Nous savons que les acides nucléiques d'origine végétale, contiennent du d-ribose. Le nucléotide d'adénine, isolé de levure, dont il a déjà été question, contient le thiométhylepentose comme élément de sucre.

On a constaté d'abord le caractère du sucre, qui entre dans la composition de la molécule de l'acide nucléique de l'ergot. Dans ce but on se servit de réactions générales et surtout de réactions colorantes. La réaction de Fehling n'est devenue positive qu'après l'hydrolyse. On obtint également des résultats positifs en appliquant les épreuves avec la phloroglucine, l'aniline, l'acide acétique et le réactif de Bial, qui ont permis d'établir la présence d'un pentose. La réaction de Schiff d'après la méthode de Widström<sup>1)</sup> a donné un résultat négatif, témoignant ainsi de l'absence du groupe de sucre, typique pour les acides nucléiques du thymus.

Après avoir établi le caractère du sucre, on procéda à son dosage. Les dosages des pentoses dans les acides nucléiques exécutés jusqu'à présent, ne révèlent qu'une partie de la teneur en sucre. En effet, abstraction faite des défauts de la méthode dans les conditions de l'hydrolyse et de la détermination, seule une petite part du sucre liée aux pyrimidines peut être dosée. En fait de méthodes permettant de doser les pentoses dans les acides nucléiques, la méthode microcolorimétrique de Youngburg et Pucher<sup>2)</sup>, amendée par Hoffmann<sup>3)</sup> et adaptée par celui-ci aux dosages dans les acides, mérite surtout de retenir l'attention.

1) Widström, Biochem. Z. **199**, 298 (1928).

2) Youngburg a. Pucher, J. Biol. Chem. **61**, 741 (1924).

3) Hoffmann, J. Biol. Chem. **73**, 15. (1927).

D'après cette méthode on fait hydrolyser le pentose par de l'acide chlorhydrique à 12—20% dans un appareil et dans des conditions appropriés; on obtient presque quantitativement le furfurol que l'on détermine colorimétriquement, en appliquant la réaction bien connue avec l'aniline et l'acide acétique.

En étudiant les différents nucléotides, Hoffmann déduit un rapport théorique entre les atomes de phosphore, rapport qu'il trouve égal à 0.536, tandis que dans l'expérience il obtient la valeur 0.513.

Levene et Jorpes<sup>1)</sup> obtiennent cependant des résultats qui ne s'accordent pas avec ceux de Hoffmann. Ainsi pour l'acide guanylique cristallisé, ils trouvent 79.5% de la teneur théorique en pentose et non les 98% décélés par Hoffmann. Coghill et Barnes<sup>2)</sup> ont également de sérieuses objections à faire, de sorte que si l'on en tient compte, il conviendrait de corriger la valeur de ce coefficient et de la diminuer de 0.536.

Nous avons dosé la pentose dans l'acide nucléique de l'ergot d'après Hoffmann<sup>3)</sup>, en hydrolysant la substance pendant 3<sup>h</sup>.

$$\begin{array}{rcl}
 55.6 \text{ mg prép. I} & = & 49.4 \text{ mg d'ac. nucl.} \\
 6.649 \text{ mg furfurol} & = & 13.46 \% \\
 10.385 \text{ mg pentose} & = & 21.02 \% \\
 \hline
 \text{moléc. de furfurol} & = & 0.459 \\
 \text{atomes de phosphore} & & 
 \end{array}$$

$$\begin{array}{rcl}
 50.6 \text{ mg prép. I} & = & 45.0 \text{ mg d'ac. nucl.} \\
 6.015 \text{ mg furfurol} & = & 13.35 \% \\
 9.395 \text{ mg pentose} & = & 20.85 \% \\
 \hline
 \text{moléc. de furfurol} & = & 0.455 \\
 \text{atomes de phosphore} & & 
 \end{array}$$

$$\begin{array}{rcl}
 53.8 \text{ mg prép. III} & = & 47.2 \text{ mg d'ac. nucl.} \\
 4.891 \text{ mg furfurol} & = & 10.36 \% \\
 7.635 \text{ mg pentose} & = & 16.18 \% \\
 \hline
 \text{moléc. de furfurol} & = & 0.353 \\
 \text{atomes de phosphore} & & 
 \end{array}$$

<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> l. c.

<sup>3)</sup> l. c.

50.9 mg prép. III	=	47.7 mg d'ac. nucl.
4.677 mg furfurol	=	10.46%
7.305 mg pentose	=	16.33%
<u>moléc. de furfurol</u>	=	0.357
atomes de phosphore		

En considérant les dosages ci-dessus, nous trouvons une forte analogie avec ceux, exécutés dans d'autres acides nucléiques d'origine végétale. Il faut relever, que les résultats obtenus avec la préparation III, sont inférieures à ceux qu'a donnés la préparation I. On avait pu remarquer auparavant dans une série d'analyses que la préparation III contenait plus d'impuretés. Les résultats de l'analyse de la préparation I démontrent, que presque la moitié des sucres est liée aux purines. S'il s'agit du rapport des molécules de furfurol aux atomes de phosphore, il faut tenir compte des restrictions formulées par Levene et Jorpes, ainsi que des objections de Coghill et Barnes, aussi doit-on considérer ce rapport comme concordant avec la même valeur obtenue pour l'acide nucléique tiré de la levure.

L'ensemble de nos expériences qualitatives et quantitatives s'accorde à démontrer, que l'acide nucléique que nous avons isolé de l'ergot, a une structure analogue à celle de l'acide nucléique de levure.

Institut de Pharmacie Galénique de l'Université des Jagellons à Cracovie.

*Rozmieszczenie stożków krzemionkowych w komórkach  
Cyperaceae i ich korelacje. — La répartition des cônes  
siliceux dans les cellules des Cypéacées et leur corrélation.*

Mémoire

de M. B. HRYNIEWIECKI m. t. et M<sup>lle</sup> W. KURTZ,

présenté le 5 février 1936, par M. B. Hryniewiecki m. t.

(Planches 1—2).

**Histoire du problème.**

Les cônes siliceux dans certaines cellules des Cypéacées ont été décelés, décrits et dessinés par S. Duval-Jouve en 1873 (v. pl. XXI, fig. 9 et 11). Bien qu'on trouve de courtes mentions concernant ces cônes dans l'«Anatomie comparée» de de Bary (1877) et dans toutes les éditions de la «Physiologische Pflanzenanatomie» de G. Haberlandt (I<sup>re</sup> édition 1884, V<sup>me</sup> 1918, VI<sup>me</sup> 1924) ainsi que dans une monographie sur l'épiderme végétal de Westermaier (1884), qui a tâché d'expliquer leur rôle (v. pl. VI, fig. 3 et 4, pl. VII, fig. 3 et 4), on ne rencontre ailleurs aucune mention de ce phénomène, même dans les ouvrages traitant amplement de l'anatomie des plantes Monocotyledones, comme ceux de Guillaud, Falkenberg, Rothert et Klein. Dans la monographie sur le silice chez les plantes Kohl (1889) n'en a également pas parlé. Ce caractère anatomique particulier n'a demême pas attiré l'attention d'auteurs étudiant la structure anatomique des plantes de la famille des Cypéacées, comme Palla (genres *Scirpus* et *Eriophorum* 1880—1908) et Plowman (1906). Ni Spinner (1903) qui a fait des recherches sur l'anatomie des *Carex* de la Suisse, ni Marggraf (1896) ne mentionnent ces cônes. Dans son introduction anatomique et morphologique à l'ouvrage systématique de Kückenthal (*Caricoideae*, v. Pflanzen-

reich IV, 20), F. Pax les passe sous silence. Ce trait anatomique manque aussi dans la monographie anatomique plus récente de Guichard (1929), consacré à *Carex glauca*.

Certaines figures, p. ex. celles que reproduisent Haberlandt (V v. p. 265 f. 115 *Cyperus*) ou de Spinner (pl. V f. 1 et 2 *Carex*) ne donnent pas des images fidèles à cause de l'absence de ce trait particulier de la structure anatomique. Ce ne que les auteurs qui se sont occupés de l'anatomie du genre *Carex*, savoir: Mazel (1891), Bordet (1891) et Lemcke (1892), dont l'attention s'est porté sur cette particularité de la structure et c'est surtout Mazel qui a donné des figures exactes (fig. 586, 84, 99, 100, 107, 165, 176). E. Wilczek (1892) a consacré une attention particulière aux cellules en question, en examinant la structure des graines et celle des fruits chez les Cypéracées (pl. II, 11—13, pl. III, 15, pl. IV, 26 et 27) et en attribuant à ces excroissances coniques un rôle physiologique dans l'absorption de l'eau. L'opinion émise par Wilczek et aussi partagée par Rikli (1895) dans sa contribution à l'anatomie comparée des Cypéracées (pl. XIX, fig. 9).

La présence d'abondantes excroissances de ce genre chez les échantillons américains de cette famille a été confirmée par Th. Holm dans une série de travaux (1897—1907) [v. fig.: a) IV 3, b) 437 (f. 2 et 5, 7), e) 174, 181 (f. 8 et 9), f) 444, g) 107 (f. 3)]. Cet auteur considère ce trait comme caractéristique pour la famille: »commonly in the *Cyperaceae*«. Cependant Kaphahn (1905), qui a étudié les phénomènes de la silification et trouvé des exceptions, n'admet pas que ce trait puisse caractériser toute la famille (v. pl. X, f. 3, 4, 9, 12, 18, 19, 21—25, 28, 29b), bien qu'il nous donne une série de nouvelles preuves de sa présence. On a fait parfois des généralisations pareilles sans donner de preuves suffisantes. C'est p. ex. le cas de Grob (1896) et de Molisch (1920). Seule la méthode de recherche concernant les éléments siliceux de la cellule, élaborée par Küster (1897), respectivement celle de Frohnmayer (1919), nous a permis de déceler ces éléments d'avec plus de sûreté. Grâce à cette méthode H. Pfeiffer (1921) a révélé chez *Cladium Mariscus* la présence de cônes siliceux non seulement dans l'épiderme, mais aussi à l'intérieur de la gaine, entourant les faisceaux vasculaires de cette plante (v. pl. IX fig. 1—3); il a décrit ensuite l'état de nos

connaissances sur les cônes siliceux (1921) et le mode de leur développement (1925). Dans une série de publications spéciales et dans une monographie anatomique sur les Cypéracées (1927), qui comprend 72 genres et 1182 espèces, Pfeiffer a fourni la preuve que la présence de ces cônes est un trait caractéristique pour toute la famille des Cypéracées. Un groupe peu nombreux de la sous-famille des *Mapaniaceae* (*Ptychocaryum*, *Chorisandra*, *Chrysothrix*, *Mapania*, *Thoracostachyum*, *Hypolythrum*, *Exocarya*, *Lepironia*), particulier à la région tropicale, constitue la seule exception à cet égard, cependant, même chez *Mapania* et *Hypolythrum*, on trouve des cônes dans ce groupe quoiqu'ils soient très rares. Quant à *Exocarya* on rencontre certaines excroissances siliceuses sur les parois des cellules. H. Pfeiffer a montré qu'en ce qui concerne la forme des cônes, leur nombre dans les cellules et leur localisation, on peut diviser les cellules pourvues de cônes en 10 types, quelquefois caractéristiques pour des genres particuliers (v. pl. IV fig. 12—49, pl. VI fig. 113 et 114). Il arrive parfois, que les cônes en question ne se forment pas, mais comme l'a montré Schilling (1918) pour *Heleocharis plantaginea*, on observe une certaine silification, qui affecte la forme des protubérances dentées dans les cellules de la gaine. Il existe de même certaine ressemblance avec les corps coniques trouvés dans l'endoderme des racines de quelques herbes, telles qu'*Andropogon* et *Erianthus*, ainsi que l'a montré G. Borissow (1924, 25 et 28), qui les appelle corps de »Rasdorsky«.

En étudiant *Cladium Mariscus* M<sup>me</sup> L. Chlewińska-Karpowicz (1929) a confirmé la présence de cônes siliceux dans la gaine, entourant le faisceau vasculaire non seulement chez cette plante, mais aussi chez *Cyperus fuscus*, *C. alternifolius* et, çà et là, chez *Carex hirta* (v. pl. II fig. 8, III fig. 6, IV fig. 5, V fig. 4, VII fig. 1, 5, 8—11). Dans le compendium de R. Linsbauer (*Handbuch der Pflanzenanatomie*) F. Netolitzky ne consacre à ces cônes qu'une courte mention et s'appuie sur les données de Pfeiffer. Il ne tient également pas suffisamment compte de la littérature traitant de ce sujet, dans la bibliographie qu'il cite dans son travail.

Le rôle de ces cônes n'est pas exactement expliqué. Westermajer admet qu'ils protègent la plante contre une transpiration trop intense; en effet, en s'enfonçant, la paroi extérieure de l'épi-

derme pourrait se rapprocher de la paroi intérieure, tandis qu'en s'appuyant contre la paroi extérieure, le sommet du cône empêcherait l'interruption complète de la circulation de l'eau. Wilczek suppose que la membrane fondamentale des cônes se gonfle facilement, de sorte que ceux-ci seraient des organes dont la fonction servirait à absorber l'eau. Rikli qui partage l'opinion de Wilczek, compare les excroissances coniques à de jeunes cystolithes. Pour Haberlandt les cellules à fond conique jouent un rôle mécanique, et servent surtout d'éléments de soutien. H. Pfeiffer aboutit à la même conclusion.

Comme les recherches aussi minutieuses qu'approfondies de Pfeiffer se sont étendues à l'ensemble des caractères anatomiques des Cypéracées et comme il ne s'agissait que d'établir la présence ou l'absence de cellules à fond conique dans une série de genres, le présent travail s'est proposé d'étudier dans les détails la localisation de ces formations, autant dans la feuille que dans la tige de différentes espèces. On a tenu compte surtout des espèces faciles à trouver, représentées dans la flore de Pologne et l'on a fait des recherches en vue d'établir la présence des cônes siliceux dans différents tissus, afin de trouver certaines corrélations.

Nos recherches s'étendaient aux échantillons recueillies au cours d'excursions, ou récoltés dans le Jardin Botanique ainsi qu'à des échantillons faisant partie de l'herbier de l'Institut de Botanique Systématique et de Phytogéographie de l'Université Józef Piłsudski à Varsovie. Le travail a été exécuté par M<sup>lle</sup> Wanda Kurtz sous la direction de M<sup>r</sup> le D<sup>r</sup> Stefan Krupko, adjoint à l'Institut.

#### Méthode des recherches.

Les feuilles fraîches étaient fixées dans de l'alcool à 70%. On faisait préalablement bouillir dans de l'eau le matériel provenant d'un herbier. Pour étudier la nature de la silice dans les cônes, on a examiné les coupes au microscope polarisant. Les nicols étant croisés, les cônes n'étaient pas visibles ce qui prouve, que la silice est à l'état amorphe. Pour éclaircir les préparations on s'est servi de la méthode de Küster consistant à plonger les coupes dans le phénol bouillant. (Les coupes étaient soumises au procédé suivants: eau de Javelle — 15 min.; eau distillé; alcool à 75% — 5—7 min.; alcool absolu — 5—10 min. On les plongeait ensuite dans de l'essence de girofle 10—12 min., dans du xylol — 10—12 min., enfin elles étaient enrobées dans du baume de Canada).

## Résultats détaillés des recherches.

## Abréviations.

feuille — feu.  
 tige — ti.  
 épiderme — ép.  
 élément de soutien (sclerenchyme) — él. de sout.  
 parenchyme — par.  
 cellule — cel.  
 cône — côn.  
 cellules à fond conique — cel. à fon. con.  
 gaine vasculaire — gai. vasc.  
 appareil stomatique — ap. stom.  
 stomates — stom.  
 élément mécanique — él. méc.

Sous-famille: *Scirpoideae*.

*Cyperus fuscus* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la feuille et dans celui de la tige, au-dessus des éléments de soutien. Dans la feuille on trouve de très petits cônes siliceux dans les cel. des éléments de soutien et dans les cellules de la gaine entourant les faisceaux vasculaires<sup>1)</sup>. Les parois extérieures des cellules de l'épiderme au-dessus du par. sont parfois imprégnées de silice.

*Blysmus compressus* (L.) Panz. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. et dans celui de la ti., au-dessus des éléments de soutien. Dans la tige et dans la feu. elles forment une file dans les cel. des él. de sout. Les cel. à fond con. dans l'ép. de la feu. sont pourvues d'excroissances extérieures de la paroi, comme chez *Scirpus silvaticus* L. (fig. 10, pl. 1).

*Scirpus uniglumis* Link. Les cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. au-dessus des éléments de soutien dépassent les autres cel. de l'ép. La cutine y est imprégnée de silice.

*S. radicans* Schkur. Les cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. et de la ti. se trouvent au-dessus des él. de sout. Les cel. à fon. con. dans la feu. sont très petites par rapport aux cellules voisines de l'épiderme.

*S. lacustris* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. et de la tige, au-dessus des él. de sout.

*S. maritimus* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus de él. de sout. Les cônes se trouvent presque dans toutes les cel. de l'ép. au-dessous duquel s'étend une zone continue d'él. méc.

*S. ovatus* Roth. Cel. à fon. con. manquent dans la tige et dans la feuille.

*S. acicularis* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la tige et de la feuille au-dessus des él. de sout. Dans la tige on les trouve de plus dans les cel. de sout.

*S. silvaticus* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus des él. de sout. et dans les cellules de la gaine vasculaire<sup>2)</sup>. Cel.

1) Voir L. Chlewińska-Karpowicz p. 32, pl. VII, fig. 8, 9.

2) Voir L. Chlewińska-Karpowicz p. 33 et pl. VII, fig. 11.

à fon. con. pourvues d'excroissances caractéristiques. Dans la feuille on trouve les cônes-filles (fig. 10).

*Eriophorum polystachyum* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de sout. Dans la feu. de plus dans les él. de sout. même.

*E. vaginatum* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la tige au-dessus des él. de sout. Les cônes eux-mêmes diffèrent par leur forme de ceux de *Carex*.

*E. gracile* Koch. Cel. à fon. con. dans la ti. et dans la feu. au-dessus des él. de sout. Elles sont en grand nombre dans la feu.

### Sous-famille: *Caricoideae*.

#### I. Sous-genre: *Psyllophora* Ehrh.

*Carex Davalliana* Smith. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de sout. Cel. à fon. con. voûtées, plus grandes que les cellules épidermiques voisines. Cônes à base striée sombre, pourvus de sommets clairs, terminés en pointe. Cônes-filles. Dans l'ép. de la tige au-dessus des él. de sout. les cel. à fon. con. et de petits cônes aplatis dans les cel. ép. au-dessus du par. (fig. 6). Les cel. à fon. con. se trouvent aussi dans la gaine vase., mais seuls les cônes prennent une autre forme, à sommet voûté et à base dépourvue de couches superposées. On rencontre chez cette espèce plusieurs cônes dans une cellule. Petits cônes disséminés également dans les cel. du parenchyme et près des stomates (fig. 19 et 20, pl. 2).

*C. dioica* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de sout. Dans les cel. de l'ép. au-dessus du par. on trouve rarement de très petits cônes. Dans la tige les cel. à fon. con. sont absentes.

*C. pauciflora* Lightf. Cel. à fon. con. dans l'ép. au-dessus des él. de sout. et au-dessus du par. Petits cônes dans les cel. de l'ép.

*C. pulicaris* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la tige au-dessus des él. de sout. Cônes pourvus de bases et de sommets bien prononcés.

#### II. Sous-genre: *Vignea* P. Beauv.

*Carex arenaria* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus des él. de sout. Dans la feuille les cel. à fon. con. seulement sur la face inférieure.

*C. brizoides* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de sout. et aussi dans l'ép. au-dessus du par., de petits cônes surtout sur les parois extérieures des cellules.

*C. canescens* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et de la feuille au-dessus des él. de sout. Abondantes dans la feuille, rares dans la ti. Cel. à fon. con. plus petites que les cel. voisines de l'ép.

*C. chordorrhiza* Ehrh. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus des él. de sout. Dans la ti. les parois extérieures des cel. à fon. con. sont fortement siliceuses; les contours des cônes ne sont pas nettement visibles. De très petits cônes arrondis dans l'ép. au-dessus du par. et aussi dans les cel. du par. même.

*C. cyperoides* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus des él. de sout. Elles ne sont éparses que çà et là dans les feuilles.

Dans l'ép. de la feu. au-dessus du par. de très petits cônes sur les parois extérieures des cel.

*C. curvula* All. Cel. à fon. con. de l'ép. de la feu. Dans une cel. on voit très nettement 1-2 cônes (fig. 11). Dans l'ép. de la ti. on trouve également les cel. à fon. con. au-dessus des él. de sout., mais les cônes ne sont disposés que sur les parois extérieures des cel., cas en général assez rare (fig. 7). Dans les cel. de l'ép. au-dessus des él. de sout. on rencontre de plus des cônes aplatis sur les parois extérieures (fig. 8, pl. 1).

*C. diandra* Schrank. Les cel. à fon. con. sont absentes dans la ti. Dans l'ép. de la feu. on trouve des cel. à fon. con. voûtées au-dessus des él. de sout.

*C. divulsa* Good. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. au-dessus des él. de sout. Les cônes petits et aplatis ne se trouvent que sur les parois extérieures des cellules. Dans l'ép. du par. des cônes très petits sur les parois radiaux. Dans l'ép. de la feu. les cel. à fon. con. voûtées au-dessus des él. de sout., dans l'ép. au-dessus du par., de même de petits cônes sur les parois extérieures des cellules.

*C. elongata* L. Dans l'ép. de la feu., cel. à fon. con. voûtées au-dessus de l'ép. Dans la ti. au-dessus des él. de sout. ces cellules sont absentes, mais dans l'ép. au-dessus du par. on observe quelques cônes très petits dans une seule cellule.

*C. lagopina* Wahlbg. Absence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et dans celui de la feuille.

*C. leporina* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus des él. de sout. De petits cônes dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus du par. Dans la ti. petits cônes dans les él. de sout. et dans la gaine vasculaire.

*C. ligerica* J. Gay. Cel. à fon. con. dans l'ép. au-dessus des él. de sout. Dans l'ép. au-dessus du par. petits cônes au nombre de 1-3 dans une cellule.

*C. loliacea* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu.; dans l'ép. de la ti. absence de cellules à fon. con.

*C. paniculata* L. Cel. à fon. con. dans la ti. et dans la feu. au-dessus des él. de sout., mais dans la ti. les cônes se trouvent sur les parois extérieures et ont une forme plate. Dans l'ép. de la ti. et de la feu. les cônes aplatis se trouvent sur les parois extérieures au-dessus du parenchyme. Dans la tige, près de l'appareil stomatique les parois sont imprégnées de silice. Dans les feu. près des stomates on trouve des cellules pourvues de papilles, qui sont imprégnées de silice, comme chez *C. paradoxa*. Dans les cel. des él. de sout. de très petits cônes.

*C. paradoxa* Willd. Des cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de sout., se voient rarement. Dans l'ép. au-dessus du par. on observe des cel. caractéristiques, dont les parois extérieures sont pourvues de fentes étroites fortement imprégnées de silice (fig. 12). Ce sont probablement des „setulae“ ou poils rigides. On peut d'ailleurs se tromper facilement et prendre ces „setulae“ pour des cel. à fon. con. qui présentent des cônes au sommet très pointu.

*C. remota* L. Dans la tige (près de l'épillet) les cel. à fon. con. dans l'ép. au-dessus des él. de sout. Les cônes eux-mêmes ne sont pas bien nets; ils partent de la partie médiane de la cel. et touchent par leur sommet la paroi extérieure de la cel. Dans l'ép. de la ti., entourée d'une gaine foliaire, les cel. à fon. con. sont très nombreuses au-dessus de chaque él. de sout. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de sout. plus petites que les cellules voisines de l'épiderme.

*C. stellulata* Good. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus des él. de sout. Les cônes sont bien nets. Dans la feu. quelques cônes dans une cel. Dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus du par. on voit de petits cônes ronds et aplatis; on n'en trouve dans le par. même, que dans les assises sous-épidermiques voisines. On rencontre également des cônes pareils à proximité des stomates. Ces cônes sont clairs et transparents.

*C. vulpina* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de sout. Ces cellules sont plus petites que les cellules épidermiques voisines et dépourvues d'excroissances caractéristiques, présentes dans les cel. épidermiques sans cônes. Ces excroissances sont probablement une sorte de poils.

### III. Sous-genre: *Eucarex* Coss. et Germ.

*Carex alba* Scop. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus des él. de sout. Dans l'ép. de la feu. au-dessus du par. petits cônes sur les parois extérieures des cellules.

*C. acutiformis* Ehrh. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus des él. de sout. On rencontre dans l'ép. de la ti. au-dessus des él. de sout. des cellules pourvues de papilles avec les cônes aplatis sur les parois extérieures. Dans l'ap. stom. les cel. stom. sont imprégnées de silice (fig. 18, pl. 2).

*C. aristata* R. Br. Absence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de sout. Présence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de sout. De petits cônes au nombre de 1—4 se trouvent dans une cellule dans l'ép. au-dessus du par.

*C. bicolor* All. Cel. à fon. con. présentes dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus des él. de sout. A la face inférieure de la feu. un grand nombre de cellules avec papilles pourvues de parois imprégnées de silice.

*C. branchystachys* Schrank et Moll. Présence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus des él. de sout.

*C. Buxbaumii* Wahlbg. Présence de cel. dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus des él. de sout. Dans l'ép. de la ti. et dans celui de la feu. au-dessus du par., des cônes aplatis sur les parois extérieures de cel.

*C. capillaris* L. Absence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et celui de la feu. au-dessus des él. de sout.

*C. caespitosa* L. Présence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et celui de la feu. au-dessus des él. de sout. Dans l'ép. de la feu. présence de cel. pourvues de papilles. Cônes bien visibles sur les coupes tangentielles.

*C. caryophyllea* Latourette. Des cel. à fon. con. se présentent souvent dans l'ép. de la feu., mais rarement dans l'ép. de la ti. Dans l'ép. de

la gaine foliaire les cel. à fon. con. forment une file au-dessus des él. de sout.

*C. montana* L. Présence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et dans celui de la feu. au-dessus des él. de sout.

*C. Oederi* Retz. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus des él. de sout. ou concaves (fig. 3).

*C. sempervirens* Vill. Absence de cel. à fon. con. dans la tige. Dans l'ép. de la feu. on trouve des cel. à fon. con. au-dessus des él. de sout., quelques unes ont des parois extérieures enfoncées.

*C. silvatica* Huds. Les cel. à fon. con. se trouvent dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de soutien. On peut les observer, quoique très rarement, dans la gaine vasculaire. Absence de cel. à fon. con. dans la ti. On voit très rarement des cônes aplatis sur les parois extérieures de cellules.

*C. supina* Huds. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de sout.

*C. distans* L. Présence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et dans celui de la feu. au-dessus des él. de sout. Dans la ti. on trouve des cel. à fon. con. voûtées, dans l'ép. au-dessus du par. et dans le par. même présence de cônes-filles et de tout petits cônes.

*C. ericetorum* Poll. Présence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de sout., elles sont plus petites que les cellules voisines.

*C. flava* L. Présence de cel. à fon. con. bien distinctes dans l'ép. de la ti. et dans celui de la feu. au-dessus des él. de sout.

*C. fuliginosa* Schkuhr. Absence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et de la feu.

*C. firma* Host. On trouve de petits cônes dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de sout., cependant toute la cutine ainsi que les parois extérieures des cellules épidermiques sont imprégnées de silice.

*C. Goodenoughii* Gay. On trouve des cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus des él. de sout.

*C. glauca* Murr. Les cel. à fon. con., se trouvent dans l'ép. de la ti. et de la feu. au-dessus des él. de sout. Presque toutes les parois extérieures des cellules épidermiques sont imprégnées de silice. Dans l'ép. de la feu. on trouve de petits cônes. On y reconnaît aussi, mais rarement, les parois des cellules parenchymateuses, siliceuses.

*C. gracilis* Curt. Cel. à fon. con. présentes dans l'ép. de la ti. et dans celui de la feu. au-dessus des él. de sout.

*C. hordeistichos* Vill. On y trouve des cel. à fon. con. dans l'ép. de la tige, pourvues de parois extérieures légèrement concaves, situées au-dessus des él. de sout. Les cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. sont plus grandes, que les cellules voisines. Ces cellules présentent de grands et beaux cônes, qui rappellent des roches glaciaires.

*C. ornithopoda* Willd. Dans l'ép. de la tige on rencontre rarement des cel. à fon. con. au-dessus des él. de sout. Dans l'ép. de la feu. elles sont placées au-dessus des él. de sout. et dans ces éléments mêmes.

*C. pallescens* L. Cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de soutien.

*C. panicea* L. On rencontre dans l'ép. de la ti. des cel. à fon. con. au-dessus des él. de sout. Les petits cônes et les grands sont placés sur les parois extérieures. Les cel. à fon. con. se trouvent rarement dans la gaine vasculaire. Dans l'ép. de la feuille les cel. à fon. con. ne se présentent qu'au-dessus des él. à fon. con. sur les deux faces de la feuille.

*C. pilulifera* L. Les cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. ne se trouvent qu'à la face inférieure au-dessus des él. de sout. Ces cellules forment une file au-dessus des él. de sout. dans l'ép. de la gaine foliaire.

*C. pilosa* Scop. Des cel. à fon. con. plus petites que les cel. voisines de l'ép. se trouvent au-dessus des él. de sout. dans la feu. Les cônes sont pourvus d'une collerette bien distincte à la base.

*C. punctata* Gaud. Présence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la tige et dans celui de la feu. au-dessus des él. de sout. Dans l'ép. de la feu., cel. à fon. con. voûtées.

*C. pseudocyperus* L. Les cel. à fon. con. se trouvent dans l'ép. de la feu. et de la ti. au-dessus des él. de sout. Dans l'ép. de la tige et celui de la feu. au-dessus du par. apparaissent de cônes très petits. Dans la tige les parois extérieures des cel. de l'ép. sont fortement siliceuses. Dans l'ép. au-dessus des él. de sout., des cônes-filles; dans l'ép. au-dessus du par. quelques cônes minuscules dans une cel. Des cônes minuscules pareilles se trouvent également dans l'ép. au-dessus des él. de sout. (fig. 2, pl. 1).

*C. rostrata* Stokes. Cel. à fon. con. présentes dans l'ép. de la tige et dans celui de la feuille au-dessus des él. de sout. Dans la tige les cônes remplissent presque toute la cellule. Les parois extérieures des cellules à fon. con. sont plus minces que les mêmes parois des cel. voisines.

*C. rigida* Good. Présence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et dans celui de la feu. au-dessus des él. de soutien.

*C. secalina* Wahlb'g. Cel. à fon. con. présentes dans l'ép. de la ti. et dans celui de la feu. au-dessus des él. de sout. Dans l'ép. de la ti. et dans celui de la feu. au-dessus du par., on trouve des cônes fins, qui sont les plus distincts dans les feuilles. Dans l'ép. de la feu. certaines cel. à fon. con. ont des parois extérieures plissées d'un rose tirant sur le bleu (fig. 5—9). Les cônes ont un aspect très original sur les coupes tangentielles (fig. 14). Les cel. à fon. con. sont réparties sur les deux faces de la feu.

*C. Hudsoni* Bennet. On voit des cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et dans celui de la feu. au-dessus des él. de sout. Sur la face inférieure du limbe foliaire on trouve des cel. pourvues de papilles (fig. 1).

*C. Hornschuchiana* Hoppe. Dans l'ép. de la ti. on voit des cel. à fon. con. au-dessus des él. de sout. On peut trouver parfois des cel. isolées au-dessus de l'ép., pourvues d'une paroi extérieure terminée en pointe et imprégnée de silice (fig. 13). Dans l'ép. de la feu. on rencontre des cel. à fon. con. pourvues de beaux cônes striés, situés au-dessus des él. de sout. Dans l'ép. au-dessus du par. on reconnaît des très petits cônes sur les parois transversales et extérieures.

*C. humilis* Leysser. On voit des cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. et dans celui de la gaine vasculaire, situées au-dessus des él. de sout.

Dans la gaine foliaire les cel. à fon. con. forment une file au-dessus des él. de sout., qui dépassent les autres cellules épidermiques.

*C. lepidocarpa* Tausch. On reconnaît des cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. et dans celui de la tige au-dessus des él. de sout.; quelques unes sont voûtées, et certaines ont des parois extérieures enfoncées. Les cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. sont pourvues de cônes-filles au-dessus des él. de sout.

*C. limosa* L. Cel. à fon. con. dans la ti. et dans la feu. au-dessus des él. de sout. Dans la feu. elles se trouvent aussi dans les él. de soutien mêmes. On voit sur l'ép. des cellules pourvues de papilles, qui sont probablement des poils „papillae” (fig. 17). Les cônes mêmes sont larges et striés à la base, mais leurs sommets sont petits.

*C. tomentosa* L. Absence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. Dans l'ép. de la ti. on les trouve au-dessus des él. de sout.; très petits cônes dans l'ép. au-dessus du par. sur les parois extérieures des cel.

*C. transilvanica* Schur. Absence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la tige au-dessus des él. de sout. On observe des cônes aplatis sur les parois extérieures des cel. dans l'ép. de la tige au-dessus du par. Dans l'ép. de la feu. on rencontre des cel. à fon. con. voûtées bien prononcées, situées au-dessus des él. de sout. Leurs parois extérieures sont parfois enfoncées. Des cônes très petits dans les él. de sout. mêmes.

*C. tristis* M. B. Dans l'ép. de la feu. et dans celui de la gaine foliaire les cel. à fon. con. se trouvent au-dessus des él. de sout.

*C. vaginata* Tausch. Présence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la ti. et dans celui de la feu. au-dessus des él. de sout. Petits cônes dans les cel. des él. de sout. mêmes. Dans les feuilles les cel. de la gaine foliaire possèdent des parois légèrement imprégnées de silice.

*C. vesicaria* L. Les cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. sont plus petites que les cel. épidermiques voisines, au-dessus des él. de soutien. Présence de cônes dans les cel. de la gaine foliaire. Dans l'ép. de la ti. les cel. à fon. con. sont plus grandes que les cel. épidermiques voisines, au-dessus des él. de sout.

*C. dimorpha* Brot. (*C. Linkii* Wild.). Petits cônes dans l'ép. de la feu. situés au-dessus du par. et à proximité des stomates (fig. 16).

*Cladium mariscus* (L.) R. Br. du lac Karaš, district de Brodnica. On trouve des cel. à fon. con. bien nettes dans la gaine vasculaire (fig. 15).

*Carex hirta* L. Echantillons provenant de deux stations:

a) *Carex hirta* de la station marécageuse aux environs de Młochów. On trouve des cel. à fon. con. dans l'ép. de la feu. au-dessus des él. de sout. et dans ces él. mêmes. Les cônes sont entourés de cônes-filles. Dans l'ép. au-dessus du par. on voit de petits cônes sur les parois extérieures des cel. Absence de cel. à fon. con. dans l'ép. de la tige au-dessus des él. de sout., mais on trouve de petits cônes aplatis dans l'ép. au-dessus du par. et dans le par. même. Toute la cutine en est imprégnée de silice.

b) *Carex hirta* provenant d'une dune. Les cel. à fon. con. se trouvent dans l'ép. de la feu. et dans celui de la tige au-dessus des él. de sout. Dans la feuille même on reconnaît de plus de très petits cônes, sur les parois extérieures des cellules dans l'ép. au-dessus du parenchyme.

## Tableau synoptique.

Présence de cônes = +, absence = -.

Sous-famille ou sous-genre	E s p è c e	F e u i l l e					T i g e				
		Cel. à fon. con. dans l'ép. au-dessus des él. de soutien	Petits cônes dans l'ép. au-dessus du parenchyme	Cônes dans les cel. des éléments de soutien	Cônes dans les cel. de la gaine vasculaire	Cônes auprès des stomates	Cel. à fon. con. dans l'ép. au-dessus des él. de soutien	Petits cônes dans l'ép. au-dessus du parenchyme	Cônes dans les cel. des éléments de soutien	Cônes dans les cel. de la gaine vasculaire	Cônes auprès des stomates
Scirpoideae	<i>Cyperus fuscus</i> . . . . .	+	.	+	+	.	+	.	.	.	.
	<i>Blysmus compressus</i> . . . . .	++	.	.	+	.	+	.	.	.	.
	<i>Scirpus uniglumis</i> . . . . .	++	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	<i>S. radicans</i> . . . . .	++	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	<i>S. lacustris</i> . . . . .	++	.	.	.	.	++	.	.	.	.
	<i>S. maritimus</i> . . . . .	+	.	.	.	.	+	.	.	.	.
	<i>S. ovatus</i> . . . . .	+	.	.	.	.	+	.	.	.	.
	<i>S. acicularis</i> . . . . .	+	.	.	+	.	+	.	.	.	.
	<i>S. silvaticus</i> . . . . .	++	.	.	+	+	++	.	+	.	.
	<i>Eriophorum polystachyum</i>	+	.	+	+	.	++	.	.	.	.
<i>E. vaginatum</i> . . . . .	+	.	.	.	.	++	.	.	.	.	
<i>E. gracile</i> . . . . .	+	.	.	.	.	+	.	.	.	.	
Psyllophora Ehrh.	<i>Carex Davalliana</i> . . . . .	+	+	.	.	.	+	+	.	+	
	<i>C. pulicaris</i> . . . . .	++	++	.	.	.	+	+	.	+	
	<i>C. pauciflora</i> . . . . .	++	++	+	.	.	.	.	.	.	
	<i>C. dioica</i> . . . . .	+	+	.	.	+	.	.	.	.	
Vigneae P. Beauv.	<i>C. arenaria</i> . . . . .	+	.	.	.	.	+	.	.	.	
	<i>C. brizoides</i> . . . . .	++	+	.	.	.	.	.	.	.	
	<i>C. canescens</i> . . . . .	++	+	.	.	.	+	.	.	.	
	<i>C. chordorhiza</i> . . . . .	++	+	.	.	.	++	.	+	.	
	<i>C. cyperoides</i> . . . . .	++	.	.	.	.	++	.	.	.	
	<i>C. curvula</i> . . . . .	++	.	.	.	.	++	.	.	.	
	<i>C. diandra</i> . . . . .	++	.	.	.	.	++	.	.	.	
	<i>C. divulsa</i> . . . . .	++	+	.	.	.	++	.	.	.	
	<i>C. elongata</i> . . . . .	++	.	.	.	.	++	.	.	.	
	<i>C. lagopina</i> . . . . .	+	.	.	.	.	+	.	.	.	
	<i>C. leporina</i> . . . . .	++	+	.	.	.	+	.	+	.	
	<i>C. ligerica</i> . . . . .	++	+	.	.	.	++	.	+	.	
	<i>C. loliacea</i> . . . . .	++	.	.	.	.	++	.	.	.	
	<i>C. paniculata</i> . . . . .	++	+	+	.	.	++	.	.	.	
	<i>C. paradoxa</i> . . . . .	++	.	.	.	.	++	.	.	.	
<i>C. remota</i> . . . . .	++	+	.	.	.	++	.	.	.		
<i>C. stellulata</i> . . . . .	++	.	.	.	.	++	.	.	.		
<i>C. vulpina</i> . . . . .	+	.	.	.	.	+	.	.	.		
Eucarex Coss. et Germ.	<i>C. acutiformis</i> . . . . .	+	.	.	.	.	+	.	.	.	
	<i>C. aristata</i> . . . . .	++	+	.	.	.	+	.	.	+	
	<i>C. bicolor</i> . . . . .	++	.	.	.	.	++	.	.	.	
	<i>C. brachystachys</i> . . . . .	++	.	.	.	.	++	.	.	.	
	<i>C. Buxbaumii</i> . . . . .	++	+	.	.	.	++	+	.	.	
	<i>C. alba</i> . . . . .	+	+	.	.	.	+	.	.	.	

Sous-famille ou sous-genre	E s p è c e	F e u i l l e					T i g e				
		Cel. à fon. con. dans l'ép. au-dessus des él. de soutien	Petits cônes dans l'ép. au-dessus du parenchyme	Cônes dans les cel. des éléments de soutien	Cônes dans les cel. de la gaine vasculaire	Cônes auprès des stomates	Cel. à fon. con. dans l'ép. au-dessus des él. de soutien	Petits cônes dans l'ép. au-dessus du parenchyme	Cônes dans les cel. des éléments de soutien	Cônes dans les cel. de la gaine vasculaire	Cônes auprès des stomates
	<i>Carex capillaris</i>										
	<i>C. caespitosa</i>	++									
	<i>C. caryophylla</i>	++									
	<i>C. distans</i>	++									
	<i>C. ericetorum</i>	++									
	<i>C. flava</i>	++									
	<i>C. fuliginosa</i>	+									
	<i>C. firma</i>	++									
	<i>C. Goodenoughii</i>	++									
	<i>C. glauca</i>	++	+								
	<i>C. gracilis</i>	++	+								
	<i>C. hirta</i>	++	+	+							
	<i>C. hordeistichos</i>	++	+	+							
	<i>C. Hudsonii</i>	++									
	<i>C. Hornschuchiana</i>	++	+								
	<i>C. humilis</i>	++									
	<i>C. lepidocarpa</i>	++									
	<i>C. limosa</i>	++		+							
	<i>C. montana</i>	++									
	<i>C. Oederi</i>	++									
	<i>C. ornitopoda</i>	++		+							
	<i>C. pallescens</i>	++									
	<i>C. panicea</i>	++									
	<i>C. pilulifera</i>	++									
	<i>C. pilosa</i>	++									
	<i>C. punctata</i>	++									
	<i>C. pseudocyperus</i>	++	+								
	<i>C. rostrata</i>	++									
	<i>C. rigida</i>	++									
	<i>C. secalina</i>	++	+								
	<i>C. sempervirens</i>	++									
	<i>C. silvatica</i>	++	+								
	<i>C. supina</i>	++									
	<i>C. tomentosa</i>	++									
	<i>C. transilvanica</i>	++		+							
	<i>C. tristis</i>	++									
	<i>C. vaginata</i>	++		+							
	<i>C. vesicaria</i>	++									
	<i>C. stricta</i>	++									
	<i>C. dimorpha</i>	+									

### Conclusions.

Les résultats de nos recherches sur 79 espèces de plantes rangées dans la famille des *Cyperaceae*, nous permettent d'admettre que les cellules à fond coniques sont caractéristiques pour presque toutes les plantes étudiées (95<sup>0</sup>/<sub>0</sub>).

Elles sont surtout abondantes chez les *Caricoideae* où on les trouve aussi bien dans les feuilles, que dans les tiges. Il y a pourtant des exceptions à cet égard; ainsi on a constaté l'absence complète de cônes chez les espèces suivantes; *Scirpus ovatus*, *Carex lagopina*, *Carex capillaris* et *C. fuliginosa* (ce qui fait 5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>). Ils se présentent parfois dans les feuilles, mais ils font défaut dans la tige chez *Carex dioica*, *C. diandra*, *C. loliacea*, *C. aristata* et *C. sempervirens* (6<sup>0</sup>/<sub>0</sub>). Une fois seulement (chez *C. tomentosa*) on a trouvé des cellules à fond conique dans la tige, tandis qu'elles étaient absentes dans les feuilles. Elles sont presque toujours localisées (99<sup>0</sup>/<sub>0</sub>) dans les cellules de l'épiderme au-dessus des éléments de soutien et apparaissent souvent dans l'épiderme au-dessus du parenchyme (28<sup>0</sup>/<sub>0</sub> des cas dans la feuille, 24<sup>0</sup>/<sub>0</sub> dans la tige). On les trouve plus rarement dans les éléments de soutien (14<sup>0</sup>/<sub>0</sub> dans la feuille, 7<sup>0</sup>/<sub>0</sub> dans la tige), très rarement cependant dans la gaine entourant les faisceaux vasculaires (5<sup>0</sup>/<sub>0</sub> chez *C. pseudocyperus*, *C. secalina*, *C. silvatica* et *C. vesicaria* dans les feuilles, dans deux cas chez *C. Davalliana* et *C. leporina* dans la tige).

Sauf chez *Cladium Mariscus*, M<sup>me</sup> L. Chlewińska-Karpowicz a également trouvé les cônes siliceux dans la gaine entourant les faisceaux vasculaires chez les espèces suivantes: *Cyperus fuscus*, *C. alternifolius*, *Scirpus silvaticus* et *Carex hirta* (très rares) (voir pl. II f. 8, pl. III f. 6, IV f. 7, VII 5, 8—11).

Il faut aussi considérer comme très rare la présence de cônes à proximité des stomates. [Chez *C. pauciflora* dans les feuilles, chez *C. stellulata* dans les feuilles et la tige, chez *C. Davalliana*, *pulicaris* et *acutiformis* seulement dans la tige (fig. 18 et 20)].

Au-dessus des éléments de soutien nous trouvons des excroissances siliceuses. Il y en a une, deux et parfois trois dans une cellule (fig. 3, 4, 11). On rencontre souvent chez les *Caricoideae* des cellules à fond conique voûtées, qu'on chercherait vainement chez les *Scirpoideae*. La présence et la répartition des cellules à fond conique pourrait avoir une certaine importance pour la

différenciation systématique des genres chez les *Cyperaceae*. On peut constater des différences surtout entre les sous-familles des *Scirpoideae* pro parte (*Blysmus*, *Scirpus* et *Eriophorum* à l'exception de *Cyperus*) et des *Caricoideae* (*Carex*), puis dans la sous-famille des *Caricoideae* entre les sous-genres *Psyllophora* et *Vignea*. Chez les *Scirpoideae* (sauf *Cyperus* et *Scirpus silvaticus*) les cellules à fond conique ne se trouvent que dans l'épiderme au-dessus des éléments de soutien, de même que dans la feuille et dans la tige; très rarement elles apparaissent aussi dans les éléments de soutien mêmes. Chez les *Caricoideae* les cellules à fond coniques sont également présentes dans l'épiderme au-dessus des éléments mécaniques; de plus elles se montrent dans l'épiderme au-dessus du parenchyme, et dans le parenchyme même à proximité des stomates, comme on les voit aussi dans la gaine vasculaire. La différence entre les sous-genres *Psyllophora* et *Vignea* se manifeste par le caractère des cônes. Chez les *Psyllophora* ils ont des sommets clairs et des bases striées et sont toujours accompagnés de cônes-filles (fig. 4). Dans le sous-genre *Vignea* les cônes plus sombres ont une base striée, mais ils sont dépourvus de cônes-filles (fig. 7 et 11).

Parmi les genres des *Scirpoideae*, *Blysmus* possède des cônes au sommet plus ou moins pointu; celui d'*Eriophorum* a des sommets tronqués; enfin celui de *Scirpus* présente des cellules à fond conique dans l'épiderme au-dessus du tissu mécanique, qui sont plus petites que les cellules épidermiques voisines et dont la cutine est imprégnée de silice. Pour trancher la question si les conditions extérieures exercent de l'influence sur l'aspect et la présence des cellules à fond conique, on a examiné des échantillons de *Carex hirta* provenant de deux stations absolument différentes, savoir d'un marais et d'une dune. On n'a pas trouvé de différences essentielles dans la répartition et l'aspect des cônes siliceux; cependant sur la tige de la plante provenant de la station humide on a constaté dans l'épiderme au-dessus du tissu de soutien l'absence de cellules à fond conique, ce qui pourrait indiquer que la station humide agit légèrement dans le sens d'un arrêt du développement des cônes et que ceux-ci sont plutôt liés à une structure xeromorphe de la plante comme p. ex celle des dunes.

Toutes les recherches précédentes, surtout celles de Pfeiffer, fournissent la preuve, que contrairement aux »*Stegmata*« des

Orchidées les cellules à fond conique de Duval-Jouve ne se forment pas dans la lumière de la cellule, mais qu'elles ne sont que des excroissances localisées sur les parois des cellules particulières. Il appert des recherches de T. Zadura à l'Institut de Botanique Générale, exécutées sous la direction de M<sup>r</sup> le prof. Z. Wóycicki, qui a eu l'amabilité de mettre les résultats obtenus à notre disposition, ce dont nous le remercions très cordialement, que le cône siliceux repose chez *Carex* sur une base épaisse, entouré d'une mince membranule cellulosique. La partie antérieure de la cellule, à partir de la membranule jusqu'à la membrane extérieure, s'est remplie d'une substance striée qui, traitée par de la coralline dans une solution de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 30<sup>o</sup>/<sub>o</sub>, donne une coloration rouge-brunâtre, témoignant du caractère mucilagineux de la partie striée. La base du cône a donné la même coloration avec de la coralline. Si nous appuyant sur l'opinion de Rothert, nous considérons comme cystolithes toutes sortes de protubérances internes de la membrane cellulaire d'une structure spéciale, nous devrions admettre en conséquence que ces formations présentent elles aussi plus ou moins le même caractère; elles sont privées cependant du pouvoir de s'accroître successivement et d'agglomérer l'oxalate de calcium, pouvoir dont disposent les cystolithes typiques. Les cellules à fond conique de Duval-Jouve d'après Pfeiffer diffèrent des cystolithes et il faudrait les ranger dans une catégorie spéciale de protubérances des membranes internes et latérales (Protuberanzen der inneren und seitlichen Membranen). Tout en constituant un trait caractéristique de la famille des Cypéracées, les cônes en question sont homologues aux cellules siliceuses courtes (Kieselkurzzellen), décrites chez les Graminées par Grob et Frohnmayer. Malgré les ressemblances extérieures, les formations, nommées «corps de Rasdorsky», décrites par Borissow dans les gaines des racines chez *Andropogon* et *Erianthus*, en diffèrent cependant par le mode de leur développement à l'intérieur de la paroi. Nous voyons également que seules certaines cellules sont presque toujours prédéstinées à former ces cônes; au contraire ceux-ci sont généralement en rapport étroit avec les cellules de l'épiderme, s'étendant au-dessus du sclérenchyme. De l'avis de Haberlandt et de Pfeiffer, on devrait surtout leur attribuer le rôle d'éléments de consolidation, rôle qui n'est d'ailleurs pas en contradiction avec

la juste opinion de Westermaier, que grâce à cette structure, certaines cellules de l'épiderme peuvent acquérir une résistance mécanique, sans que la continuité du tissu soit interrompue, et que les échanges de sève entre une cellule et l'autre soient compromis. Les observations enregistrées par M<sup>me</sup> Chlewińska-Karpowicz intéressent également le rôle qui échoit au cônes siliceux dans la consolidation chez des espèces comme *Cyperus fuscus* et *C. alternifolius* où les stomates sont presque exclusivement répartis à la face inférieure, et où les excroissances siliceuses ne se rencontrent qu'exceptionnellement à la face supérieure; en conséquence on les trouve principalement là, où le tissu épidermique est un peu moins résistant par suite de la présence de stomates (c'est à dire à la face inférieure). Chez *Carex* et *Scirpus* la répartition des stomates est la même sur les deux faces de la feuille et les cônes siliceux ne montrent aucune préférence soit pour la face supérieure, soit pour l'inférieure. L'absence de cônes siliceux au-dessus du tissu mécanique dans la tige de *Carex hirta*, qui habit une station humide, s'accorde au point de vue écologique avec la réduction générale des éléments de consolidation en rapport avec un milieu ambiant pareil.

Il ne se forme pas toujours de véritables cônes; parfois il ne s'agit que de petites agglomérations de silice fortement réfringentes, situées dans les cellules, qui adhèrent aux stomates (*Carex pauciflora*, *stellulata*, *Davalliana*, *pulicaris* et *acutiformis*); parfois ce sont des lamelles dentées, décrites par Schilling dans les gaines entourant les faisceaux chez *Heleocharis plantaginea*.

La présence de ces formations dans des cellules strictement déterminées, nous apprend qu'elles jouent un certain rôle fonctionnel au cours de leur développement et constituent en tous cas un trait systématique important de la famille des Cypéracées. S'appuyant sur l'étude d'un matériel abondant, H. Pfeiffer a fourni des preuves de cette importance; d'autre part nos recherches ont permis de préciser le rôle de cônes siliceux chez différentes espèces et dans plusieurs genres, par le fait d'avoir décrit dans les détails leur répartition dans les divers tissus des plantes étudiées.

Institut de Botanique Systématique et de Phytogéographie de l'Université de Josef Pilsudski à Varsovie.

## Bibliographie.

Les travaux indiqués par \* astérisque concernent d'une manière spéciale les problèmes traités dans cet ouvrage.

1. \*Bary de A.: Vergl. Anat. d. Vegetationsorgane. Leipzig 1877. —
2. \*Bordet M.: Recherches anatomiques sur le genre *Carex*. Rev. gén. d. Bot. 1891, p. 57. — 3. \*Borissow G.: Über eigenartige Kieselkörper in der Wurzelendodermis bei *Andropogon*-Arten. Ber. d. deut. Bot. G. XLII, 1924, 366—8. — 4. \*Idem: Rasdorskys Körperchen bei *Ravenna*-Gras. Ibidem XLIII, 1925, 178—184. — 5. Idem: Weiteres über Rasdorskys Körperchen. Ibidem XLVI, 1928, 463. — 6. \*Chlewińska-Karpowiczowa L. M<sup>me</sup>: *Claudium Mariscus* R. Br. Studjum ekologiczne. Arch. d. Biol. d. l. Soc. d. Sciences et Lett. de Varsovie, Vol. II, 4. Warszawa 1929. — 7. \*Duval-Jouve J.: Sur une forme de cellules épidermiques qui paraissent propres aux Cypéracées. Bull. d. l. Soc. bot. d. France XX, 1873, 1—95 et Mém. Acad. Sc. et Lettr. Montpellier. VIII, 1872, 227—234. — 8. Idem: Étude historique des *Cyperus* de France. Ibidem VIII, 1873, 347. — 9. Falkenberg P.: Vergleich. Anatomie d. Veget.-Org. d. Monocotylen. 1876. —
10. Frohnmeyer M.: Die Entstehung und Ausbildung d. Kieselzellen bei d. Gramineen. Bibl. Bot. 86, 1914. — 11. Grob A.: Beiträge zur Anatomie d. Epidermis d. Gramineenblätter. Bibl. Bot. 36, 1896. — 12. Guichard A.: Recherches d'Ontogénie morph. et anatom. sur la feuille végét. des Cypéracées *Carex glauca* L., Revue Bretonne de Bot. 1929, Nr. 1. p. 1—117. —
13. Guillaud A.: Recherches sur l'anatomie comparée et le développ. d. tissus d. l. tige dans les Monocotylédones. Ann. Sc. Nat. 6 sér. Bot. V, 1878, 5—176. — 14. \*Haberlandt G.: Physiologische Pflanzenanatomie. Leipzig. I. Aufl. 1884, V. 1918, S. 110, VI. 1924. — 15. \*Holm Th.: Amer. Journ. of Science: a) III, 1897, 121; b) III, 1897, 429; c) IV, 1897, 13; d) IV, 1897, 298; e) VII, 1899, 5; f) VII, 1899, 171; g) VII, 1899, 435; h) VIII, 1899, 105; i) XXIII, 1907, 421. — 16. \*Kaphahn S.: Beiträge zur Anatomie d. Rhynchosporienblätter und zur Kenntnis d. Verkieselungen. Beih. z. Bot. Centralbl. Abt. I, 1905, XVIII, 233. — 17. Klein: Beiträge zur Anatomie der Inflorescenzen. (Diss.) Berlin 1886. Jahrb. Bot. Gar. u. Mus. Berlin IV, 333. — 18. Kohl F. G.: Anatomisch-physiologische Untersuchung der Kalksalze und Kieselsäure in der Pflanze. Marburg 1889. —
19. \*Küster E.: Über Kieselablagerungen im Pflanzenkörper. Ber. d. deut. Bot. Ges. XV, 1897, 137. — 20. \*Lemcke A.: Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Carex* Mich. Diss. Königsberg 1892. — 21. Marggraf: Vergl. Anat. d. *Carex*-Art mit ihren Bastarden. Leipzig 1896. — 22. \*Mazel A.: Étude d'anat. comp. sur les organes de végét. dans le genre *Carex*. Thèse. Genève 1891. — 23. \*Molisch H.: Aschenbild und Pflanzenverwandtschaft. Sitzb. Akad. Wien. CXXIX, 1920, 263. — 24. \*Netolitzky F.: Die Kieselkörper. Die Kalksalze als Zellinhaltskörper. K. Linsbauer: Handbuch d. Anatomie. III, 1a. 1929. — 25. Palla E.: Zur Kenntnis der Gattung *Scirpus*. Engl. Bot. Jahrb. X, 1889, 293. — 26. Idem: Zur Systematik der Gattung *Eriophorum*. Bot. Zeitg. LIV, 1896, 141. — 27. Pax F.: Anatomie d. Cyper. in G. Kückentals Cyperaceae-Caricoideae. Pflanzenreich. IV, 20 (H. 38),

1909. — 28. \*Pfeiffer H.: Über die Stellung d. Gatt. *Caustis* im natürl. System. Ber. Deutsch. Bot. Ges. XXXVII, 1919, 415. — 29. \*Idem: Zur Systematik der Gatt. *Chrysithrix* und anderes *Chrysithrichinae*. Ibidem. XXXVIII, 1920, 6. — 30. \*Idem: Revision der Gatt. *Ficinia*. Bremen 1920. — 31. \*Idem: Die Kegelzellen innerhalb d. Gefäßbündelscheide bei *Cladium Mariscus*. Beih. Bot. Centralbl. Abt. I, XXXVII, 1921, 401. — 32. \*Idem: Der heutige Stand unserer Kenntnisse von den Kegelzellen der Cyperaceen. Ber. Deutsch. Bot. Ges. XXXIX, 1921, 353. — 33. \*Idem: Vergleich. Anat. d. Blätter d. *Lagenocarpus*-Arten. Beih. Bot. Centralbl. Abt. II, XXXIX, 1923, 436. — 34. \*Idem: *Syntrinema* genus novum Cyperacearum Brasiliensium, Feddes Repert. XXI, 1925, 238. — 35. \*Idem: Aus der Entwicklungsgeschichte der Kegelzellen der Cyperaceen. Ber. Deutsch. Bot. Ges. XLIII, 1925, (26). — 36. \*Idem: Vorarbeiten zur systematischen Monographie der *Cyperaceae-Mapaniaceae*. Bot. Arch. XII, 1925, 446. — 37. \*Idem: Untersuchungen zur vergleich. Anat. der Cyperaceen. I. Die Anatomie der Blätter. Beih. Bot. Centr. I. Abt. XLIV, 1927, 90. — 38. Idem: Über Methoden zum Studium der Verkieselungsprozesse innerhalb lebender pflanzlicher Zellen. Arch. f. exp. Zellfor. VI, 1928, 418. — 39. Idem: Bemerkungen zur Klassifikation zentripetaler Wandverdickungen der Pflanzenzelle. Ber. deutsch. Bot. Ges. XLVII, 1929, 141. — 40. \*Idem: Über die Erscheinungen bei den Verkieselungen v. Pflanzenzellen insbesondere derer Cyperaceen. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 1929, 78—82. Gen. Vers. — 41. Plowman A. B. The comparative anatomy and phylogeny of the *Cyperaceae*. Ann. of Bot. XX, 1906, 1—34. — 42. Raciborski M. i Szafer W.: Flora Polska. I. 1919, Kraków. — 43. \*Rikli M.: Beiträge zur vergleich. Anat. d. Cyperaceen mit besonderer Berücksicht. d. inner. Parenchymscheide. Pringsh. Jahrb. XXVII, 1895, 485—580, Diss. Basel 1895. — 44. Rothert W.: Vergleich. anat. Untersuchungen über die Differenzen etc. Dorpat 1885. — 45. Schilling E.: Eigentümliche Ausgestaltung d. Gefäßbündelscheide bei *Eleocharis plantaginea*. Zeitschr. f. Bot. X, 1918, 512. — 46. Spinner H.: L'anatomie foliaire des *Carex*-Suisses. (Diss. Zürich, 1903). Trav. Lab. syst. Mus. bot. Univ. Zürich. XVII, 1903. — 47. Szafer W., Kulczyński S., Pawłowski B.: Rośliny Polskie. 1924. — 48. \*Westermaier I.: Über Bau und Funktion d. pflanzl. Hautgewebesystems. Pringsh. Jahrb. XIV, 1884, 43. — 49. \*Wilczek E.: Beiträge zur Kenntnis des Baues der Frucht und des Samens d. Cyperaceen. Bot. Centralbl. LI, 1892, 129. — 50. Zadura T.: Anatomie et Cythologie de quelques espèces du genre *Carex* (en polonais, manuscrit; travail exécuté au Laboratoire de botanique générale de l'Univ. J. Pilsudski à Varsovie).

### Explication des planches 1—2.

Toutes les figures ont été dessinées à l'aide de l'appareil à dessiner d'Abbé.

En dessinant les figures 1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19 et 20 on s'est servi de l'oc. 4, obj. 7. Grossissement 480 fois. Figures 3 et 18 — oc. 4, obj. 9. Grossissement 840 fois.

4\*

## Planche 1.

Fig. 1. *Carex Hudsonii* Bennet. Coupe transversale de la feuille. Cellules pourvues de papilles sur la face inférieure de la feuille.

Fig. 2. *C. pseudocyperus* L. Coupe transversale de la tige. Petits cônes dans l'épiderme au-dessus des éléments de soutien.

Fig. 3. *C. secalina* Wahlbg. Coupe transversale de la feuille; parois extérieures sinueuses des cel. à fon. con.

Fig. 4. *C. Davalliana* Sm. Coupe transversale de la feuille. Cel. à fon. con. voûtées. Cônes accompagnés de cônes-filles.

Fig. 5. *C. hordeistichos* Vill. Coupe transversale de la feuille. Cel. à fon. con. plus grandes que les cel. voisines de l'ép. Parois extérieures de certaines cel. à fon. con. enfoncées. Cônes de grandes dimensions.

Fig. 6. *C. Davalliana* Sm. Coupe transversale de la tige. Petits cônes sur les parois extér. de l'ép. au-dessus du par.

Fig. 7—8. *C. curcula* All. Coupe transversale de la tige. Cônes sur les parois extér. des cel. au-dessus des él. de soutien (Dessins exécutés à la main.)

Fig. 9. *C. hordeistichos* Vill. Coupe transversale de la feuille. Cônes entourés d'une couronne de cônes très petits.

Fig. 10. *Scirpus silvaticus* L. Coupe transversale de la feuille. Cel. à fon. con. pourvues d'excroissances.

Fig. 11. *Carex curcula* All. Coupe transversale de la feuille. Deux cônes dans une cellule.

Fig. 12. *C. paradoxa* Willd. Coupe transversale de la feuille. Cel. caractéristiques au-dessus du parenchyme.

Fig. 13. *C. Hornschuchiana* Hoppe. Coupe transversale de la tige. Cel. caractéristique sur l'épiderme.

## Planche 2.

Fig. 14. *Carex hordeistichos* Vill. Coupe tangentielle de la feuille. Cônes vus de face.

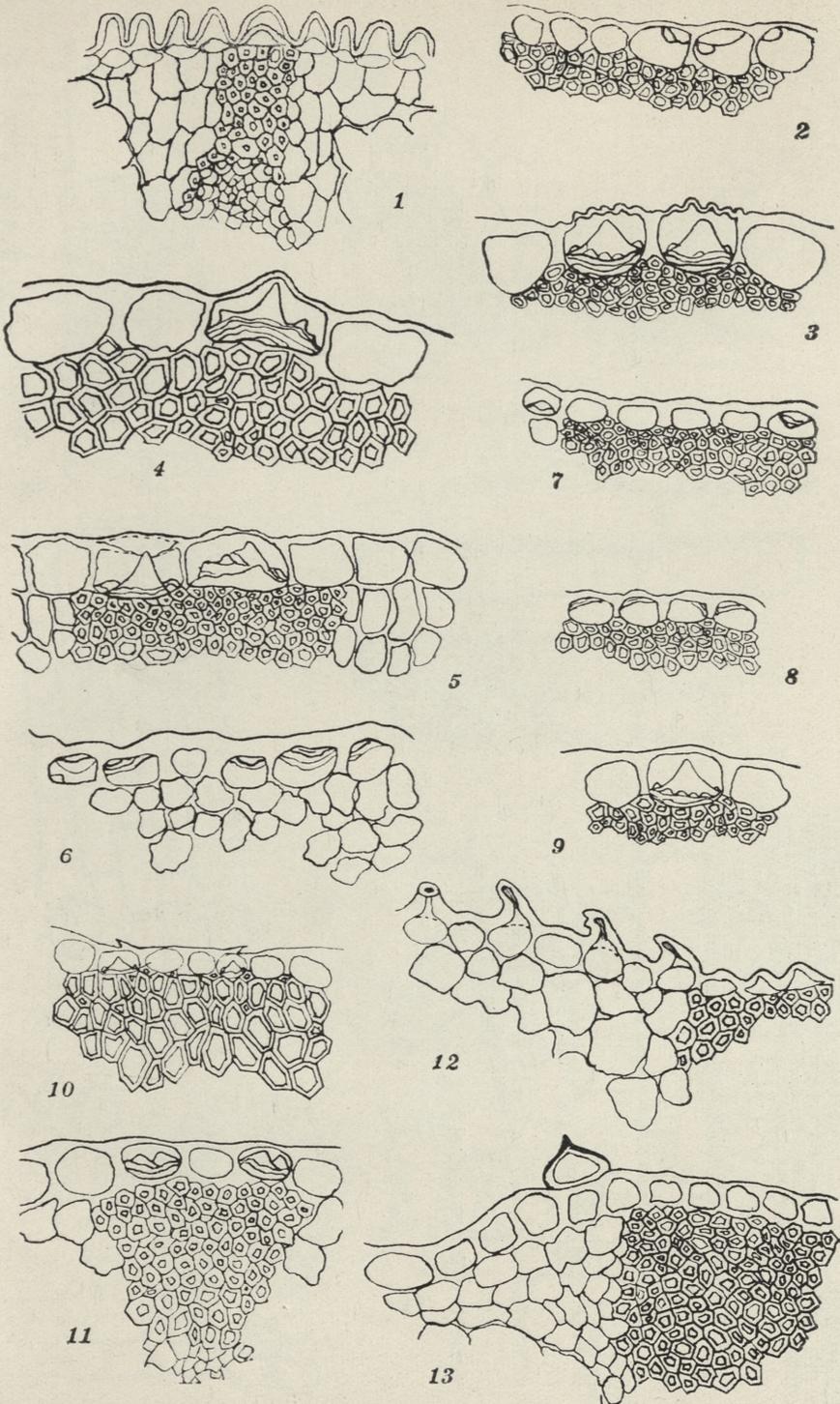
Fig. 15. *Cladium Mariscus* (L.) R. Br. Coupe transversale de la tige. Cel. à fon. con. dans la gaine vasculaire.

Fig. 16. *Carex dimorpha*. Coupe transversale de la feuille. Petits cônes dans l'ép. au-dessus du par. et à proximité des stomates.

Fig. 17. *C. limosa* L. Coupe transversale de la feuille. Cônes à base épaissie. Cel. pourvues de papilles au-dessus du par.

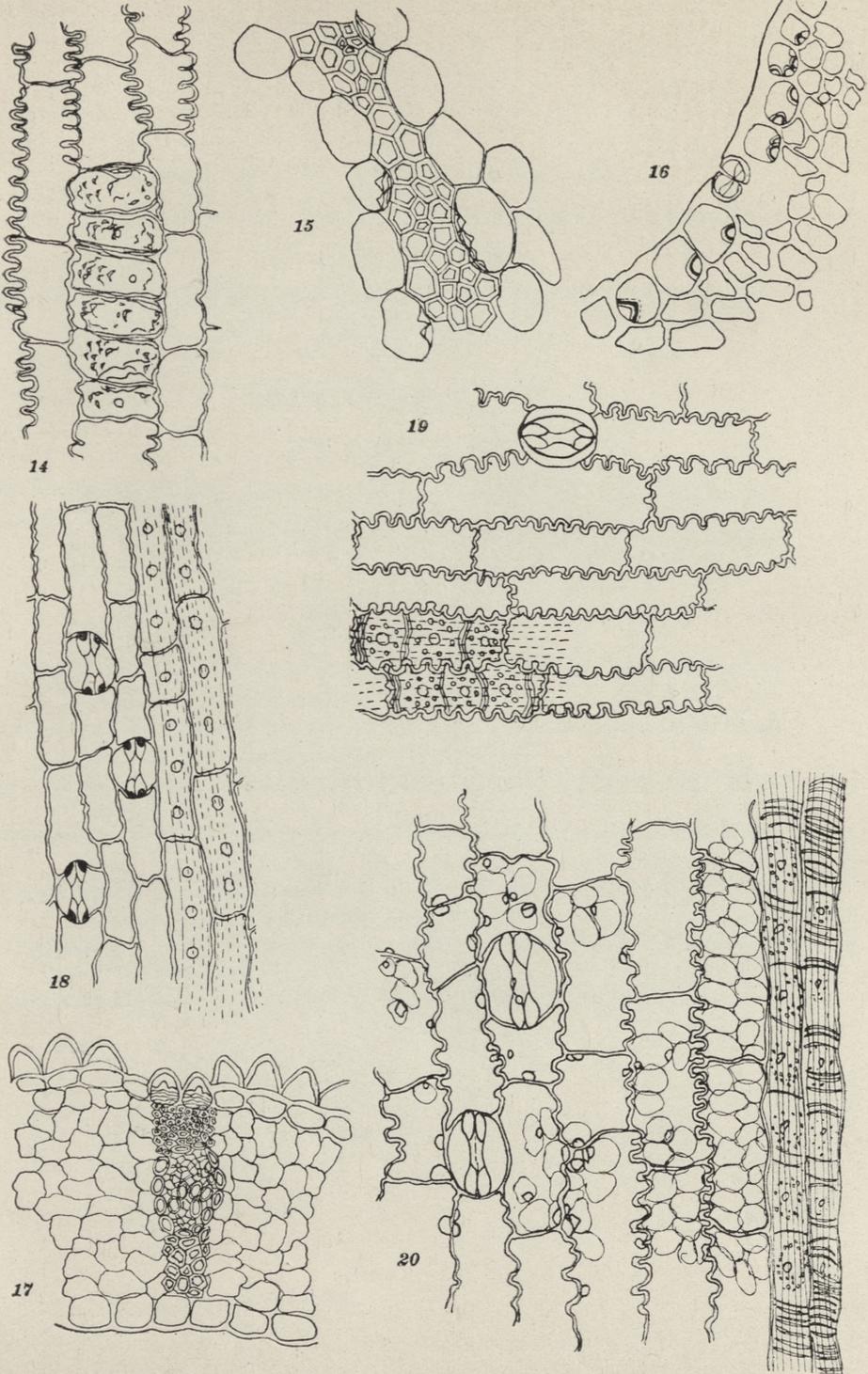
Fig. 18. *C. acutiformis* Ehrh. Coupe tangentielle de la tige. Cel. stomatiques, imprégnées de silice dans l'ap. stomatique. Cônes, au-dessus des él. de soutien, vus de face.

Fig. 19—20. *C. Davalliana* L. Coupe tangentielle de la tige. Petits cônes dans le par. auprès de stomates et au-dessus des él. de sout.; cônes normaux, vus de face.



B. Hryniewiecki et W. Kurtz del.







BULLETIN INTERNATIONAL  
DE L'ACADÉMIE POLONAISE DES SCIENCES  
ET DES LETTRES

CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES

SÉRIE B: SCIENCES NATURELLES

DERNIERS MÉMOIRES PARUS.

N° 8—10 B I, 1935.

- Rouppert K.** Blasenrost der Arve in der Hohen Tatra (Planches 11—13).  
**Szafer Wl.** The Significance of Isopollen Lines for the Investigation of the Geographical Distribution of Trees in the post-Glacial Period (Planches 9—10).

N° 8—10 B II, 1935.

- Biborski J.** Über die Segmentalgefäße und die Gefäße der unpaaren Flossen der Scholle (*Pleuronectes platessa*) (Planche 12).  
**Cišlik Wl. und Kawecki Zb.** Das spontane Auftreten der Blutlauszehrwespe *Aphelinus mali* Hald. in Polen (Planche 13).  
**Garbowski T.** Zur Ethologie und Psychologie der Asopiden (*Hemiptera heteroptera*).  
**Grodziński Z.** Die Entwicklung der Venen in der Keimscheibe des Hühnchens.  
**Grodziński Z. and Marchlewski J.** Studies on the motility of Spermatozoa of the Domestic Cock outside the organism.  
**Luczyńska H.** Über den Formensinn und das Gedächtnis für optische Eindrücke bei Eidechsen.  
**Zieliński M. A.** Phosphorus in the early development of the frog.

# TABLE DES MATIÈRES.

Janvier—Février 1936.

	Page
M. GATTY-KOSTYAL et J. TESARZ. L'acide nucléique de l'érgot de seigle (II <sup>e</sup> partie) . . . . .	1
B. HRYNIEWIECKI et W. KURTZ. La répartition des cônes sili- ceux dans les cellules des Cypéracées et leur corrélation (Planches 1—2) . . . . .	33

Le »*Bulletin International*« de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres (Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles) paraît en deux séries. La première (A) est consacrée aux travaux sur les Mathématiques l'Astronomie, la Physique, la Chimie, la Minéralogie, la Géologie etc. La seconde série (B) se divise en deux sous-séries; l'une d'elles »I« contient les mémoires qui se rapportent aux diverses branches de la Botanique (la Systématique, l'Anatomie et la Physiologie des Plantes), l'autre »II« est réservée aux publications qui concernent le vaste domaine des recherches morphologiques et physiologiques sur l'homme et les animaux (Anatomie, Biologie générale, Embryologie, Histologie, Physiologie, Psychologie, Zoologie systématique et expérimentale).

Depuis 1928, le »*Bulletin International*« ne contient que les communications dont l'étendue ne dépasse pas une limite strictement définie; les mémoires de plus vaste envergure sont réunis en un Recueil différent, les »*Mémoires*« de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres (Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles). Les *Mémoires* sont également publiés en deux séries: A et B. Chaque mémoire publié dans les *Mémoires* se vend éparément.

Les abonnements relatifs au »*Bulletin International*« sont annuels et partent de Janvier. Les livraisons de ce Recueil se vendent aussi séparément.

**Adresser les demandes à l'Académie ou à la Librairie »Gebethner et Wolff«  
Rynek Gł., Cracovie (Pologne).**