

## EFFET DE QUELQUES DÉTERGENTS SUR L'ŒUF DE *TEREDO NORVÉGICA*

par

E. FAURÉ-FREMIET ET J. THAUREAUX

*Laboratoire d'Embryogénie comparée, Collège de France, Paris (France)*

### I. MATÉRIEL ET TECHNIQUE

L'œuf de *Teredo norvegica* répond à l'action de quelques détergents d'une manière tout à la fois caractéristique, rapide et nuancée, qui fait de lui un matériel cellulaire particulièrement favorable à l'expérimentation.

Les Tarets utilisés proviennent de bois d'épaves recueillis dans la baie de Concarneau et conservés dans les viviers du laboratoire. Ces bois sont attaqués au ciseau, et les galeries sont progressivement et soigneusement découvertes; puis les individus en sont extraits avec précaution, rapidement lavés dans de l'eau de mer chaque fois renouvelée, et placés séparément dans des boîtes de Petri avec une petite quantité d'eau de mer. Ils peuvent être conservés de la sorte à la température de 3° à 5° C pendant plus de douze heures sans inconvénient.

La ponte des œufs, comme l'éjaculation du sperme, se produit spontanément après l'isolement des individus *in vitro*; l'état des produits sexuels est vérifié, dans les boîtes de Petri, sous une loupe binoculaire. Une ponte étant choisie, les oocytes sont séparés par décantation, lavés et réunis dans un petit cristalliseur. Leur fécondation est effectuée, au moment voulu, en les mélangeant avec du sperme, dont l'excédent est éliminé, quelques minutes plus tard, par décantation et lavage. Le premier globule polaire apparaît 25 à 30 minutes après la fécondation et la première division de segmentation est réalisée environ une heure plus tard.

Les essais comparatifs sont effectués de la manière suivante: les œufs sont prélevés à un stade déterminé et distribués en quantités petites et sensiblement égales, dans une série de petits cristalliseurs en verre pyrex contenant déjà un mélange d'eau de mer, et d'une solution de détergent dans l'eau de mer, de titre connu; les volumes sont calculés de telle sorte que leur somme soit toujours égale à 5 ml, et que toutes autres conditions étant égales par ailleurs, les concentrations des corps étudiés s'échelonnent entre les limites choisies. Les observations sont facilement poursuivies dans les mêmes cristalliseurs, sous une loupe binoculaire; elles sont éventuellement complétées par le prélèvement de petites quantités d'œufs qui sont examinées sous un fort objectif, ou bien fixées et montées après coloration convenable en préparations permanentes.

Les détergents utilisés se répartissent de la manière suivante\*:

#### 1. *Détergents anioniques*:

Duponols ME, G, D, SO (alcoyle-sulfates).

Igepon T (Sulfate de Na de l'oléylméthyltaurine).

Ucenol LS (Sulfate double de lauryle et de sodium).

Ucenol OCS (Sulfate double d'oléocétyle et de sodium).

Avirol AH (Sulforicinoléate d'alcoyle).

\* Nous remercions ici les Établissements DU PONT DE NEMOURS et l'UNION CHIMIQUE BELGE qui nous ont obligeamment fourni divers échantillons de leurs produits; le Docteur BAUD et le Docteur DERVICHIAN, à l'amabilité desquels nous devons quelques autres substances.

## 2. Détergents cationiques:

Sapamine A (acétate de Diéthylaminoéthyloléylamide).

## 3. Détergents neutres:

Cemulsol B (complexe d'acide ricinoléique et d'oxyde d'éthylène polymérisé).

Tween 80 (sorbitan-monooléate et oxyde d'éthylène polymérisé).

Lorsque ces détergents sont utilisés dans les conditions précitées, c'est-à-dire dans l'eau de mer, les composés anioniques se montrent seuls actifs.

L'effet produit par les détergents actifs se manifeste d'une part sur la membrane vitelline de l'œuf, qui peut être gonflée ou dispersée, et de l'autre sur la surface protoplasmique proprement dite; il se traduit alors soit par quelques anomalies de la segmentation, soit par des phénomènes cytolytiques tels que l'exsudation de lobes hyalins, ou la destruction du cortex et la dispersion du contenu protoplasmique.

## II. CONCENTRATION EFFECTIVE DES DÉTERGENTS ANIONIQUES

La préparation d'une solution de détergent de concentration exactement connue est au moins difficile, pour la double raison que les produits commerciaux utilisés ne sont pas nécessairement des corps purs, et que certains d'entre eux, faiblement solubles, se dispersent dans l'eau en suspensions stables, le taux de substance réellement dissoute restant indéterminé. Il apparaît cependant que, à des taux supposés semblables, les solutions des divers détergents anioniques utilisés: Duponol D, G, ME, Igepon T, etc., agissent de manière sensiblement analogue\*. Les concentrations utilisables avec l'œuf de *Teredo* sont de l'ordre de 0.1 à 0.0002%, soit environ  $2 \text{ M } 10^{-4}$  à  $5 \text{ M } 10^{-6}$  par litre.

Aux concentrations de 0.1 à 0.01%, les détergents anioniques provoquent très rapidement une cytolyse totale de l'œuf, comportant la destruction de la membrane vitelline et la dispersion de toute la masse protoplasmique; ou tout au moins, l'aspect caractéristique de la "cytolysse noire", c'est-à-dire la transformation de l'œuf en une masse granuleuse plus ou moins fortement gonflée. On sait que, pour ces mêmes concentrations, divers expérimentateurs ont obtenu des effets bactériostatique et hémolytique (voir DUBOS<sup>1</sup>, PUTNAM<sup>2</sup>).

Aux concentrations de 0.005 à 0.0005%, les mêmes détergents agissent d'une manière beaucoup plus ménagée, et beaucoup mieux adaptée aux possibilités d'une analyse expérimentale.

La concentration de 0.0005% approche de la limite, ses effets sont souvent à peine sensibles; la segmentation des œufs se poursuit et donne une plus ou moins forte proportion de larves apparemment normales.

La concentration de 0.00025% est généralement sans effet.

Utilisés dans les mêmes conditions et aux mêmes concentrations, les détergents cationiques tels que la Sapamine, ou neutres tels que le Cemulsol et les Tweens, restent sans effet sur l'œuf de *Teredo*, ou bien n'agissent que très faiblement et d'une manière incertaine.

Comparant aux détergents anioniques un composé cytolysant dont on peut supposer qu'il agit comme un enzyme, tel le venin d'Abeille avec sa lécithinase, on constate que l'effet cytolytique reste brutal jusqu'à la concentration de 0.005%, qu'il est

\* Le Duponol SO est, cependant, beaucoup moins actif.

ménagé pour 0.0005% environ, et sensiblement nul pour 0.0002%; l'œuf de *Teredo* est donc plus sensible au venin d'Abeille qu'aux détergents anioniques, mais les concentrations limites restent de même ordre dans les deux cas.

L'œuf d'un autre Invertébré marin du type Spiralia, celui de *Sabellaria alveolata*, a été utilisé comparativement; il apparaît aussitôt que cet œuf, dont la taille n'est que de peu supérieure à celle de l'œuf de *Teredo norvegica*, est environ 20 fois moins sensible que ce dernier à l'action des détergents anioniques et 200 fois moins à celle du venin d'Abeille. Dans les deux cas, en effet, les solutions à 0.005% sont inactives, et les manifestations caractéristiques d'une action cytolytique ménagée n'apparaissent qu'aux concentrations de 0.1 à 0.01%.

### III. EFFET SUR LA MEMBRANE VITELLINE

L'action des détergents anioniques sur la membrane vitelline est d'abord marquée par un gonflement qui augmente sensiblement sa surface et provoque son écartement du cortex ovulaire; en présence d'Igepon, cet état persiste le plus souvent (Fig. 4). Dans tous les cas, cependant, la membrane gonflée est très fragile, de sorte qu'une simple agitation mécanique suffit à la rompre, ou même à la détruire.

Si l'attaque est plus marquée, sous l'effet des Duponols, par exemple (Fig. 1), le gonflement s'accroît tout d'abord ainsi que le plissement de la membrane qui forme autour de l'œuf une enveloppe chiffonnée, avant de se disperser en une poussière de

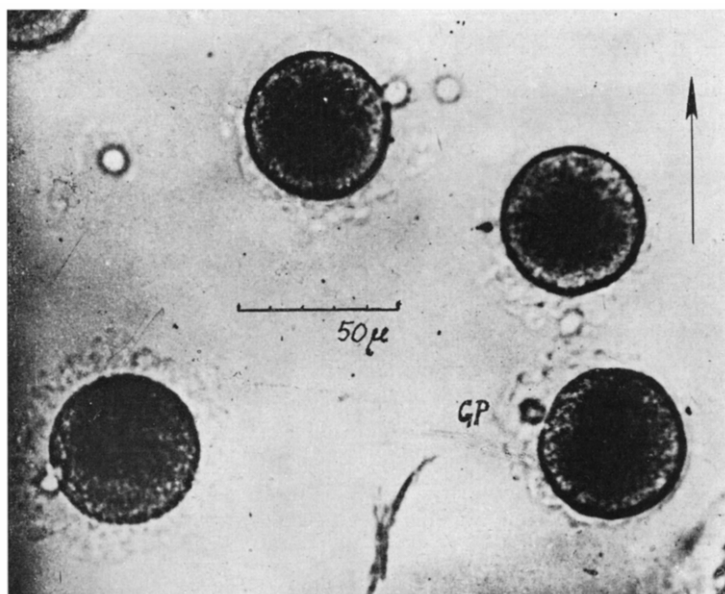


Fig. 1. Œuf de *Teredo norvegica*, avant la première division; la membrane vitelline est gonflée et fortement plissée sous l'action du Duponol G.

granules. Une telle dispersion se produit immédiatement si l'on transporte les œufs dans l'eau de mer pure, ou mieux encore dans une solution isotonique de NaCl.

Le venin d'Abeille agit d'une manière différente; la membrane se gonfle très peu, mais se rompt en un point, tandis que le bord libre se replie sur lui-même vers l'intérieur; il suffit alors d'une légère agitation pour séparer et isoler ces membranes; elles persistent telles quelles et peuvent être lavées, séchées sur lame de verre et colorées.

La sensibilité ou la fragilité de la membrane vitelline s'accroît légèrement au cours de la maturation et jusqu'à la première division de segmentation, c'est-à-dire durant la période correspondant à son écartement normal du cortex oculaire.

#### IV. EFFET SUR LE CORTEX OVULAIRE

La membrane vitelline paraît, quel que soit son état d'altération, demeurer perméable aux détergents utilisés, car ceux-ci exercent une action cytolytique très manifeste sur le cortex ovulaire; ce terme de *cortex* sera utilisé ici, car il ne préjuge ni de la nature, ni du degré de différenciation de la couche cellulaire superficielle correspondant à l'interface cytoplasma-milieu liquide extérieur.

Les détergents anioniques utilisés aux concentrations supérieures à 0.005% provoquent une altération corticale accompagnée par un gonflement de la masse cytoplasmique et l'apparition de hernies granuleuses; aux concentrations voisines de 0.01%, ces hernies peuvent devenir très importantes et très fragiles; leur rupture entraîne la dispersion de tout le matériel cytoplasmique.

Aux concentrations inférieures à 0.01%, l'effet cytolytique se traduit par la formation de lobes hyalins réfringents comparables aux "boules sarcodiques" si souvent décrites au cours de l'altération d'œufs et de Protozoaires et caractéristiques de la "cytolysse claire".

Enfin, lorsque la concentration des détergents anioniques est proche de sa valeur limite, l'altération corticale provoquée ne se manifeste plus guère que par une forte tendance à l'isolement des premiers blastomères, qui, après la division, restent sphériques au lieu de s'étaler secondairement l'un sur l'autre. Leur simple contact tangentiel n'est plus, dès lors, qu'un lien très fragile, aisément rompu soit par le gonflement de la membrane vitelline (Figs. 2 et 3), soit par la moindre agitation. La segmentation peut se poursuivre, dans ces conditions, aussi bien sous la membrane distendue que, après la disparition de celle-ci, dans le milieu liquide (Figs 3 et 5); elle peut être qualifiée de *non-cohérente* ou d'*arborescente*, car les divers blastomères ne gardent entre eux, après chaque division, qu'un seul point de contact tangentiel (Fig. 4). Au lieu de rester ramassées en une masse sphérique, les cellules de segmentation peuvent alors s'étaler dans un plan, en chaînes dont les ramifications dichotomiques retracent la "cell-lineage" (Fig. 5).

L'effet cortical des détergents se traduit d'autre part, lorsque l'action cytolytique proprement dite est faible ou nulle, par une forte tendance à l'isométrie des deux premiers blastomères (Fig. 2), contrastant avec la différence de taille accentuée qui, dans la segmentation normale, distingue à première vue les deux cellules AB et CD. Cet effet n'est aucunement spécifique; PENNERS<sup>3</sup>, <sup>4</sup>, TYLER<sup>5</sup>, PASTEELS<sup>6</sup>, l'ont obtenu avec les œufs de différents *Spiralia*, sous des influences très diverses; on peut le réliaser d'autre part en traitant les œufs de *Teredo* par un mélange d'eau de mer et d'une solution isotonique de KCl, ou bien en les soumettant quelques minutes au rayonnement ultra-violet d'une lampe à vapeur de mercure.

On sait que, selon PENNERS<sup>3</sup>, <sup>4</sup> et selon TYLER<sup>5</sup>, l'égaleisation de la première division

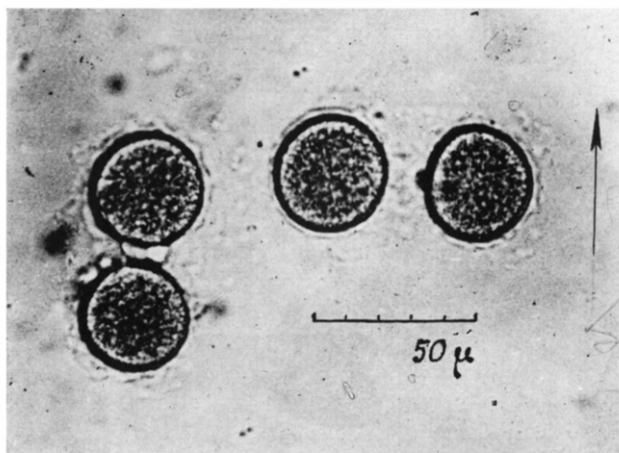


Fig. 2. Première division égale avec séparation complète des deux premiers blastomères. Duponol G

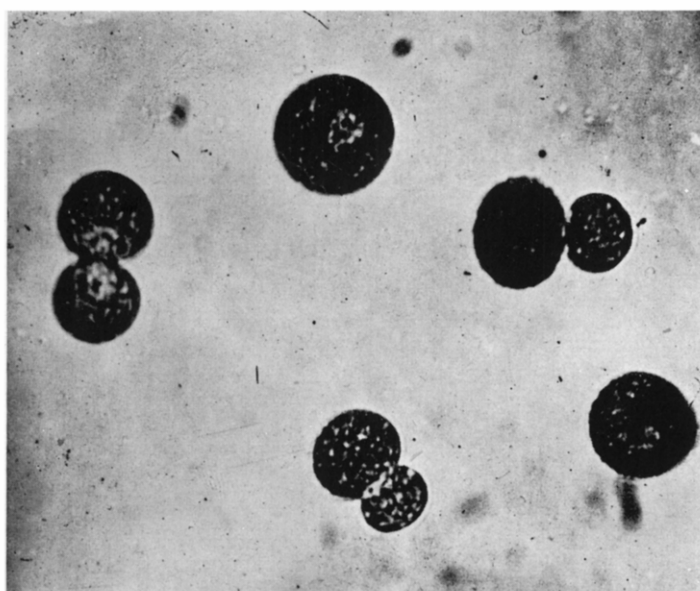


Fig. 3. Deuxième division égale ou inégale des blastomères CD isolés

est supposée correspondre à la formation de deux blastomères CD équivalents, ce qui conduit à la réalisation d'embryons doubles; en fait, chez *Teredo*, la seconde division est généralement anisométrique et correspondrait à la séparation de deux blastomères C et de deux blastomères D. Mais il peut arriver que la seconde division soit encore isométrique, chaque quadrant étant égal aux autres et correspondant encore à un blastomère CD.

L'action ménagée des détergents sur l'œuf de *Teredo* permet encore de mettre en évidence, au cours de la segmentation, un effet de sensibilité différentielle sur lequel

*Bibliographie p. 548.*



Fig. 4. Segmentation non-cohérente sous la membrane vitelline persistante mais dilatée. Igepon T

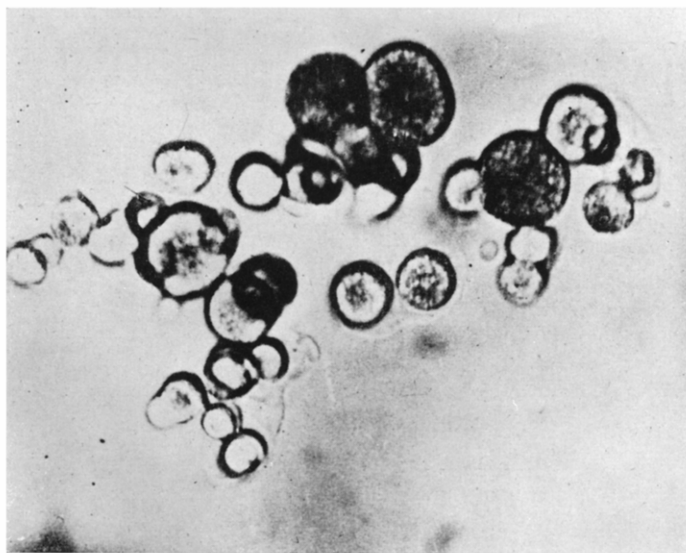


Fig. 5. Segmentation non-cohérente du type arborescent. Duponol ME

nous aurons à revenir. Lorsque cette action s'exerce au moment de la première division ou peu après, on peut obtenir, dans une marge assez étroitement limitée de concentration du corps actif, la cytolysse du gros blastomère CD, alors que AB reste apparemment intact et donne, par sa segmentation ultérieure, une petite morula, puis une petite larve

*Bibliographie p. 548.*

ciliée. Le venin d'Abeille à certaines concentrations, provoque le même phénomène, plus nettement encore, peut-être.

En d'autres cas, la sensibilité différencielle se manifeste seulement par le fait que le blastomère CD reste indivis, bien que son noyau se soit multiplié, tandis que AB se segmente et forme une petite masse blastulécenne.

La possibilité d'égaliser la première division de l'œuf de Taret; celle de séparer, d'isoler les premiers blastomères; ou encore d'éliminer ou de bloquer le développement ultérieur de l'un d'entre eux, montrent que les détergents anioniques peuvent être utilisés en technique d'embryologie expérimentale, avec certains œufs tout au moins. Ceci suppose l'emploi de ces corps sous des conditions assez strictement définies pour que soient évitées les cytolyse tardives possibles, et pour que la non-cohérence des cellules reste limitée aux premiers stades de la segmentation et puisse être corrigée ultérieurement. Nombre de faits observés, sur lesquels nous ne saurions insister ici, montrent qu'un tel programme est réalisable.

On remarquera encore qu'après disparition de la membrane vitelline, les blastomères, ou les amas de blastomères provenant de différents œufs, tendent à s'agglutiner, même s'ils ne gardent entre eux que les contacts tangentiels caractéristiques de la segmentation non-cohérente. On obtient ainsi des ensembles plus ou moins volumineux et irréguliers, capables de se condenser ultérieurement et de former des larves monstrueuses multiples comparables à celles réalisées déjà par quelques auteurs, HATT<sup>7</sup>, par exemple, avec des œufs de *Sabellaria* temporairement alcalinisés.

#### V. CONDITIONS D'ACTIVITÉ POUR UN DÉTERGENT CATIONIQUE

Un détergent cationique tel que la Sapamine est, nous l'avons dit, pratiquement sans effet, sur l'œuf de *Teredo*, lorsqu'il est dissous dans l'eau de mer normale, c'est-à-dire dans une solution saline tamponnée, de  $p_H$  8.2; considérant ce fait, nous avons modifié les conditions de nos essais de manière à faire agir la Sapamine en solutions dont le  $p_H$  soit déplacé vers la neutralité, puis du côté acide.

A cet effet, différents mélanges d'eau de mer normale et d'eau de mer acidifiée par HCl sont utilisés; comme dans les précédents essais, le volume liquide total est toujours, après l'addition des œufs, de 5 ml; la Sapamine est au taux constant de 0.01%; seule la valeur de  $p_H$ , vérifiée colorimétriquement, est différente dans chacun des récipients utilisés.

L'effet propre exercé sur les œufs de *Teredo* par la concentration en ions H de l'eau de mer étant examinée au cours d'expériences témoins, il apparaît que la segmentation s'effectue normalement, jusqu'aux stades larvaires, entre  $p_H$  8.2 et  $p_H$  5.5 l'acidification provoquant, tout au plus, quelques variations de vitesse qui n'ont pas été précisées. Au-dessous de  $p_H$  5.5, par contre, la segmentation est considérablement ralentie ou bloquée, en même temps que les œufs montrent quelques altérations du type "cytolyse noire".

En présence de Sapamine à 0.01%, la segmentation s'effectue normalement entre  $p_H$  8.2 et  $p_H$  7.0; vers  $p_H$  6.8 on observe déjà, cependant, quelques cas de cytolyse claire. Puis, à  $p_H$  6.2 environ, la première division manifeste une forte tendance à l'égalisation (Fig. 6), tandis que de nombreux aspects cytolytiques, caractérisés par la formation de lobes hyalins, apparaissent au cours des divisions suivantes.

Près de  $p_H$  5.8 l'effet maximum est obtenu; la membrane vitelline se gonfle, se distend, se rompt; les cytolyse claires sont très nombreuses et peuvent aller jusqu'à la destruction de l'œuf. Mais les œufs les moins sévèrement atteints subissent, sous leur membrane distendue, une segmentation non cohérente (Figs 6 et 7), étroitement comparable à celle que provoquent, dans l'eau de mer normale à  $p_H$  8.2, les détergents anioniques. Au-dessous de  $p_H$  5.8 on trouve bientôt la zone d'action propre de l'acidité et les essais avec les détergents ne seraient plus valables.

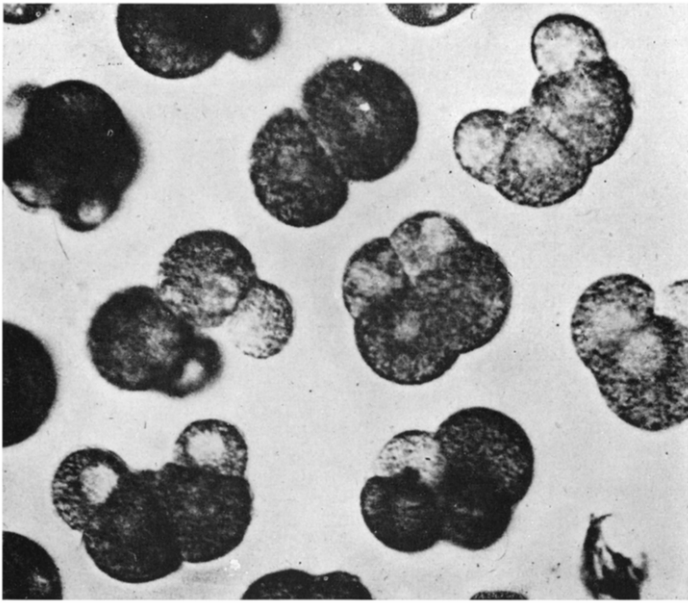


Fig. 6. Stade IV; première division égale ou sub-égale donnant 2 blastomères CD; deuxième division inégale donnant 2 gros blastomères D et 2 petits C, cohérents ou non-cohérents. Sapamine A à pH 6.6

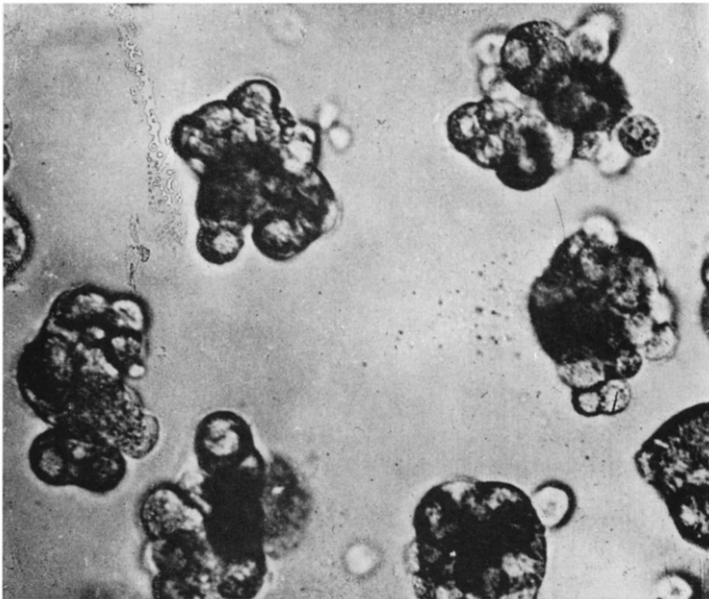


Fig. 7. Segmentation non-cohérente. Sapamine A à pH 6. Comparer avec Fig. 5

Inversement, la même série d'essais réalisés cette fois avec le Duponol ME, montre que l'effet de ce détergent anionique sur l'œuf de Taret est nettement diminué, mais non complètement supprimé, du côté acide, aux environs et immédiatement au-dessous de pH 6.4.

*Bibliographie p. 548.*



Il apparait ainsi que la différence d'action qui distingue si nettement les détergents anioniques et la Sapamine est liée, au moins pour une très large part, à la réaction alcaline ou acide de la solution qui baigne les œufs.

#### VI. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les différents composés appartenant à la catégorie des "détergents" se trouvent apparentés les uns aux autres par une certaine configuration de leur molécule, qui comporte une moitié organique, de caractère non-polaire et hydrophobe, l'autre moitié étant inorganique, de caractère polaire et hydrophile.

NEUBERG<sup>8</sup> a, voici longtemps, attiré l'attention sur le pouvoir émulsifiant et solubilisant de telles molécules à l'égard de substances insolubles ou très peu solubles dans l'eau (voir HÖBER<sup>9</sup>). Considérons l'interface d'une phase organique liquide à molécules non-polaires hydrophobes et d'une phase aqueuse telle qu'une solution d'un détergent ionique, l'affinité d'adsorption des groupes non-polaires provoquera la fixation du groupe organique hydrophobe des molécules du détergent sur le groupe similaire des molécules de la phase organique insoluble; par contre, l'affinité pour l'eau du groupe inorganique polaire des molécules du détergent maintiendra ce groupe dans la phase aqueuse où il aura tendance à diffuser; sa mobilité se transmettra par l'intermédiaire de la chaîne grasse, longue et souple, qui unit les deux groupes, jusqu'au point de fixation sur la surface organique hydrophobe provoquant la dislocation et la dispersion de celle-ci dans la phase aqueuse.

Mais les détergents de structure polaire-non polaire réagissent avec les protéines de manières diverses, et les recherches de KUHN ET BIELIG<sup>10</sup>, de PUTNAM ET NEURATH<sup>11</sup>, de LUNDGREN<sup>12, 13</sup> etc., suggèrent que les liaisons sont alors de nature électrostatique; que des combinaisons apparemment stoechiométriques s'effectuent par le moyen des groupes polaires; qu'elles réalisent ainsi certains complexes mis en évidence par électrophorèse (voir VALKO ET <sup>14</sup> PUTNAM<sup>2</sup>).

On sait que, suivant la concentration utilisée, les détergents peuvent: a) précipiter ou b) disperser les protéines.

a) La précipitation est due à la neutralisation des charges; on constate, par exemple, qu'un détergent anionique précipite une protéine cationique, c'est-à-dire en solution à un  $p_H$  inférieur à son point isoélectrique et *vice versa*. Dans ce cas, les groupes polaires de signe opposé sont en contact et les chaînes organiques des molécules du détergent forment autour de la protéine une enveloppe hydrophobe dont la stabilité est assurée par l'affinité d'adsorption des groupes non polaires tournés vers la phase aqueuse.

b) La dispersion peut se produire ultérieurement si d'autres molécules du détergent peuvent former une seconde couche dont les groupes polaires ionisés sont tournés cette fois vers la phase aqueuse, le contact avec la première couche étant assuré par les groupes organiques non-polaires. On retrouve alors, mais sous une forme plus compliquée, la condition envisagée par NEUBERG et par HÖBER.

Les deux schémas différents et complémentaires résumés ci-dessus doivent être pris en considération à propos de l'action des détergents sur l'œuf de *Teredo*; comme en ce qui concerne leurs effets sur les Bactéries (voir PUTNAM<sup>2</sup>).

On remarquera d'abord, avec PUTNAM<sup>2</sup>, que les détergents ioniques se comportent, aux concentrations voisines de 1/3000 et au-dessous, comme des électrolytes forts, de sorte que les variations de  $p_H$  affectent l'ionisation de la surface cellulaire et non point celle du détergent.

On constatera ensuite que l'on sait très peu de chose en ce qui concerne les constituants du cortex cytoplasmique des œufs de *Spiralia* en général, mais que le signe et la valeur de leur charge superficielle globale peuvent être connus par électrophorèse. Ce dernier point n'a pas été examiné en ce qui concerne l'œuf du Taret, mais les données obtenues pour d'autres œufs peuvent être invoquées à son égard.

On sait en effet que, suspendues en milieu aqueux neutre ou alcalin, la plupart des cellules vivantes accusent, par électrophorèse, une charge superficielle négative (voir, par exemple: WINSLOW, FALK ET CAULFIELD<sup>15</sup>; FAURÉ-FREMIET ET NICHITA<sup>16</sup>; PFEIFFER<sup>17</sup>; ABRAMSON<sup>18</sup>; HÖBER<sup>9</sup>, etc). Lorsque la concentration en ions  $H^+$  augmente dans le milieu liquide, cette charge négative décroît, s'annule, puis devient positive; le point d'inversion correspond souvent à un  $p_H$  trop acide pour rester compatible avec un état normal de la cellule vivante, mais il peut être déplacé vers la neutralité, voire même du côté alcalin, en présence des cations bivalents  $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$ , ou trivalents:  $La^{+++}$ , par exemple.

En ce qui concerne les œufs d'Animaux marins, KATSUMA DAN<sup>19, 20, 21, 22</sup> a retrouvé les mêmes caractéristiques générales chez ceux de divers Echinodermes, Annélides et Mollusques, ce qui autorise à interpréter le comportement des œufs de *Teredo norvegica* en supposant qu'ils ne font pas exception à la règle, et possèdent dans l'eau de mer à  $p_H$  8.2 une charge superficielle négative. Nous ne discuterons pas l'origine de cette charge, qui peut être liée soit à l'existence de groupements ionisés négatifs (zwitterions protéiques, par exemple) soit aux propriétés de l'eau et à l'orientation de ses dipôles (comme dans le cas de particules neutres, gouttes de carbures ou bulles d'air, p. ex.).

Nous admettons dès lors, en première approximation, que la charge superficielle négative de l'œuf repousse les groupes polaires de même signe portés par les molécules de détergents anioniques, et que, de ce fait, les chances d'union entre les groupes non-polaires appartenant aux molécules du détergent et à certains constituants de la surface protoplasmique se trouvent augmentées; l'œuf est donc entouré par une couche de molécules dont les groupes hydrophiles, en contact avec le liquide extérieur, exercent leur action solubilisante conformément au schéma proposé par NEUBERG et par HÖBER. Cette action se traduit par l'altération du cortex ovulaire et par la cytolyse.

Inversement, cette même charge négative de l'œuf attire les groupes polaires de signe opposé portés par les molécules des détergents cationiques; celles-ci s'orientent avec le groupe hydrophobe non-polaire à l'extérieur et constituent ainsi autour de l'œuf une couche protectrice.

Si cette hypothèse est valable, une diminution et une inversion de la charge superficielle de l'œuf devra progressivement diminuer les chances d'un tel mode d'association entre les molécules du détergent et celles du cortex ovulaire, puis renverser le sens de cette association. C'est précisément ce que l'on observe avec l'œuf de *Teredo*, entre  $p_H$  6.8 et  $p_H$  5.5, au-delà duquel l'effet propre de l'acidité interdit de poursuivre les essais.

L'œuf de *Teredo norvegica* apparaissant, répétons-le, comme un matériel particulièrement sensible à l'action des détergents synthétiques, il est utile de confronter les indications qu'il apporte avec celles fournies par d'autres cellules vivantes. Il apparaît, et il est nécessaire d'insister sur ce point, que l'effet apparent des mêmes catégories de détergents peut varier dans une large mesure, suivant que ces corps agissent sur telle sorte de cellule ou sur telle autre.

MONNÉ<sup>23</sup>, comme BAUD<sup>24</sup>, obtiennent en milieu salin neutre, avec des détergents anioniques agissant aux concentrations de 1.0 à 0.50% sur des cellules de Mollusques

et de Mammifères, un effet dispersif conduisant à la cytolyse totale. Ce résultat est identique à celui obtenu avec l'œuf de Taret, et s'accorde avec la notion que les molécules actives se fixent sur le cortex cellulaire (chargé négativement) par le jeu d'affinités de cohésion entre groupes non-polaires.

Par contre, les détergents cationiques utilisés dans les mêmes conditions provoquent sur les mêmes cellules des effets particuliers de précipitation, que l'on peut rapporter à des constituants protéiques corticaux, et qui, rappelons-le, n'apparaissent pas avec l'œuf de Taret. Si donc on est en droit d'admettre ici l'interaction des groupes polaires, on doit remarquer que les conséquences de la fixation électrostatique d'une couche de molécules de détergent sur le cortex de la cellule peuvent différer considérablement d'un cas à un autre.

Chez les Bactéries, il semble que les effets typiquement lytiques soient, lorsqu'ils apparaissent, de nature secondaire; et que l'action immédiate des détergents se manifeste d'une toute autre manière par un effet bactériostatique, lié au blocage des oxydo-réductions. Il en est ainsi pour toutes les Bactéries, avec les détergents cationiques en milieu alcalin; et pour les Bactéries Gram-négatives, avec les détergents anioniques en milieu acide. Dans l'un et l'autre cas la liaison électrostatique des molécules actives et du cortex cellulaire est au moins probable. Avec les Bactéries Gram-positives, cependant, le même effet bactériostatique est provoqué par les détergents anioniques en milieu neutre ou alcalin, c'est-à-dire dans les conditions qui provoquent la lyse de diverses cellules animales et de l'œuf de Taret, et pour lesquelles on peut admettre

la fixation des molécules actives par affinité d'adsorption des groupes non-polaires.

On voit ainsi, par cette diversité d'effet, que les détergents ou, d'une manière générale, les corps à structure polaire — non-polaire, peuvent fournir à la cytologie expérimentale et à l'étude du cortex cellulaire, un précieux moyen d'analyse, si, toutefois, quelques informations complémentaires peuvent être parallèlement demandées à d'autres moyens, comme MONNÉ<sup>23</sup> et comme BAUD<sup>24</sup> ont commencé de le faire.

#### VII. NATURE DU CORTX OVULAIRE

FAURÉ-FREMIET ET MUGARD<sup>25</sup> montrent que le cortex de l'œuf de Taret présente, dans certaines conditions techniques, une affinité remarquable pour l'Argent; et que cette affinité s'atténue ou disparaît après action de KCl, et, mieux encore, des détergents anioniques

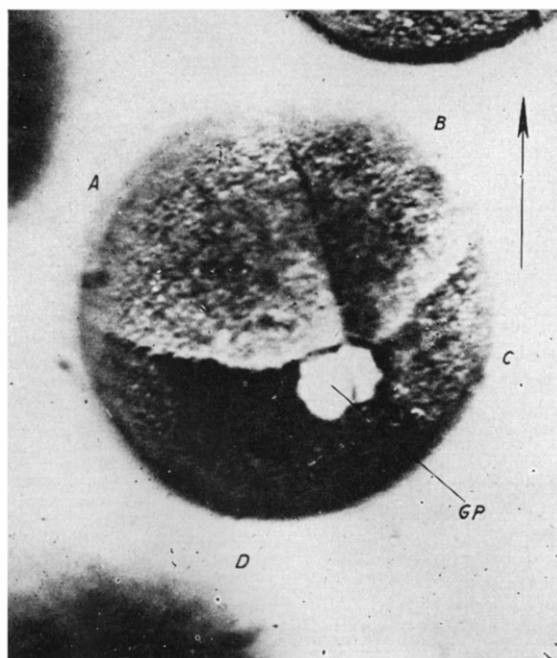


Fig. 8. Œuf de *Teredo norvegica* normal imprégné à l'argent; Stade IV vu par le pôle animal; GP.: trace de deux globules polaires; le blastomère D est fortement coloré, le blastomère C est moins décoloré que A et B (E. FAURÉ-FREMIET ET H. MUGARD).

utilisés aux mêmes concentrations qui modifient et altèrent le processus normal de la segmentation.

L'argyrophilie de l'œuf de *Teredo* paraît être liée à la présence d'un matériel cortical labile, et certains résultats laissent penser que celui-ci pourrait être de nature lipoprotéique, bien que cette hypothèse reste à démontrer. Quoiqu'il en soit, on doit constater un certain parallélisme entre l'effet des détergents et la présence de ce matériel.

En effet, FAURÉ-FREMIET ET MUGARD montrent encore que l'argyrophilie corticale se restreint progressivement, au cours de la segmentation inégale de l'œuf de Taret, à la surface des gros blastomères CD, puis D, et (Figs 8 et 9) ultérieurement, à quelques-uns de leurs dérivés, ce qui doit être rapproché de quelques constatations exposées ici, à savoir :

1. que l'un des effets caractéristiques des détergents anioniques, qui diminuent ou suppriment l'argyrophilie, est d'égaliser la première division de l'œuf, c'est-à-dire d'empêcher la différenciation des deux blastomères AB et CD;
2. que les blastomères les plus sensibles à l'effet de ces détergents sont précisément ceux sur lesquels se localise le matériel argyrophile, soit CD, puis D;
3. que l'œuf de *Sabellaria*, sensiblement moins argyrophile que celui de *Teredo*, est notablement moins sensible que celui-ci à l'action de ces mêmes corps.

Ces remarques suggèrent qu'il peut exister une relation directe entre la sensibilité de l'œuf de *Teredo* aux détergents anioniques (et à d'autres corps lysants tels que le venin d'Abeille) et la présence du matériel cortical argyrophile.

#### RÉSUMÉ

Divers détergents anioniques en solution dans l'eau de mer à pH 8.2 provoquent la cytolysse de l'œuf de *Teredo norvegica*, tandis que des détergents neutres ou cationiques sont sans effet à la concentration de 0.1 %.

La neutralisation et l'acidification de l'eau de mer inversent l'action de ces corps; au-dessous de pH 6.8 par exemple, un détergent cationique tel que la Sapamine agit comme un détergent anionique en milieu alcalin.

Il est supposé que l'effet lytique se produit lorsque les molécules du corps actif sont fixées sur le cortex ovulaire par affinité entre groupes non-polaires, leur groupe ionisé restant au contact de l'eau environnante; et que cette condition est remplie lorsque la charge de surface de l'œuf est de même signe que le groupe polaire de la molécule du détergent et repousse celui-ci.

La comparaison avec les résultats obtenus par divers auteurs est en accord avec cette interprétation, compte tenu du fait que la liaison des détergents avec le cytoplasme cortical peut avoir, suivant la cellule considérée, des conséquences différentes.

La sensibilité de l'œuf de *Teredo* aux détergents paraît être liée à la présence, chez cet œuf, d'un constituant cortical de nature probablement lipo-protéique.

*Bibliographie p. 548.*

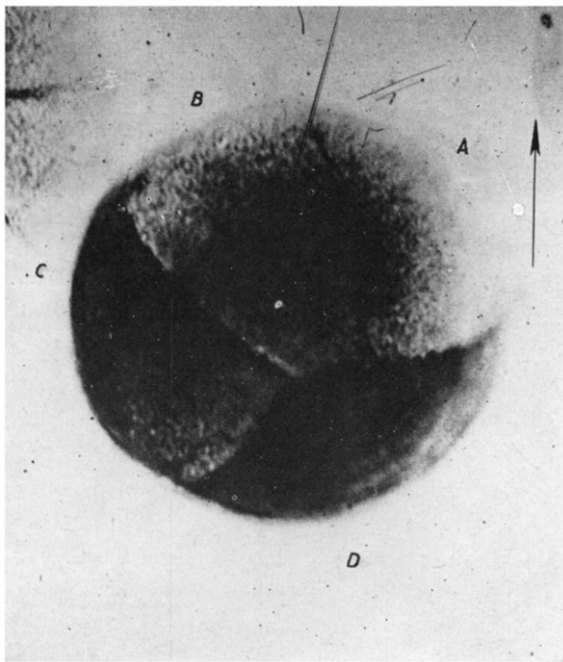


Fig. 9. Œuf de *Teredo norvegica* normal imprégné à l'argent; Stade IV vu par le pôle végétatif; mêmes remarques que pour Fig. 8 (E. FAURÉ-FREMIET ET H. MUGARD)

## SUMMARY

Several anionic detergents when dissolved in sea water at pH 8.2 cause cytolysis of the egg of *Teredo norvegica*, while neutral or cationic detergents have no effect at a concentration of 0.1 %.

Neutralization and acidification of the sea water reverse the action of these substances. For example, below pH 6.8 a cationic detergent such as Sapamine acts like an anionic one in an alkaline medium.

It is supposed that lysis occurs when the molecules of the active substance are attached to the ovular cortex by affinity between non-polar groups, its ionized groups remaining in contact with the surrounding water. This condition is fulfilled when the surface charge of the egg has the same sign as that of the polar group of the detergent molecule therefore repulsing it.

The comparison of the results obtained by different authors is in agreement with this interpretation, taking into account that the bond between the detergents and the cytoplasm of the cortex may have different results, according to the cell used.

The sensitivity of the egg of *Teredo* to detergents seems to be related to the presence, in that egg, of a cortical constituent, probably a lipo-protein.

## ZUSAMMENFASSUNG

Verschiedene anionische Netzmittel bewirken, in Meerwasser bei pH 8.2 gelöst, die Zytolyse des Eis von *Teredo norvegica*, während neutrale oder kationische Netzmittel bei einer Konzentration von 0.1 % wirkungslos sind. Durch Neutralisieren oder Ansäuern des Meerwassers wird diese Wirkung umgekehrt, indem zum Beispiel unter pH 6.8 ein kationisches Netzmittel wie Sapamin wie ein anionisches in alkalischem Medium wirkt.

Es wird angenommen, dass die auflösende Wirkung erfolgt wenn die Molekeln des aktiven Stoffes an den Cortex des Eis durch die Affinität zwischen nicht-polaren Gruppen gebunden sind, während seine ionisierten Gruppen in Kontakt mit dem umgebenden Wasser bleiben. Dies ist der Fall wenn die Oberflächenladung des Eis dasselbe Vorzeichen hat wie die polare Gruppe der Netzmittelmolekel und diese daher abstößt.

Ein Vergleich der Versuchsergebnisse verschiedener Forscher stimmt mit dieser Auslegung überein, wenn man in Betracht zieht, dass die Bindung zwischen dem Netzmittel und dem Protoplasma der Cortex, je nach Zelle, verschiedene Folgen haben kann.

Die Empfindlichkeit des Eis von *Teredo* gegen Netzmittel scheint mit einem Bestandteil des Cortex, wahrscheinlich einem Lipo-proteid zusammenzuhängen.

## BIBLIOGRAPHIE

- <sup>1</sup> R. J. DUBOS, *The Bacterial Cell*, Harvard Univ. Press., 1946.
- <sup>2</sup> F. W. PUTNAM, *Advances in Protein Chem.*, 4 (1948) 79.
- <sup>3</sup> A. PENNERS, *Verhandl. deut. zool. Ges.*, 27 (1922) 46.
- <sup>4</sup> A. PENNERS, *Zool. Jahrb. allg. Zool.*, 41 (1924) 91.
- <sup>5</sup> A. TYLER, *J. Exptl. Zool.*, 57 (1930) 347-406.
- <sup>6</sup> J. PASTEELS, *Arch. biol.*, 42 (1931) 389-413.
- <sup>7</sup> P. HATT, *Arch. biol.*, 42 (1931) 302.
- <sup>8</sup> C. NEUBERG, *Biochem. Z.*, 76 (1916) 107.
- <sup>9</sup> R. HÖBER, *Physical Chemistry of Cell and Tissue*, Churchill Ltd., London 1946.
- <sup>10</sup> R. KÜHN ET H. J. BIELIG, *Ber.*, 73B (1949) 1080.
- <sup>11</sup> F. W. PUTNAM ET H. J. NEURATH, *J. Am. Chem. Soc.*, 66 (1944) 1992 et *J. Biol. Chem.*, 159 (1944) 195.
- <sup>12</sup> H. L. LUNDGREN, W. ELAM ET R. A. O'CONNEL, *J. Biol. Chem.*, 149 (1943) 183.
- <sup>13</sup> H. P. LUNDGREN, *Textile Research. J.*, 15 (1945) 335.
- <sup>14</sup> E. I. VALKO, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 46 (1946) 451.
- <sup>15</sup> C. E. A. WINSLOW, L. S. FALK ET M. F. CAULFIELD, *J. Gen. Physiol.*, 6 (1933) 177.
- <sup>16</sup> E. FAURÉ-FREMIET ET G. NICHITA, *Ann. physiol. et physicochim. biol.*, 2 (1927) 247-397.
- <sup>17</sup> H. PFEIFFER, *Biol. Revs.*, 4 (1929) 1-40.
- <sup>18</sup> H. A. ABRAMSON, *Electrokinetic Phenomena*, Chem. Catal., N.Y. 1934.
- <sup>19</sup> KATSUMA DAN, *Biol. Bull.*, 66 (1933) 247-256.
- <sup>20</sup> KATSUMA DAN, *J. Cellular Comp. Physiol.*, 3 (1934) 177.
- <sup>21</sup> KATSUMA DAN, *Physiol. Zool.*, 9 (1936) 43.
- <sup>22</sup> KATSUMA DAN, *Physiol. Zool.*, 9 (1936) 38.
- <sup>23</sup> L. MONNÉ, *Arkiv. Zool.*, 38 A, 16 (1946) 1-12.
- <sup>24</sup> CH. A. BAUD, *Compt. rend. soc. biol.*, 142 (1948) 181-182.
- <sup>25</sup> E. FAURÉ-FREMIET ET H. MUGARD, *Compt. rend. acad. sci.* (1948) (sous presse).

Reçu le 15 décembre 1948