

Sur les interactions entre l'axe embryonnaire normal et les formations secondaires produites par la centrifugation de la blastula et de la gastrula chez les Amphibiens

Nous avons vu dans une note précédente comment la centrifugation de la blastula ou de la jeune gastrula peut provoquer au sein de l'ectoblaste une augmentation du potentiel morphogénétique se traduisant par la formation d'organes divers.

A) Cette organogénèse très atypique est influencée par le champ morphogénétique normal de l'embryon.

1° Par exemple, dans nos expériences faites sur la jeune gastrula du Xénope, les différenciations au sein de l'ectoblaste isolé immédiatement après centrifugation, se sont révélées moins riches que dans l'embryon centrifugé et laissé entier de la même série.

En suivant de près sur le vivant, l'évolution de ces œufs entiers de Xénope, on peut d'ailleurs observer les étapes d'une « mise à l'unisson » du système primaire et secondaire. Le « gâteau » ectoblastique provenant de l'effondrement du blastocœle se traduit à la surface de la neurula de cette espèce sous forme d'un mamelon hyperpigmenté. Partant de ce mamelon, situé le plus souvent sur la zone ventrale de l'embryon, on voit bientôt s'esquisser une sorte de plaque médullaire dont les bourrelets s'infléchissent vers la tête normale. Il en résultera un cerveau commun et les formations secondaires ventrales, tout atypiques qu'elles soient, s'étireront en un axe parallèle à l'axe primaire.

De telles adaptations de la polarité d'un embryon secondaire à celle de l'hôte sont bien connues dans les expériences de greffes d'organisateur. Toutefois, dans le cas actuel, il s'opère de plus une véritable *contagion* sous les influences conjuguées des deux ébauches des territoires situés entre elles.

Aussi les organes secondaires présentent-ils par rapport à l'embryon primaire des caractères d'orthotopie assez prononcés, du moins en ce qui concerne certains organes. Le cerveau secondaire est toujours céphalique, se confondant partiellement avec celui de l'hôte; les tubes pronéphritiques apparaissent toujours et strictement au même niveau que le pronéphros de l'hôte. Cette dépendance est toutefois limitée aux organes sus-nommés, car, après centrifugation de la jeune gastrula de la Grenouille, des otocystes, des ganglions, du mésenchyme, peuvent se manifester dans toute partie du corps; et des formations troncales, chorde et somites peuvent apparaître en des points aussi incongrus que l'extrémité antérieure de la tête.

2° Cette dépendance de l'axe primaire est beaucoup plus nette dans les cas (blastula de *Rana fusca*, jeune gastrula de l'Axolotl) où l'action de la centrifugation paraît faible. Alors, en effet, les organes supplémentaires (vésicules cérébrales, otocystes, nodules de chorde) n'apparaissent qu'en connexion étroite avec le névraxe primaire: les otocystes sont toujours en position orthotopique, c'est-à-dire à proximité immédiate de l'otocyste primaire; les vésicules cérébrales supplémentaires sont toujours dépendantes du cerveau de l'hôte; les noyaux chordeaux ne se trouvent qu'au sein du névraxe, ou parfois des glandes adhésives primaires.

Il était donc légitime de supposer que dans ces cas, le jeu du centre organisateur normal est indispensable à l'élévation du potentiel morphogénétique de l'ectoblaste centrifugé.

Des expériences réalisées chez l'Axolotl, quoiqu'en core en nombre limité, montrent le bien fondé de cette hypothèse.

Un lot de jeunes gastrulas a été centrifugé. Les œufs ont été répartis en quatre séries. Dans la première (une vingtaine d'œufs) les embryons ont été laissés intacts: ils ont donné, uniquement dans le territoire cérébral, des vésicules cérébrales supplémentaires et quelquefois des nodules de chorde. Dans la seconde (6 œufs), l'ectoblaste a été isolé immédiatement et mis en culture dans la solution de Holtfreter: aucune différenciation n'y a été obtenue. Dans la troisième série (7 œufs) l'ectoblaste de l'œuf centrifugé, après avoir été coloré au bleu de Nil, a été greffé dans le territoire ventral de gastrulas normales: les embryons se sont développés normalement sans aucune formation secondaire. Enfin, dans la quatrième série (7 cas), la même expérience a été reproduite, mais en greffant l'ectoblaste centrifugé dans le territoire cérébral présomptif de l'hôte. Dans ces 7 embryons, le résultat est concordant: sur le vivant on remarquait déjà de fortes saillies anormales, parfois même de véritables cornes ressemblant à une induction secondaire, et cela dans le territoire nerveux correspondant à la greffe (reconnaissable à la coloration au bleu de Nil). Sur coupes, on constatait une hyperinduction manifeste, se traduisant soit par un doublement partiel du névraxe (au-dessus d'un substrat chordo-mésoblastique normal), ou bien encore par un enchevêtrement anarchique de vésicules et de tubes nerveux prolongeant le cerveau vers l'avant.

Dans aucune de ces greffes, je n'ai pu déceler de nodule chordal anormal; sur ce point je dois donc me tenir sur la réserve en attendant des résultats ultérieurs.

Malgré le nombre encore réduit d'expériences, leur concordance me permet dès à présent la conclusion suivante: dans ces centrifugations de la jeune gastrula d'Axolotl, il s'est produit dans l'ectoblaste une *augmentation de potentiel morphogénétique subliminale*, incapable de réaliser par elle-même des organes nouveaux, mais *sensibilisant* l'ectoblaste au point que, *soumis à un organisateur normal, cet ectoblaste subit une hyperinduction*.

Ce sont là des notions dont le caractère inédit me paraît devoir être souligné.

B) Mais si comme nous venons de le voir, la présence de l'axe normal agit sur la morphologie des formations secondaires, la réciproque est aussi vraie. Signalons notamment le cas où chez *Rana fusca*, une formation secondaire (névraxe et chorde) a induit à partir de l'ectoblaste pharyngien un pharynx secondaire. En l'absence de greffes toutefois, cette influence se laisse plutôt deviner que prouver, car il est souvent difficile de faire le départ exact de ce qui revient aux deux systèmes.

L'expérience décisive a été réalisée chez le Pleurodèle. Après centrifugation de la jeune gastrula, l'ectoblaste a été isolé et greffé après coloration au bleu de Nil, dans la zone ventrale d'un hôte normal du même stade. La greffe était large et débordait sur les flancs de l'hôte. Au contact du pronéphros gauche, s'est développé dans le greffon une formation secondaire comprenant une vésicule cérébrale, du mésenchyme, et quelques cellules chordales isolées, restées enclavées dans l'ectoblaste. Or, en regard de cette greffe, siège d'une augmentation de potentiel morphogénétique, les somites antérieurs gauches de l'hôte se sont transformés en chorde, fusionnée d'ailleurs avec la chorde normale.

Ce cas, qui répète, avec toutes les garanties nécessaires, des observations faites préalablement sur l'œuf

centrifugé entier, démontre nettement une *contagion métabolique* du greffon vers l'hôte.

Ce résultat est décisif: la *thèse des substances inductrices spécifiques doit être abandonnée*. Comme DALCQ et PASTEELS¹ (1937) l'avaient prévu, et comme le suggéraient déjà des travaux antérieurs (YAMADA², RAVEN et KLOOS³), *ce sont les facteurs quantitatifs, au sein d'un même métabolisme (vraisemblablement protéique d'après les travaux de J. BRACHET⁴) qui vont déclencher les influences spécifiques d'un réacteur, très vraisemblablement les gènes*.

J. PASTEELS

Laboratoire d'embryologie, Faculté de médecine de l'Université de Bruxelles, le 30 novembre 1946.

Summary

The complexes of organs induced by centrifugation of *Amphibia* blastulas or gastrulas interfere with the primary axis of the embryo: (a) explantates of centrifugated ectoblast are always poorer in differentiation than the same ectoblast left *in situ*; (b) the complexes arising in the ventral part of the embryo have the tendency to elongate parallel to the main axis of the embryo and become connected with the head of the primary embryo; (c) grafts made on *Axolotl* eggs show that, when the reaction is poor, it cannot express itself except in cases of close contact with the normal organizer; (d) reciprocally, implants of strongly reacting centrifugated ectoblast placed on the ventral part of a normal gastrula of *Pleurodeles* induce modifications of the primary organs, viz. the transformation of the first somites into chorda.

These facts lead to the conclusion that quantitative factors—and not qualitative—are effective in the differentiation of the embryo.

¹ A. DALCQ et J. PASTEELS, Arch. de Biol. 48, 669-710 (1937).

² T. YAMADA, Okaj. Fol. Anat. Jap. 18, 567-572 (1939).

³ CHR. P. RAVEN et J. KLOOS, Acta Neerl. morphol. 5, 348-362 (1945).

⁴ J. BRACHET, Embryologie chimique, Liège et Paris 1944.

Sulla struttura dei cromosomi di *Ascaris megalocephala* Cl. con particolare riguardo all'attacco al fuso

È noto che *Ascaris megalocephala* è il più citato esempio di specie fornita di cromosomi germinali policentrici, come affermano SCHRADER¹ (1935) e WHITE² (1936). Gli argomenti addotti per sostenere questo punto di vista sono i seguenti: 1.° il gran numero dei cromosomi delle cellule somatiche (40-60) in confronto dei 2 o 4 germinali (WALTON³, 1924); 2.° la capacità dei frammenti staccati mediante trattamento con raggi X di portarsi ai poli del fuso, come dotati di attacchi propri (WHITE, 1936); 3.° l'aspetto quasi a tre segmenti dei cromosomi goniali durante l'anafase, dove sembra che il segmento intermedio sia dotato di molti centromeri.

Poiché manca da molti anni una revisione dei fenomeni cromosomici di tutta la spermatogenesi di questo Nematode, ho creduto utile studiarla sistematicamente con lo scopo precipuo di portare qualche nuovo elemento pro o contro la tesi suesposta.

¹ F. SCHRADER, Cytologia 6, 422 (1925).

² M. J. D. WHITE, Nature 137, 783 (1936).

³ A. C. WALTON, Z. Zell. Gewebel. 1, 167 (1924).

A tale scopo ho preparato collo schiacciamento il contenuto di segmenti di testicoli di maschi (circa 10 individui raccolti nel Macello di Milano), adottando in parte il trattamento con carminio acetico, ma soprattutto la fissazione in acido acetico al 50% colorando con ematossilina ferrica. I preparati permanenti furono montati in euparal.

I risultati ottenuti possono essere riassunti nel modo seguente:

1.° Durante la profase delle divisioni goniali i 4 cromosomi (trattandosi della forma *bivalens*) risultano formati di parti allineate, assai maggiori dei comuni cromosomi. Si ha l'impressione dunque che i cromosomi siano composti di parti elementari.

2.° Durante la metafase — con spiralizzazione evidente — i cromosomi non presentano né strozzature né variazioni costanti di spessore. Non si vede dove siano i centromeri.

3.° Durante l'anafase non compare la forma trisegmentata raffigurata da WHITE (1936), ma i cromosomi hanno aspetto di U, quasi di V. Peraltro questo stadio non è molto chiaramente a vantaggio dell'ipotesi dei molti centromeri.

4.° Dopo l'appaiamento (che decorre normalmente) si scorgono chiasmi che si terminalizzano. Alla fine, ogni gemino ne possiede due terminali. L'osservazione dei chiasmi non è facile, ma la loro presenza, anche quando sono lontano dalle estremità, è certa.

5.° Durante la prima e la seconda mitosi, come durante l'interfase, i cromatidi si mantengono vicini ma senza contatto, e non si vede pertanto alcun punto corrispondente a centromeri (fig. 1).

6.° In circa 20 cellule di un individuo fu notato un ponte con frammento, come da chiasma in inversione. Il frammento fu spesso notato a un polo (anche in forma di piccolo V), come se non fosse acentrico, come di norma, ma dotato di autonomia cinetica (fig. 2).



Fig. 1. Anafase di 1.^a divisione normale. Ingrandimento 500 volte.



Fig. 2. Anafase di 1.^a divisione maturativa. A sinistra la tetrade con il ponte. A destra il frammento a V rovesciato e la tetrade normale. Ingrandimento 500 volte.

Questi dati di fatto permettono le deduzioni seguenti: il 1.° punto avvalorà la natura composta dei cromosomi goniali. Il 2.° e il 3.° contestano non solo l'ipotesi dell'esistenza di più centromeri, ma non permettono neppure di identificarne uno. Il 4.° e il 6.° rendono ancora più difficile ammettere l'esistenza di più centromeri, perché i chiasmi potrebbero terminalizzarsi solo oltre la serie dei centromeri. Inoltre qualche chiasma fu visto nella porzione centrale del cromosoma, mentre il ponte