La pression osmotique et les grands problèmes de la Biologie.

Par

E. Bataillon.

Mit Tafel V.

Eingegangen am 6. September 1900.

Les faits que je vais développer exigent une remarque préliminaire. Quand l'expérimentateur touche à un facteur biologique général, il doit s'attendre à le retrouver, avec une allure spéciale, dans les manifestations les plus diverses; il est même porté à lui donner une place prépondérante dans les équations trop simples qu'il pose. Il importe cependant de commencer par ce travail provisoire. Les formules nombreuses, mais conciliables, révélées par l'étude de tel ou tel facteur, permettront seules d'enserrer progressivement les multiples faces d'un phénomène.

Etudions l'évolution de la fonction respiratoire chez un type qui s'y prête. Des étapes morphologiques bien accusées seront marquées par des oscillations frappantes; et l'esprit s'y attachera d'autant plus volontiers que d'autres fonctions solidaires de celle-ci présenteront des variations parallèles. Toutes ces données concordantes aboutissent à une définition partielle comme celle que j'ai donnée pour les Métamorphoses¹⁾; formule incomplète qui, comme je l'ai fait ressortir plusieurs fois déjà, n'a pas la prétention de donner la clef

¹⁾ E. BATAILLON, Recherches anatomiques et expérimentales sur la Métamorphose des amphibiens anoures. (Annales de l'Université de Lyon. T. II. Fasc. I. 1891.) — La Métamorphose du Ver à soie et le Déterminisme évolutif. (Bulletin Scientifique de la France et de la Belgique. T. XXV. 1893.)

d'un problème, mais qui enchaîne les faits acquis et satisfait l'esprit en attendant mieux: car il s'agit d'un point de vue particulier.

Le même facteur émerge si l'on étudie l'extension en surface des cellules blastodermiques chez les Amphibiens et les Poissons¹⁾. Un stade morphologique succédant à un autre doit avoir sa définition physiologique. Ici, comme partout, la respiration apporte son élément; comme elle le fournirait pour toutes les phases de chaque existence individuelle.

Mais l'organisme vivant échange autre chose que des gaz; et, si nous envisageons les conditions les plus simples, la cellule qui dans certains cas au moins, pourvue de réserves suffisantes, n'emprunte pas de matériaux solides au milieu extérieur, nous tombons immédiatement dans le vif de la question qui nous intéresse. La cellule œuf a un contenu fluide physiquement soumis aux lois de l'équilibre. Elle est surtout revêtue d'une ou plusieurs enveloppes participant des propriétés des membranes semi-perméables.

J'ai montré ailleurs²⁾ que les œufs de Téléostéens sont susceptibles d'évolution à l'air humide: mais ils se sont hydratés préalablement au moment de la ponte et de la fécondation, en tombant du milieu maternel dans un milieu à pression osmotique plus faible. Placez-les dans une solution convenable, saline ou sucrée, ils pourront perdre de l'eau, se ratatiner légèrement tout en conservant leurs facultés évolutives.

Ainsi, au moins dans certaines limites et dans certaines conditions naturelles ou provoquées, le plasma ovulaire peut passer par des alternatives d'hydratation ou de déshydratation. Il pourra même résister à des liquides toxiques (Sublimé, SO^4H^2), dans les limites de temps et de concentration compatibles avec la simple plasmolyse, sans courant osmotique centripète. Et ici s'appliquera le principe de l'osmose végétale: les substances qui ne pénètrent pas peuvent produire la plasmolyse; celles qui pénètrent ne plasmolysent pas.

La grande découverte de PFEFFER trouve donc des applications nouvelles. Les beaux résultats de DE VRIES; de MAQUENNE, etc. . . sur la pression osmotique dans les cellules végétales, de HAMBURGER, WINTER, etc. . . sur les globules du sang, les tissus et les liquides

¹⁾ E. BATAILLON, *Nouvelles Recherches sur les Mécanismes de l'Evolution. Les premiers stades du développement chez les Amphibiens et les Poissons.* (Arch. de Zool. expérim. T. V. 1897.)

²⁾ Arch. de Zool. exp. T. V. 1897. l. c. pag. 284—285.

de l'organisme animal, nous amènent à expérimenter sur l'œuf lui-même.

Ce que je disais de la respiration s'applique à la pression osmotique. Au point de vue physique du degré d'hydratation, chaque plasma correspond à un équilibre instable sur lequel l'expérimentateur peut agir.

Voilà un autre point de vue.

Les biologistes ne seront pas surpris qu'un facteur pareil puisse fournir des données sur la plupart des grands problèmes qui les occupent: résistance des êtres vivants à la déshydratation (vie latente ou anhydrobiose), tératogénèse, polyembryonie, parthénogénèse expérimentale.

I. Résistance de certains matériaux vivants à la déshydratation.

Embryons d'*Ascaris megalocephala*.

Des œufs d'*Ascaris* avaient été mis en réserve dans la liqueur de FLEMMING comme matériel d'études pour la maturation et l'émission des globules polaires. Six mois plus-tard, chaque œuf contenait un embryon qui, observé attentivement, s'agitait dans sa coque. Ainsi, ces embryons avaient parcouru leur évolution complète et restaient vivants dans ce milieu. Je n'ignorais pas les observations antérieures sur la résistance de certains œufs de Nématodes (DAVAINE, VAN BENEDEN, HALLEZ, etc...). Mais, voulant me rendre compte par moi-même de l'étendue de cette résistance, je répartis le matériel en divers lots qui furent immergés respectivement dans des dilutions d'alcool, d'acide acétique, d'acide sulfurique, etc... Les embryons restèrent intacts et mobiles dans l'alcool à 50%, dans l'acide acétique à $\frac{1}{3}$, dans SO^4H^2 à $\frac{1}{5}$.

DAVAINE¹⁾ avait montré dès 1862 que certains types d'*Ascaris* (*A. marginata*, *A. tetraptera*) sont susceptibles d'évoluer à sec. J'étales des œufs sur des lames de verre pour étudier l'influence de la dessiccation; et non content de les laisser à l'air, je les porte à l'étuve à 35°. Au bout de 24 heures, les embryons sont en bon état; et, si au lieu de les monter à l'eau, on les monte au baume ou à l'huile, on constate qu'ils s'agitent dans leur milieu intérieur non modifié, qu'ils n'ont pas perdu d'eau en quantité appréciable.

¹⁾ DAVAINÉ, Sur la constitution de l'œuf de certains Entozoaires et sur la propriété de se développer à sec. (Mémoires de la Société de Biologie, 1862.)

Le matériel ainsi desséché en apparence peut-être conservé à la température ordinaire pendant plusieurs mois, et on répète à volonté les mêmes observations.

Dans les expériences sur la résistance aux divers liquides plus ou moins caustiques (alcool, acides) ces liquides ne pénètrent pas. Au bout de plusieurs semaines, les œufs restent flottants à la surface de l'acide sulfurique étendu; et d'autre part, les embryons sortis de leurs enveloppes sont, dans ces milieux, immédiatement altérés.

Dans les expériences de dessiccation à l'air ordinaire, le milieu intérieur ne se déshydrate pas sensiblement. Le chorion paraît donc largement imperméable suivant l'opinion de JAMMES¹⁾. Mais cette imperméabilité à une limite intéressante que je vais préciser.

Des œufs séchés sur une lame sont portés pendant 24 heures à l'étuve sèche à 38°. On constate que, de la coque chitineuse, le contenu fluide s'est détaché en un point où il reste limité par une fine membrane. Entre le chorion membraneux et le chorion solide, il existe un espace répondant à l'élimination d'un certain volume d'eau. Mais l'embryon reste vivant.

Si le séjour à l'étuve est prolongé pendant 3 jours, le ménisque de déshydratation s'est étendu à plus de la moitié du volume total. Le mouvement embryonnaire a cessé, et l'immersion dans l'eau ne peut le rétablir.

Si donc on élève avec la température la tension de vapeur dans le contenu fluide, l'émission d'eau devient sensible et suffisante à 38° pour entraîner la mort de l'embryon.

C'est poser en principe que l'arrêt des phénomènes vitaux n'est pas la conséquence directe de la température: la durée de l'expérience le montre suffisamment; mais voici qui est encore plus significatif.

Plus la température s'élève, plus l'évaporation est rapide. A 50°, les œufs séchés ne résistent pas 5 minutes. Entre 50° et 55°, les œufs immergés dans l'eau restent vivants après un quart d'heure. (A 60°, même dans l'eau, les embryons deviennent grenus et sont irrémédiablement perdus.)

¹⁾ JAMMES, Recherches sur l'organisation et le développement des Nématodes. (Thèse de la Faculté des Sciences de Paris. 1894.)

Voilà déjà une limite d'imperméabilité; mais ces faits ne suffisent pas à nous renseigner sur les facteurs de la résistance. La pénétration des enveloppes, qui ne peut être obtenue avec l'alcool à 50%, ou l'acide sulfurique à $\frac{1}{5}$, nous allons la réaliser avec des solutions salines.

NaCl, à des concentrations inférieures à 15%, ne produit aucune modification sur ces matériaux. Mais, à 15% et au-dessus, le chorion membraneux se détache de la coque rigide comme dans les expériences de dessiccation. Et, à mesure que la concentration augmente, le ménisque croît graduellement pour s'étendre, vers 30%, à plus de la moitié du volume. Les embryons ne résistent pas à une telle déshydratation de leur milieu intérieur. Le contenu de l'œuf a donc été plasmolysé par NaCl. On pourra tout aussi bien le plasmolyser avec CaCl_2 ; mais alors il faudra 28% de chlorure pour constater le début du phénomène.

OVERTON a posé pour les cellules végétales un principe important: une substance ne pénètre pas ou pénètre suivant qu'elle plasmolyse ou ne plasmolyse pas.

Si nous appliquons ce principe à l'œuf d'*Ascaris*, nous dirons que les solutions salines plasmolysantes ne pénètrent pas plus que les dilutions alcalines ou acides. Le chorion membraneux détaché de la coque nous apparaît comme une enveloppe semi-perméable qui, dans le cas particulier, laisse filtrer de l'eau vers l'extérieur. Pour que le phénomène se produise, il faut que la pression osmotique du liquide utilisé soit supérieure à celle du milieu ovulaire. Au bout d'un certain temps, l'équilibre s'établit. Si la déshydratation n'est pas trop accusée, l'embryon reste vivant; si elle dépasse un certain maximum, l'organisme est altéré. Le point critique qui correspond au début de la plasmolyse varie avec le sel employé et va nous fournir un nouvel élément de contrôle.

DE VRIES et HAMBURGER ont fixé expérimentalement, en particulier pour NaCl et CaCl_2 , des solutions équi-osmotiques dont les titres peuvent être pris pour coefficients. En partant de leurs chiffres, on constate que les titres respectifs indiqués plus haut 15% et 28%, répondent à des solutions approximativement isotoniques.

Le sucre de canne détermine des pressions osmotiques beaucoup plus faibles. On sait que, pour produire le même effet, il faut environ 10 fois plus de sucre que de sel. Le calcul nous amène par conséquent au titre impossible de 150%. Les prévisions sont encore ici confirmées par l'expérience, car les solutions de sucre les plus concentrées ne produisent pas trace de plasmolyse.

De ces faits précis, nous pouvons déduire que la pression osmotique dans le contenu fluide d'un œuf d'*Ascaris* est considérable, supérieure à 100 atmosphères si nous prenons pour base la solution limite de NaCl.

Un autre problème se poserait maintenant: celui des échanges gazeux à travers de pareilles enveloppes: car ces œufs respirent comme on peut s'en assurer par la méthode des solutions barytiques faibles colorées à la phtaléine. Je me contente d'indiquer cette question qui, au point de vue physique paraît complexe: elle sort du cadre que je me suis tracé.

Conclusions. Vie latente et anhydrobiose.

Les expériences qui précèdent appellent d'abord une conclusion de faits. Elles rendent compte de la résistance des œufs d'*Ascaris* à la dessiccation comme à la pénétration des divers liquides plus ou moins toxiques par deux facteurs essentiels:

1° existence, à l'intérieur de la coque rigide, d'un chorio-membraneux qui réalise une paroi semi-perméable des plus parfaites.

2° concentration extrême du fluide intérieur qui représente une pression osmotique énorme.

Mais la résistance à la dessiccation et aux températures élevées rappelle inévitablement à l'esprit les exemples dits de vie latente, avec ces faits nombreux que GIARD¹⁾ réunissait en 1894 sous la rubrique Anhydrobiose ou ralentissement des phénomènes vitaux sous l'influence de la déshydratation progressive.

Considérons un cas classique comme celui des Rotifères et des Tardigrades. Sans aborder directement la question de savoir si la vie est suspendue, nous pouvons nous demander si le matériel susceptible de réviviscence est complètement déshydraté. C'est que, comme on l'a vu pour les œufs d'*Ascaris*, une température, même assez élevée, peut représenter tout simplement une condition favorable à la dessiccation: le facteur temps ayant une importance capitale.

CL. BERNARD²⁾ faisait déjà sur ce facteur des réserves expresses. Après avoir formulé la thèse résurrectionniste, à savoir que »1° il n'y a pas de vie appréciable dans les corps inertes des animaux

¹⁾ GIARD, L'anhydrobiose ou ralentissement des phénomènes vitaux sous l'influence de la déshydratation progressive. (C. Rend. Soc. Biol. 16. Juin 1894.)

²⁾ CL. BERNARD, Leçons sur les Phénomènes de la Vie communs aux Animaux et aux Végétaux. (Paris 1878. pag. 87. T. I.)

réviviscibles; et 2° que ces corps conservent leurs propriétés de réviviscence dans des conditions (vide sec, puis 100°) incompatibles avec toute espèce de vie manifestée», il ajoute: »Cependant, on n'a jamais à ma connaissance fait l'expérience de les conserver pendant un très long espace de temps à l'état de vie latente. Le vrai criterium qui permet de décider si la vie est réellement arrêtée d'une manière absolue, c'est la durée indéterminée de cet arrêt.»

A notre point de vue strict, c'est surtout l'action du vide sec ou de la température qui demande à être prolongée.

Tous les éléments de la question sont réunis dans le magistral rapport de BROCA¹⁾ à la Société de Biologie, en 1860. Il ressort bien des faits que les matériaux secs résistent à 100°. Mais cette action de la chaleur doit être de courte durée. A 80°, un séjour de deux heures tue les Rotifères. Ils résistent mieux à 85° pendant 60 minutes seulement.

J'ai voulu répéter ces expériences comme chacun pourra le faire: elles sont surtout intéressantes à des températures plus basses.

Des Rotifères sont desséchés par lots d'une douzaine environ sur des lames de verre et exposés à diverses températures.

Après 3 jours à 38° Tous les sujets revivent dans l'eau.

Après 3 heures à 60° 1/5 environ des sujets revivent.

Après 20 heures à 60° Pas de réviviscence. Au bout de 24 heures d'hydratation, la plupart des Rotifères sont distendus et se rapprochent de la forme normale sans y arriver parfaitement. Pas trace de mouvement intérieur ou de déplacement.

Des observations parallèles sur les Tardigrades accusent une résistance moindre. Les sujets en expérience revivent dans l'eau après un séjour de 10 minutes à sec à 50°; mais si l'on maintient cette température pendant une heure, tous sont définitivement immobilisés.

La durée des expériences a donc une importance majeure, qui émerge des faits comme de toutes les discussions. La lecture du rapport de BROCA montre bien que là est la grosse difficulté, difficulté que la commission soulignait de son autorité sans la résoudre.

L'opinion qui paraît aujourd'hui la plus soutenable, c'est la résistance de certains matériaux à la dessiccation complète;

¹⁾ BROCA, Rapport sur la question soumise à la Société de Biologie par MM^{rs} POUCHET, PENNETIER, TINEL et DOYÈRE au sujet de la reviviscence des animaux desséchés, lu par M^r P. BROCA, etc. (Mém. Soc. Biol. 1860.)

résistance qui, lorsque les autres moyens sont épuisés, cède à la chaleur, plus ou moins rapidement selon que la température est plus ou moins élevée. VAN TIEGHEM adopte le même principe pour les graines quand il dit qu'elles meurent si on les dessèche à 100° jusqu'à ce qu'elles ne perdent plus de poids¹⁾.

EWART²⁾ étend la conclusion aux Mousses quand il déclare que les matériaux secs susceptibles de retour à la vie active, graines de Phanérogames et Mousses, contiennent encore de 1 à 2 % d'eau; et qu'on ne saurait enlever cette eau sans supprimer la vitalité.

On arrive ainsi à une idée plus générale sur le rôle de la concentration des plasmas dans la résistance organique. Plus la pression osmotique est considérable, mieux l'organisme résiste à la déshydratation. Il est donc permis de se demander si la seule concentration n'expliquerait pas la résistance temporaire de tel protoplasma aux températures extrêmes, alors qu'un séjour prolongé à des températures sèches intermédiaires le tue.

En 1860, les partisans de la déshydratation complète des êtres réviviscibles invoquaient comme explication contre POUCHET la propriété qu'à l'albumine sèche de garder sa solubilité après passage à 100°³⁾. On sait qu'il y a là une limite. Mais aujourd'hui que le principe de la continuité de la vie s'affirme de toutes parts, le même corps peut fournir une autre comparaison. Cette réserve ultime d'eau, plus ou moins difficile à extraire, indispensable à l'intégrité de la substance vivante, nous rappelle l'expérience de l'albumine précipitée par l'alcool fort. Si le contact est court, l'albumine garde sa solubilité; s'il est trop long, la solubilité disparaît, et les propriétés de la substance sont changées.

¹⁾ Il est intéressant de constater que la question se pose aujourd'hui pour les matériaux végétaux exactement dans les mêmes termes qu'il y a 40 ans pour les animaux. A POUCHET, comme actuellement à VAN TIEGHEM, on reprochait l'insuffisance de la déshydratation préalable. VAN TIEGHEM comme POUCHET maintient la température de 100° parce qu'il veut compléter la dessiccation; et non pas simplement s'assurer que les graines supportent cette température.

²⁾ EWART, A. J., The resistance of plants to dessication. (Tr. Liverpool biol. Soc. XI.)

³⁾ BROCA, l. c. pag. 120.

II. Les variations expérimentales de la pression osmotique de l'œuf et l'ontogénèse.

Evolution de l'œuf d'*Ascaris*.

Les conditions dans lesquelles je me suis placé pour agir sur le développement sont les mêmes qui ont été indiquées plus haut pour les œufs embryonnés. L'ébauche, à quelque étape qu'on la prenne ayant le même milieu intérieur et les mêmes enveloppes, les résultats que j'ai recueillis doivent s'appliquer intégralement au cas actuel. La plasmolyse, avec NaCl, commencera encore vers 15 % et ne restera compatible avec l'évolution qu'au voisinage de 30 %.

Mais ici, nous enregistrons quelque chose de plus que la résistance à la déshydratation. La définition de l'Anhydrobiose donnée par GIARD¹⁾ («ralentissement des phénomènes vitaux sous l'influence de la déshydratation progressive») va se trouver confirmée avec une évidence toute exceptionnelle; et, du même coup, je montrerai comment tout un groupe de faits expérimentaux se rattachent au même principe. L'arrêt du développement ou la suppression du mouvement sous l'influence de la dessiccation ne permettent pas de mesurer l'action produite comme les variations liées au degré de plasmolyse.

On verra du reste que si la deuxième méthode est plus précise, elle n'exclut pas la première.

Graduons les solutions de NaCl entre 15 % et 35 %, et plongeons dans ces liquides des œufs d'*Ascaris* non évolués à la température de 38°. Nous notons un retard progressif dans le développement. Ce retard est peu net au-dessous de 20 %, mais il se précise de plus en plus entre 20 et 30. A 30 %, il y arrêt au stade morulaire. Le retard et la plasmolyse sont en rapport régulier avec la teneur en sel.

Avec CaCl₂, les résultats sont identiques. A 30° et pour 30 % de Chlorure, les œufs demandent 6 jours pour arriver au type embryonnaire incurvé formant le cercle complet, alors qu'à 20 % le même stade est obtenu en 4 jours.

Voici maintenant les effets de la dessiccation simple. Des œufs non segmentés sont étalés sur des lames de verre et portés à l'étuve sèche à 38°. Au bout de 15 heures, alors que les témoins montrent une belle morula, on constate que les matériaux secs sont arrêtés au

¹⁾ GIARD, l. c.

stade à 2 ou 4 blastomères. Si on les laisse dans les mêmes conditions, ils ne se segmentent plus et meurent; le ménisque de déshydratation s'accuse avec le temps. Si on les plonge dans l'eau, la segmentation ne tarde pas à reprendre son cours. Il est curieux de relever, dans une évolution, un ralentissement et même un arrêt expérimental provisoire. Il est bon de remarquer aussi que les deux méthodes interviennent pour se contrôler mutuellement. La plasmolyse progressive retarde la différenciation embryonnaire. La dessiccation simple la retarde et peu la suspendre: c'est que dans les deux cas nous agissons sur le même facteur qui se trouve modifié dans le même sens. Nous en avons une preuve indirecte dans ce fait que la limite de concentration varie avec la température comme la pression osmotique elle-même. A la température ordinaire (18° environ) on obtient, avec 30% de sel, l'embryon que l'étuve à 38° ne donne pas: c'est qu'alors la différence de pression devient plus faible et l'équilibre beaucoup plus lent à s'établir.

Evolution de l'œuf de Lamproie.

Dans ces expériences sur l'œuf d'*Ascaris*, un ralentissement ou un arrêt de l'évolution se rattachent facilement au principe physique: l'imperméabilité prononcée des enveloppes, la précision des phénomènes de plasmolyse imposent l'interprétation. Mais si l'on s'adresse à un matériel plus malléable, à des cellules dont la déshydratation est uniquement marquée par une contraction plus ou moins forte, on peut se demander si, aux effets physiques d'une solution saline, ne s'ajoute pas une action chimique importante ou même prépondérante.

C'est pour cette raison qu'avec l'œuf de Lamproie, j'ai sérieusement les milieux: NaCl, CaCl² et sucre de canne. Le sucre de canne peut être utilisé, car il ne s'agit plus des concentrations énormes employées pour l'œuf d'*Ascaris*.

J'ai mis en œuvre 5 groupes de solutions équi-osmotiques:

Série I	NaCl ‰ 1	CaCl ² ‰ 1,4	Sucre de canne ‰ 10
Série II	- 0,8	- 1,12	- 8
Série III	- 0,6	- 0,84	- 6
Série IV	- 0,5	- 0,7	- 5
Série V	- 0,2	- 0,28	- 2

Ainsi, les œufs de Lamproie, fécondés en bloc artificiellement, ont été répartis en 15 lots. Chaque jour, à la même heure, les liquides étaient renouvelés pour parer aux effets de l'évaporation.

a) Série I. Aucun œuf ne s'est divisé.

b) Série II. Les solutions ont permis un début de segmentation. Mais aucun des œufs n'a dépassé le stade de 16 éléments. Au point de vue des effets produits, il n'est pas possible d'établir une distinction entre les trois milieux. La même remarque s'applique strictement aux séries suivantes.

c) Séries III et IV. Ici, j'ai obtenu de belles morulas; mais la gastrulation, exceptionnelle pour la série IV, a fait totalement défaut dans la série III.

d) Série V. Les matériaux franchissent le stade des bourrelets médullaires pour arriver à l'éclosion. Seules, par conséquent, les solutions isotoniques à 0,2% de NaCl m'ont donné l'évolution complète. Ce simple examen général appelle deux remarques:

1° Qu'il s'agisse de chlorures ou qu'il s'agisse de Sucre, les effets sont semblables pour un titre déterminé. Les résultats s'encadrent suivant les séries préalablement établies.

2° Les liquides employés retardent l'évolution. Ce retard varie avec les numéros des séries, il est donc en rapport avec les pressions osmotiques correspondantes. Ce point est particulièrement net avec des repères comme l'apparition du blastopore. A ce stade, la série IV atteste un retard d'au moins 24 heures sur les témoins. Dans les solutions n° II, le retard est d'une 1/2 heure environ pour la première segmentation.

Une étude attentive de la division va nous mettre sous les yeux le fait de la déshydratation, avec des troubles constants dans les divers milieux, troubles qui se rattachent visiblement à l'action physique commune.

D'abord, la déshydratation: en effet, l'œuf diminue de volume; il prend la forme d'une calotte de sphère dont la base supérieure est plus ou moins bombée suivant le titre de la solution. Cette allure se maintient longtemps pendant la durée de la segmentation; on la retrouve sur toutes les ébauches observées de profil (Fig. 13 et 14 Pl. V).

La contraction est donc plus marquée au pôle animal, le moins encombré de réserves.

Considérons maintenant la succession des sillons. Il y a chez les témoins, dans les conditions normales par conséquent, quelques variations. EYCLESYMER¹⁾ s'y est arrêté pour discuter des questions

¹⁾ EYCLESYMER, A. C., The Early Development of Amblystoma, with observations on some other Vertebrates. (Journ. Morph. X. 1895.)

générales comme l'Isotropie, la relation entre les premiers plans de segmentation et l'axe embryonnaire.

J'ai trouvé pour ma part ces irrégularités exceptionnelles, la grande majorité des œufs évoluant suivant le schéma connu qui rappelle celui des Amphibiens. Par contre, dans les solutions, la segmentation anormale est de règle: et c'est là qu'on peut se demander comment de pareils clivages peuvent conduire à des embryons normaux. La première division est très fréquemment inégale. On en jugera par les fig. 2, 3, 4, 5, 8, 9 Pl. V qui montrent des œufs par leur pôle animal, avec les plans de clivage numérotés. Ces types sont empruntés aux solutions comparables de sel ou de sucre qui se comportent de même. La segmentation progresse beaucoup plus vite sur le petit blastomère que sur le gros, lequel reste assez longtemps indivis.

Au début, certaines figures rappellent la segmentation des œufs de Mollusques (*Nassa* par exemple), d'autant mieux que les sillons sont très marqués. Ces entailles s'effacent dans les conditions normales après le stade 4. Dans mes liquides, elles ne disparaissent qu'avec l'émiettement cellulaire, conservant longtemps à l'ébauche l'aspect d'une mûre profondément sculptée.

Les troubles ne sont pas toujours aussi précoces. Les anomalies peuvent ne débiter qu'après l'apparition du premier sillon (Fig. 4 Pl. V) ou même après le second. Mais jamais, dans les solutions comprises entre 1 et 0,5% de NaCl, je n'ai observé l'ébauche régulière à 8 blastomères, 4 supérieurs plus petits, 4 inférieurs plus volumineux. Après deux divisions typiques ou à peu près, les cloisonnements qui surviennent sont encore verticaux; et il faut atteindre, pour le moins, le stade à 8 éléments pour constater le clivage horizontal, la séparation des cellules caractéristiques des deux pôles (Fig. 1, 4, 6, 7 Pl. V).

Voilà donc un fait précis et constant pour les solutions fortes. Les troubles de la segmentation sont inévitables et débutent au plus tard, avec les sillons de troisième ordre.

Mais la série I elle-même peut fournir autre chose qu'un résultat négatif. On a vu que les œufs fécondés et plongés immédiatement dans les trois liquides isotoniques ne se divisent pas. Reportons dans l'eau pure ces matériaux immobilisés pendant un jour. Après douze heures de réhydratation, la segmentation se manifestera, surtout nette au pôle inférieur, pour s'arrêter ensuite définitivement (Fig. 10, 11, 12 Pl. V).

Je reviendrai sur cette expérience qui, reprise dans des conditions moins brutales, sera intéressante à un autre point de vue.

Cet arrêt provisoire dans la segmentation sous l'influence des solutions salines ou sucrées demandait à être rapproché du même phénomène relevé chez l'œuf d'*Ascaris* sous l'influence de la dessiccation simple.

Remarques générales.

Les expériences dans lesquelles j'ai constaté un retard ou une suspension provisoire du développement sont des plus significatives au point de vue du principe de l'Anhydrobiose.

D'autre part, les résultats obtenus paraissent indépendants de la composition chimique des liquides employés. Le point critique où la division est entravée, les troubles dans la marche de la segmentation, l'allure des ébauches, le stade fixe où l'évolution s'arrête pour chaque série, correspondent nettement à des pressions osmotiques parallèles pour les divers milieux.

III. Polyembryonie et tératogénèse.

Le problème des développements multiples, monstrueux ou normaux, est difficile à résoudre d'une façon satisfaisante si l'on ne dispose que des ressources expérimentales. En faisant intervenir telle condition à telle étape de l'évolution, on peut déterminer certains troubles; de là à rapporter à la même condition et au même moment l'origine d'une anomalie spontanée qui nous apparaît sous sa forme ultime et dont l'édification nous échappe, il y a loin.

Voilà pourquoi je considère comme une bonne fortune de pouvoir introduire dans ce chapitre des faits d'observation. Ces faits, relatifs à la Lamproie, offrent un intérêt tout particulier, puisqu'ils partent de la première segmentation de l'œuf pour s'étendre jusqu'à l'éclosion des larves jumelles.

Blastotomie spontanée et larves jumelles chez *Petromyzon Planeri*.

Un certain nombre de reproducteurs avaient été mis en réserve à la suite de mes premières opérations.

D'une femelle ayant déjà pondu, je tire encore, après 3 jours

de captivité, une centaine d'œufs qui sont fécondés artificiellement. Rien ne les distingue des œufs ordinaires: ils paraissent tous en bon état. Les premières divisions sont régulières. Mais, sur une partie du matériel, le sillon de deuxième ordre est beaucoup moins accusé que le premier; et, comme les segmentations sont de moins en moins nettes, la première incision qui persiste très profonde en s'accroissant progressivement au pôle inférieur partage l'ébauche en deux moitiés symétriques.

Voilà donc des œufs, dans la proportion de 40 %, qui se distinguent nettement dès le début; on les sépare des autres qui ont l'allure ordinaire et répondent au schéma classique précédemment indiqué.

Le premier lot, le plus intéressant, fournit des morulas doubles, puis des blastulas doubles. La gastrulation va s'effectuer d'une façon typique. Les deux blastules montrent à la même extrémité et à la face inférieure deux blastopores normaux; puis, en rapport avec chacun d'eux, évoluent progressivement en avant les deux soulèvements épiblastiques limitant la région de la crête médullaire (Fig. 23 Pl. V).

Les témoins ont été empruntés à d'autres fécondations faites en même temps. Et voici pourquoi. Le deuxième lot, tiré du même sujet, et composé d'œufs en apparence normaux, n'a donné qu'une évolution limitée. En général le stade morulaire n'a pu être dépassé; et malgré les précautions prises, il n'y a eu qu'un seul développement complet.

Les formations doubles ont résisté beaucoup mieux. Pour la plupart, elles ont montré, de la façon la plus évidente, les deux blastopores; la différenciation médullaire a été plus rare. Quatre œufs sont arrivés à l'éclosion de deux larves jumelles; chez d'autres, l'une des gastrules tombant en destruction, l'autre continuait d'évoluer.

En comparant le matériel anormal au matériel témoin, on remarque un retard dans la différenciation embryonnaire. Ce retard est déjà considérable au stade du blastopore (2 jours environ). Il s'accroît ensuite pour atteindre 6 jours à l'éclosion.

Au même point de vue, il y a lieu de rapprocher le développement des deux ébauches jumelles. La première division n'étant pas parfaitement égale, il arrive que l'une des larves soit sensiblement plus petite que l'autre. Elle est toujours moins avancée; et la rupture de l'enveloppe l'exposant aux agents destructeurs, elle peut mourir après l'éclosion de la plus forte (Fig. 22 Pl. V).

Si l'on considère que le volume total des deux larves naines ne dépasse guère celui d'une larve ordinaire, et si l'on tient compte des deux faits que je viens de signaler, on note, pour l'évolution des ébauches doubles, un ralentissement qui paraît fonction de la taille.

Ce développement spontané de deux larves complètes aux dépens d'un œuf unique mérite de fixer l'attention: car il s'agit d'une blastotomie originelle dans laquelle on ne saurait incriminer le mode opératoire. Mais il s'agit d'interpréter; car le seul résultat laisse place à de nombreuses hypothèses: fusion de deux œufs, polyspermie, etc.,... L'emploi du terme Blastotomie implique une opinion tout autre, et qui demande à être justifiée: des œufs qui, dans des conditions physiologiques exceptionnelles, isolent leurs deux premiers blastomères, chacun fournissant son ébauche comme dans les expériences de SCHULTZE¹⁾ sur la Grenouille, ou mieux encore dans celles de LOEB²⁾ sur les œufs d'Oursins.

C'est ici qu'interviennent les faits expérimentaux; et ils ont été recueillis parallèlement avec les faits d'observation.

Blastotomie expérimentale et Polyembryonie. Synthèse des résultats.

J'avais à reprendre, dans des conditions meilleures, une opération indiquée au précédent chapitre. Il fallait restituer à l'eau ordinaire les matériaux immobilisés par mes solutions fortes de façon à obtenir mieux que des segmentations plus ou moins précises: il fallait arriver à des ébauches définies.

Voici la technique qui m'a le mieux réussi:

La fécondation est faite dans l'eau ordinaire; et, deux heures après, les œufs sont plongés dans le sucre à 10⁰/₀ ou dans le sel à 1⁰/₀. Au bout de 18 heures, on constate un arrêt aux stades à 2, 4, 8 ou 10 éléments. La morula est beaucoup plus avancée sur les témoins. Les matériaux sont reportés dans l'eau ordinaire, avec leurs blastomères profondément incisés comme dans les expériences précédentes. Mais les segmentations ultérieures ne présentent plus ce

¹⁾ O. SCHULTZE, Die künstliche Erzeugung von Doppelbildungen bei Froschlarven mit Hilfe abnormer Gravitationswirkung. (Archiv f. Entwicklungsmech. Bd. I. pag. 269—305. 1894.)

²⁾ J. LOEB, Beiträge zur Entwicklungsmechanik der aus einem Ei entstehenden Doppelbildungen. (Archiv f. Entwicklungsmech. Bd. I. pag. 453. 1895.)

caractère; chaque élément initial va servir de point de départ à une ébauche distincte, isolée de ses voisines, et dont la destinée ultérieure variera avec la taille, vraisemblablement aussi avec la teneur en vitellus (Fig. 15, 16, 24, 25, 26 Pl. V).

Si l'arrêt momentané a porté sur deux blastomères sensiblement égaux, l'évolution ne diffère en rien de celle qui a été décrite dans les cas de Blastotomie spontanée: elle conduit à deux larves jumelles (Fig. 24 Pl. V).

Si l'on a pour point de départ deux segments inégaux, l'ébauche la plus petite se différencie plus lentement, mais n'arrive à terme que si elle répond à $\frac{1}{3}$ au moins du volume total (Fig. 25 Pl. V).

Avec 3 blastomères sensiblement égaux, j'ai observé 3 ébauches gastrulaires munies chacune de leur blastopore; mais aucune d'elles n'a différencié ses bourrelets médullaires.

Il arrive fréquemment, étant donnée l'irrégularité des premières segmentations, qu'une ou plusieurs ébauches s'arrêtent au stade blastulaire, une seule, la plus volumineuse, parcourant toute son évolution (Fig. 26 Pl. V).

Enfin, si les blastulas sont trop nombreuses (4 ou 8 par exemple), elles avortent régulièrement (Fig. 12, 15, 16 Pl. V).

Il importe de remarquer que les témoins provenant de la même fécondation n'ont pas fourni une seule formation double ou anormale.

En somme, si, préalablement, on augmente la pression osmotique de l'œuf par des concentrations suffisantes et isotoniques de sel ou de sucre, la différence exagérée au contact de l'eau pure détermine la séparation des blastomères et leur évolution isolée en autant d'ébauches distinctes.

LOEB¹⁾ expose des œufs d'Oursins à l'eau de mer diluée, et, les transportant ensuite dans l'eau de mer normale, il observe des extraovats et des développements doubles; il obtient également des développements doubles sans extraovat. Evidemment, nos opérations diffèrent: celle de LOEB n'est pas applicable aux matériaux d'eau douce. Mais les deux cas doivent être rapprochés, car il s'agit toujours de changements brusques portant sur la pression osmotique. Le parallèle s'impose d'autant mieux que l'auteur en question fait nettement ressortir l'importance de ce facteur physique, et fait appel, pour l'explication des formations doubles ordinaires, à une différence

¹⁾ J. LOEB, l. c.

de pression exagérée entre l'œuf anormal, »pathologique«, et les liquides utérins (»le sang en première ligne«).

Les expériences ci-dessus, portant sur un type vertébré, viennent à l'appui de sa manière de voir. Cette idée, qui repose sur les faits, permet de comprendre les formations doubles, normales ou monstrueuses, sans faire intervenir une division incomplète de l'œuf avant la fécondation (SCHULTZE¹), des troubles dans la gastrulation (HERTWIG), etc.

Mais l'hypothèse résiste-t-elle au contrôle des faits d'observation? En somme, le développement régulier et complet de larves jumelles tel qu'il a été suivi en dehors de toute intervention est-il susceptible d'une explication analogue?

Remarquons tout d'abord qu'il ne s'agit pas là d'un fait isolé. Deux autres femelles, dans les mêmes conditions, ont donné des œufs à ébauches doubles. Certains de ces œufs ne se segmentent pas: et alors il n'est pas rare de constater des extraovats.

Voici donc quelques remarques significatives:

1° Ces pontes révèlent un état pathologique; puisque seul le développement anormal suit son cours, celui des ébauches simples étant promptement enrayé quand il commence.

2° La fréquence des extraovats donne à penser que cet état pathologique résulte, comme dans l'expérience de LOEB, d'un excès de pression osmotique.

3° Au contact de l'eau, la segmentation rappelle celle des œufs dont la pression a été préalablement accrue par nos solutions. Les sillons sont très peu accusés; et, si l'on n'y prenait garde, on considérerait volontiers les morulas en voie de différenciation comme des blastomères immobiles.

En somme, l'allure des œufs et des ébauches, le parallélisme parfait des processus, ne laissent guère de doute sur l'identité des facteurs mis en jeu.

Mais à quelle condition spéciale rattacherons-nous la modification physique dans les cas de blastotomie spontanée?

J'ai parlé d'œufs ayant séjourné dans les conduits sexuels. C'est l'expression d'un fait. Il ne faudrait pas en déduire que des œufs arrêtés dans le milieu maternel après maturation parfaite con-

¹) SCHULTZE, O., Die künstliche Erzeugung von Doppelbildungen bei Froschlarven mit Hilfe abnormer Gravitationswirkung. (Archiv f. Entwicklungsmechanik. Bd. I. 1895.)

centrent fatalement leur plasma. Il est fort possible qu'à ce résidu de ponte non expulsé naturellement correspondent, au contraire, des caractères de maturation incomplète, liés à la captivité, ou à la température plus basse du milieu. Si je fais cette réserve, c'est que des œufs ovariens de Grenouille, bien près d'être mis en liberté, m'ont donné pour la plupart au contact de l'eau, un gonflement accompagné d'un étranglement méridien: il semblerait donc qu'ici au moins la concentration soit plus forte chez l'œuf ovarien que chez l'œuf mûr.

C'est un point que je ne saurais préciser actuellement. Mais les deux groupes de faits se complètent et se corroborent. Ma conclusion reste donc telle que je l'ai formulée dans une note préliminaire¹⁾, et elle paraît sortir du domaine de l'hypothèse.

L'observation et l'expérimentation permettent d'attribuer à la plupart des formations doubles ou multiples une origine précoce. Cette origine serait dans la séparation mécanique des premiers blastomères sous l'influence d'un excès de pression osmotique.

Tératogénèse.

Depuis les premières expériences de HERBST, bien des auteurs (HERTWIG²⁾, GURWITSCH³⁾, etc.) ont étudié le développement de l'œuf dans les solutions salines. De ces recherches, comme des miennes, ressortent certains faits généraux, par exemple un retard dans le développement. Pour HERTWIG, la diminution de la vitalité de l'œuf est en raison directe du degré de concentration du liquide employé. On a vu la même conclusion se dégager de mes études sur l'œuf de Lamproie. Un autre point très important, également relevé par HERTWIG et par LOEB pour les solutions fortes, c'est l'arrêt de la segmentation du protoplasma alors que celle du noyau continue.

Mais on a insisté surtout sur la production de monstruosité

¹⁾ BATAILLON, E., Pression osmotique de l'œuf et Polyembryonie expérimentale. (C. R. Acad. des Sciences de Paris. 28. Mai 1900.)

²⁾ HERTWIG, O., Beiträge zur experimentellen Morphologie und Entwicklungsgeschichte. (Archiv f. mikr. Anat. 1895.) — Experimentelle Erzeugung thierischer Missbildungen. (Festschr. z. 70. Geb. v. C. GEGENBAUR. 1896.)

³⁾ GURWITSCH, Über die formative Wirkung des veränderten chemischen Mediums auf die embryonale Entwicklung. (Anat. Anzeiger. XI. pag. 65—70 et Archiv f. Entwicklungsmech. III. 1896.)

dans des solutions compatibles avec un développement plus complet. Les larves au lithium de HERBST, les larves au sel d'HERTWIG et de GURWITSCH correspondent-elles à des actions chimiques spécifiques? C'est l'opinion qui prédomine, quoique les résultats obtenus soient loin de l'établir d'une façon satisfaisante.

HERTWIG¹⁾ pense qu'un très léger changement dans la composition chimique du milieu extérieur peut donner naissance à de véritables monstres; et il se demande si des modifications chimiques analogues, portant sur les fluides utérins, ne détermineraient pas, chez les Mammifères, des troubles dans le développement du fœtus, l'anencéphalie par exemple. HERBST²⁾ adopte le même principe pour ses larves au lithium; et il précise en donnant une importance exceptionnelle au métal. »Die morphologische Wirkung des Lithiums hängt nur vom Metall, nicht von der Säure ab, an welche dasselbe gebunden ist, mag diese eine anorganische, oder eine organische sein.«

Cette idée de l'intervention du métal méritait une mention spéciale: nous la verrons reprise par LOEB pour les cas de parthénogénèse expérimentale.

GURWITSCH³⁾, dans ses anomalies provoquées, donne une large part à l'affaiblissement du plasma, tout en invoquant l'action irritante des substances chimiques sur telle région déterminée.

Mes propres recherches me conduisent à donner au premier élément de GURWITSCH une valeur prépondérante, avec des réserves sur le terme vague: affaiblissement.

Les œufs de Lamproie plongés dans des solutions correspondant, pour la pression osmotique, à plus de 0,2 % de NaCl ne franchissent pas le stade des bourrelets médullaires. A 0,2 % et au-dessous, les anomalies décrites sur les Amphibiens n'ont pas été observées.

Mais, ce qui me porte à croire que les milieux isotoniques agissent de la même façon, c'est ce qui se passe quand les œufs traités un certain temps par des solutions comparables, sont restitués au milieu normal.

J'ai montré comment, pour 0,8 % de NaCl ou 8 % de sucre,

¹⁾ HERTWIG, O., l. c. (Archiv f. mikr. Anat. 1895.)

²⁾ HERBST, C., Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss der veränderten chemischen Zusammensetzung des umgebenden Mediums auf die Entwicklung der Thiere. III. Theil. (Archiv f. Entwicklungsmech. Bd. II. 1896. pag. 509.)

³⁾ GURWITSCH, l. c. (Archiv f. Entwicklungsmech. Bd. III. 1896.)

appliqués immédiatement après la fécondation, l'évolution commence par s'arrêter approximativement au même point, comment 1% de NaCl et 10% de sucre s'opposent à tout développement.

HERBST¹⁾ a constaté dans ses expériences que l'effet produit est permanent, même après que la larve d'Echinoderme a été reportée dans l'eau de mer pure. Or, si je restitue au milieu ordinaire les œufs de *Petromyzon* immobilisés pendant 24 heures par les solutions fortes de sel ou de sucre, ces œufs montrent un début de segmentation. On a vu que les œufs traités parallèlement par les mêmes solutions un peu plus tard et pendant un temps moindre, donnent naissance à des ébauches multiples. Les résultats sont semblables quel que soit le milieu: or, le seul caractère commun à ces milieux, c'est l'isotonie approximative.

Si je reviens sur ces faits, c'est qu'entre les monstres doubles et les formations gémeillaires ou multiples il paraît n'y avoir, à part la diversité des matériels, qu'une question de moment ou de degré dans l'action physique. Je laisse de côté les anomalies décrites chez les Amphibiens et les Echinodermes: une expérimentation plus étendue sur les œufs de Lamproie fournira peut-être des éléments tératologiques de même ordre.

Mais, des œufs à segmentation totale donnant naissance à des ébauches doubles ou multiples, on peut se demander comment se comporteront, dans les mêmes solutions, des œufs à segmentation partielle comme ceux de Téléostéens.

A priori, on peut attendre là, de préférence, des formations monstrueuses, si le principe physique que j'invoque est légitime et si, comme le montre déjà le type de Lamproie, les phénomènes de déshydratation et d'hydratation s'accusent surtout au pôle animal.

Expériences sur l'œuf de *Leuciscus rutilus*.

Des œufs de Rousse sont fécondés artificiellement le 28 mai à 5 heures, puis plongés dans des solutions de sel à 1%, de sucre à 10%. Au bout d'une heure, on les reporte dans l'eau ordinaire; deux heures après, la segmentation n'est pas encore commencée: il y a un retard manifeste. Le lendemain soir, la segmentation est assez avancée; mais le blastodisque est irrégulier, souvent divisé en deux ou trois plages séparées par des incisions. Le 30, la mortalité est considérable; et le 31 au matin, 5 ou 6 œufs seulement pour

¹⁾ HERBST, C., l. c. (Archiv f. Entwicklungsmech. Bd. II. 1896.)

chaque lot sont arrivés au stade de la crête embryonnaire. Ces matériaux sont fixés; et, à l'examen, on constate que, dans la proportion de 1 sur 2, ils sont anormaux. J'ai figuré (Fig. 34 et 35 Pl. V), deux embryons au sel, et (Fig. 36 Pl. V), un embryon au sucre.

Le schéma n° 34 montre une ébauche avec deux extrémités antérieures, la conerescence portant sur les $\frac{3}{5}$ environ de la longueur totale; les myotomes sont déjà nets sur la partie double comme sur la partie simple.

Le schéma n° 35 indique, en plus d'un embryon normal, une ébauche supplémentaire réduite placée entre les deux extrémités et dans un plan à peu près perpendiculaire.

Enfin, (Fig. 36), un œuf ayant passé par la solution sucrée donne un embryon dont l'extrémité céphalique est simple; mais l'axe se bifurque à une certaine distance en deux bandes d'épaisseur différente qui limitent une large boucle par leur conerescence au niveau du blastopore.

Ces expériences demandent à être reprises sur une plus grande échelle et en variant les conditions. En tout cas, faites avec des solutions isotoniques, elles se rattachent naturellement à la production artificielle des ébauches multiples, et je crois pouvoir rapporter le résultat au même facteur.

IV. Parthénogénèse expérimentale.

J'arrive à un dernier problème qui depuis quelques mois soulève une légitime émotion: le développement de l'œuf sans fécondation sous des actions diverses et mal précisées: en deux mots la parthénogénèse expérimentale.

Tout le monde connaît l'expérience de LOEB¹⁾ qui, plongeant des œufs d'oursins dans l'eau de mer additionnée de $MgCl^2$, et les reportant ensuite dans le milieu normal, arrive à des Plutei bien conformés. C'est l'exemple le plus significatif. Il a donné lieu à des considérations théoriques sur le rôle du spermatozoïde; il a même suggéré immédiatement la possibilité d'une parthénogénèse artificielle chez les types les plus élevés.

¹⁾ LOEB, J., On the nature of the process of fertilization and the artificial production of normal larvae (Plutei) from the unfertilized eggs of the sea urchin. (Am. Journ. of Phys. III. 1899.) — On the artificial production of normal larvae . . . etc. (Ibid. 1. April 1900.)

L'hypothèse, si hardie qu'elle paraisse, aurait une base importante. Or, les mêmes opérations, reprises par VIGUIER¹⁾, autant que possible dans les mêmes conditions, ont abouti à des résultats tout autres. Le physiologiste de Chicago aurait traité des œufs susceptibles d'un développement parthénogénétique spontané, les solutions employées ne pouvant qu'arrêter ou retarder l'évolution, mais non la favoriser. Des types comme *Arbacia pustulosa*, *Sphaerechinus granularis*, *Strongylocentrotus lividus*, donnant des cas de parthénogénèse, seraient »complètement disqualifiés pour des recherches du genre de celles publiées par M. LOEB«. On se demandera si les résultats négatifs enregistrés par VIGUIER ne s'expliqueraient pas, soit par une différence dans le titre des solutions, soit par ces races géographiques dont il parle lui-même, soit par l'état de maturation des produits, etc. . . . LOEB seul est en mesure de dire si l'on peut admettre dans son expérience »des œufs susceptibles de développement parthénogénétique tandis que ses œufs témoins ne l'étaient pas«.

Sur ce point de fait, je me garderai de prendre parti: il s'agit d'un matériel que je n'ai pas étudié. Mais nombreux sont les biologistes qui ont travaillé le sujet, soit sur le type Echinodermes, soit sur d'autres. Entre leurs résultats et le dernier fourni par LOEB, on peut ne voir qu'une question de degré. Ils admettent tous que certains œufs non fécondés et non susceptibles d'évolution spontanée subissent dans leurs expériences une segmentation plus ou moins régulière, un développement plus ou moins étendu.

Admettons donc provisoirement que les formes plutéennes décrites par LOEB n'aient aucune signification, et proviennent de type disqualifiés par un parthénogénèse accidentelle.

Il reste les travaux de MORGAN²⁾; mais ici certains matériaux comme *Arbacia* seraient peut-être passibles des mêmes objections. Il reste les observations d'HERTWIG³⁾ qui conduit des œufs non fécondés d'*Asterias glacialis* et d'*Astropecten* jusqu'au stade blastu-

¹⁾ VIGUIER, Hermaphroditisme et parthénogénèse chez les Oursins. (C. R. Acad. des Sciences de Paris. 2. Juillet 1900.) — La théorie de la fertilisation chimique des œufs de M. LOEB. (Ibid. 9. Juillet 1900.)

²⁾ MORGAN, T. H., The Action of Salt-Solutions on the Unfertilized and Fertilized Eggs of *Arbacia* and of Other Animals. (Archiv f. Entwicklungsmech. Bd. VIII. 1899.)

³⁾ HERTWIG, O., Experimentelle Studien am thierischen Ei vor, während und nach der Befruchtung. (Jenaische Zeitschr. Bd. 24. 1890.)

laire. Il faut signaler aussi les tentatives plus récentes faites par GIARD¹⁾ sur *Asterias rubens*. L'auteur, après avoir décrit la segmentation jusqu'au stade 16, dit expressément: »Un troisième lot d'œufs de la même Astérie, non soumis à l'action du chlorure de magnésium et non fécondés, ne montrait aucune morula régulière ou irrégulière, aucune segmentation nucléaire ou cytoplasmique.«

Mais, en présence d'un fait biologique de pareille importance, il est bon de réunir tous les résultats acquis. On doit penser aux observations de TICHOMIROFF²⁾ sur les œufs de *Sericaria mori* plongés dans SO^4H^2 ou soumis au broissage: on doit retenir aussi la parthénogénèse provoquée chez les Amphibiens, soit par des solutions de sublimé (DEWITZ)³⁾, soit par l'action du serum antidiphthérique (KULAGIN)⁴⁾.

Quand j'aurai noté mes propres expériences et la conclusion qui s'en dégage, il me sera permis d'émettre une opinion sur le point fondamental. Ce point n'est pas de savoir si, dans telles conditions et pour tel type, l'expérience fournit des larves libres ou un développement complet.

Y a-t-il dans ces expériences une segmentation rappelant celle des œufs fécondés, quelque chose comme un début d'évolution?

Le problème, réduit à ces proportions, peut être résolu pour une forme déterminée; et si l'opérateur, en variant sa technique, voit émerger un principe général, il peut en chercher l'application partout, chez les Echinodermes comme ailleurs.

Expériences sur les œufs de Poissons et d'Amphibiens.

J'ai opéré sur des œufs de Poissons (*Phoxinus laevis*, *Leuciscus rutilus*, *Leuciscus jaculus*, etc. . . .) et sur des œufs d'Amphibiens (*Rana esculenta*) avec une idée préconçue qui me semble confirmée par les faits. Répéter les expériences de DEWITZ et de KULAGIN n'avait, à mes yeux, qu'un intérêt secondaire. Mais qu'y a-t-il de

¹⁾ GIARD, A., Développement des œufs d'Echinodermes sous l'influence d'actions kinétiques anormales (solutions salines et hybridation). (C. R. Soc. de Biol. Paris. 12. Mai 1900.)

²⁾ TICHOMIROFF, A., Die künstliche Parthenogenese bei Insekten. (Archiv f. Anat. u. Phys. Suppl. 1886.)

³⁾ DEWITZ, J., Kurze Notiz über die Furchung von Froscheiern in Sublimatlösung. (Biolog. Centralbl. Bd. VII.)

⁴⁾ KULAGIN, Zoologischer Anzeiger. 1898. pag. 653.

commun entre les agents utilisés par ces deux biologistes? entre une solution de sublimé et le serum antidiphthéritique? Je venais d'étudier chez les œufs de Lamproie l'origine des formations gémellaires, de provoquer la polyembryonie par l'immersion momentanée des matériaux dans des solutions isotoniques. En mettant à part, dans le serum antidiphthéritique, le principe mal défini auquel, a priori, je n'attachais qu'une importance médiocre, il restait le serum normal, avec sa composition complexe, mais caractérisé physiquement par la Cryoscopie.

L'abaissement du point de congélation, connu pour la plupart de nos animaux de boucherie ($0,55^{\circ}$ environ) correspond à une pression osmotique un peu supérieure à $0,9\%$ de NaCl. C'était un point de repère important.

La pression osmotique du liquide employé, avec une déshydratation relative comme conséquence: voilà l'idée directrice. Pour la contrôler, les milieux pouvaient être pris au hasard: NaCl, Sucre de canne, Serum normal, ce dernier offrant un intérêt tout spécial.

Je me suis donc arrêté à des milieux bien différents, isotoniques, non utilisés par mes devanciers opérant sur le type Vertébré, en calculant la pression osmotique sur celle du serum, en dégageant, par conséquent, l'expérience de KULAGIN de son principe mystérieux.

Voici maintenant les résultats de ces essais institués a priori.

1°. Œufs de *Leuciscus rutilus*.

Ces œufs non fécondés sont immergés pendant 3 heures dans des solutions de Sucre de canne à 10% ou de NaCl à 1% . On les lave ensuite et on les laisse dans l'eau ordinaire. Au bout de 15 heures, dans les deux lots, on constate une fragmentation plus ou moins irrégulière, comme l'indiquent les Figs. 17, 18, 19, 20, 21 (Pl. V). Puis les sillons s'effacent. Des coupes pratiquées à travers ces matériaux montrent soit des sphérules blastodermiques complètement isolées soit de légères incisions au niveau des lignes de démarcation primitives. Mais on trouve fréquemment, sur l'un des bords du blastodisque, une plage d'éléments nettement séparés par des membranes. S'agit-il de vrais blastomères ou de pseudoblastomères? Je n'ai pu mettre aucun noyau en évidence. Et pourtant, au-dessous de cette plage, dans le plasma indivis, on aperçoit des astrosphères multiples et même des fuseaux. J'ai insisté ailleurs sur la pauvreté

de ces œufs en chromatine; et on sait qu'à ces stades du début les blastomères normaux présentent des figures de Karyokinèse dépourvues de matière colorable ou au moins des réactions caractéristiques. C'est une réserve importante à faire.

2°. Œufs de *Cobitis taenia*, *Phoxinus laevis*, etc.

Traités de la façon sus-indiquée, et même avec des solutions de titre différent, ces œufs sont restés complètement inertes. Ceci vient à l'appui du principe de HERBST¹⁾, qui, dans ses recherches sur les larves lithiques, constate des variations considérables suivant les types d'œufs mis en expérience. Pourra-t-on, avec des tâtonnements inévitables, déterminer une concentration convenable pour chaque forme? Ce qui est certain, c'est que le même liquide fixateur (Eau, 100 g; acide chromique, 0,50 g; acide osmique à 1,5%; acide acétique, 6); fait éclater régulièrement les œufs de *Phoxinus* au cours du développement, ce qui n'arrive pas pour ceux de *Leuciscus*. On peut déduire de ce fait une différence de composition et de pression osmotique.

3°. Œufs de *Rana esculenta*.

Ici, j'ai utilisé, en plus du sucre et du sel au titre marqué plus haut, du serum de bœuf recueilli à l'abattoir. Les œufs, pris dans l'utérus, ont été répartis sur deux groupes d'expérience. Ceux du premier groupe ont été soustraits à l'action des liquides au bout d'une heure, ceux du deuxième après 2½ h. Les résultats étaient identiques et la segmentation n'était guère plus régulière après le contact le plus long. Ici encore, le processus a été lent et certains œufs n'entraient en division qu'au bout de 24 heures. Les six lots ont fourni en abondance des figures d'une régularité parfaite: les deux premiers sillons en croix très prononcés et limitant les 4 quadrants (Fig. 28 Pl. V). C'était le cas pour 50 % au moins des œufs au serum. Pour les autres, la première division était inégale et l'émiettement progressait plus vite sur l'une des moitiés que sur l'autre. Les Fig. 29, 30, 33 (Pl. V) montrent quelques unes de ces irrégularités. La fragmentation est constamment troublée au plus tard après la division en 4: elle progresse plus vite sur l'un des quadrants. Ainsi, d'un stade 4 classique à la vingtième heure, on passe 6 heures plus tard à la figure 31 (Pl. V).

Les sillons du début ne s'étendent pas à la totalité de l'hémisphère végétatif et dans tous les cas l'évolution s'arrête bientôt. Les

œufs au troisième jour ne montrent pas, sur les coupes, la morula très riche qu'on pouvait espérer. Les sillons ont disparu; mais on retrouve des noyaux disposés en plusieurs groupes; ils sont de taille variable et paraissent en voie d'émiettement. Il y a donc eu des mouvements nucléaires. C'est un point à retenir. Mais il faut retenir surtout la régularité d'un grand nombre de divisions, régularité telle que certain lot au serum examiné au bout de 24 heures donnait tout à fait l'illusion d'une fécondation bien réussie.

En tout cas, ces résultats partiels cadrent avec les indications succinctes de DEWITZ et KULAGIN: ils rentrent évidemment dans le même groupe de faits.

Mes prévisions se trouvaient donc pleinement réalisées. Il ne s'agit plus d'une constatation isolée due au hasard: c'est l'application systématique d'un principe tiré d'observations antérieures, et pesé exactement d'après ces mêmes observations.

Le serum de Mammifère, diphtéritique ou non, se comporte comme une solution isotonique quelconque saline ou sucrée: il agit par sa pression osmotique. Je ne vois pas de raison pour penser que le Bichlorure agisse autrement dans l'expérience de DEWITZ: déshydratation encore dans les expériences de TICHOMIROFF. Quant aux faits concernant les Echinodermes, $MgCl^2$ ne paraît pas avoir davantage une vertu particulière: MORGAN a obtenu des résultats avec NaCl: ici encore, c'est affaire de concentration et de pression osmotique.

Étude critique du problème.

Les Echinodermes me ramènent à mon point de départ. Toutes les observations réunies attestent la possibilité d'une certaine évolution de l'œuf vierge. Les milieux utilisés par MORGAN, LOEB, GIARD, sont de nature, non-seulement à favoriser, mais à déterminer cette évolution qui ne se produit pas spontanément. Par conséquent, toutes réserves faites sur l'interprétation possible de telle opération particulière, le résultat de LOEB est a priori vraisemblable. La critique de VIGUIER peut être justifiée: elle aurait certainement plus de poids si elle était moins exclusive et laissait place aux différenciations restreintes relevées par de nombreux expérimentateurs.

Mais les observateurs ont réuni, de leur côté, des éléments dont il faudrait tenir compte. Depuis longtemps on a constaté chez des Mollusques (C. VOGT), chez le Bombyx (HEROLD), chez les Poissons

(BURNETT et AGASSIZ) et chez les Mammifères (BISCHOFF), une sorte de développement de l'œuf non fécondé. On trouvera une bibliographie étendue sur ce sujet dans les recherches de BARFURTH¹⁾ et LAU²⁾ sur la segmentation parthénogénétique de l'œuf de poule. Comme ce titre l'indique, les œufs de poule »vierges« montrent un cloisonnement spécial du blastoderme, déjà signalé par OELLACHER (1872), puis par DUVAL (1884) et qui demandait à être précisé.

Ici, comme chez les Mammifères dans les follicules de GRAAF en régression, les apparences cellulaires ne correspondraient qu'à des pseudoblastomères sans noyaux; ces derniers subiraient la division directe et non la Karyokinèse; enfin, on n'arriverait jamais à la cavité de segmentation ordinaire.

Les observations que j'ai faites chez les Poissons ont quelque rapport avec cette description; et l'expérience de DEWITZ ayant été elle-même rattachée à la »fragmentation blastodermique«, on comprend que BARFURTH veuille mettre à part tous ces exemples portant sur le type vertébré.

Chez les invertébrés, où la puissance reproductive est beaucoup plus accusée, l'intervention d'un tactisme énergique pourrait déterminer un début d'évolution, la parthogénèse abortive de BARFURTH et LAU; et d'autant plus facilement que sur le type même dont s'est servi TICHOMIROFF³⁾, on a relevé la parthénogénèse accidentelle.

C'est séparer complètement, à ce point de vue, les Vertébrés des Invertébrés.

Cette barrière qu'indique BARFURTH existe-t-elle?

Pour mon compte, je ne l'aperçois pas. Les phénomènes intimes ne sont pas suffisamment étudiés pour qu'on puisse opposer les deux cas.

1° Il est difficile de voir, dans les segmentations limitées décrites par MORGAN quelque chose de normal.

2° On retrouve, même chez les Poissons, les astrosphères qui indiquent des mouvements internes compliqués.

¹⁾ BARFURTH, D., Versuche über die parthenogenetische Furchung des Hühnereies. (Archiv f. Entwicklungsmech. Bd. II. 1896.)

²⁾ LAU, H., Die parthenogenetische Furchung des Hühnereies. Inaug.-Diss. Jurjew (Dorpat) 1894.

³⁾ On peut même se demander si les œufs soumis à l'expérience n'étaient pas naturellement parthénogénétiques (Expériences de NUSSBAUM, Archiv f. mikr. Anat. 1899. pag. 444).

3° Enfin, des apparences identiques obtenues chez les deux types par des procédés comparables impliquent des conditions communes comme celles que BARFURTH fait intervenir lui-même.

Du reste, sur le cas des Mammifères entre autres, les interprétations varient. HENNEGUY¹⁾, tout en distinguant la fragmentation de la division normale, admet qu'on peut la considérer »comme un commencement de développement parthénogénésique«.

Qu'il y ait, suivant les formes étudiées, des degrés dans les mouvements internes, surtout dans les mouvements chromatiques, c'est une thèse acceptable. Mais, avec cette réserve, on peut très bien admettre une série continue partant de ce qu'on appelle »fragmentation«, pour aboutir à la parthénogénèse normale et à l'Amphigonie, en passant par la parthénogénèse provoquée, abortive ou complète. Et alors, de quelque nom qu'on les décore, les résultats mêmes limités, fournis par l'expérience, méritent une attention spéciale quand il s'agit d'interpréter.

Nous voilà bien loin des larves parthénogénétiques de LOEB, bien loin des hypothèses qu'on pouvait en déduire sur l'évolution expérimentale de l'œuf vierge chez les Mammifères, sur l'action spermatique dans la fécondation, sur les conditions de la parthénogénèse spontanée. Actuellement, nous ne pouvons pas plus rejeter ces hypothèses que le fait sur lequel elles s'appuient. Elles sont du reste si simples, si étroitement liées dans leur formule à des résultats qu'elles ne sauraient dépasser, que l'expérimentateur peut chercher leur vérification sans les développer.

Notre objectif actuel est plus modeste.

Il s'agit d'embrasser les divers cas révélés soit par l'observation, soit par l'expérimentation. On pourra supposer que les Plutei de LOEB disparaissent devant la critique de VIGUIER; on admettra même, si l'on veut, une impossibilité absolue de dépasser la segmentation pour arriver à une morphologie déterminée. Et alors il reste uniquement, quel que soit le type considéré, des mouvements artificiels ultimes, accompagnés d'une blastomérisation limitée qui, au point de vue de l'évolution individuelle, est un vain simulacre.

Or, même avec cette conception restreinte, on sera frappé de la régularité des mouvements des centres, de la précision des

¹⁾ HENNEGUY, L. F., Recherches sur les follicules de GRAAF chez les Mammifères et quelques autres Vertébrés. (Journal de l'Anat. et de la Phys. T. 30. 1894. pag. 29.)

lignes de segmentation; on cherchera une relation entre ce spectre d'évolution régulière et le phénomène normal.

LOEB¹⁾ s'adresse à la composition chimique du milieu artificiel et, dans $MgCl_2$, il attribue une importance prépondérante au métal. Au Calcium correspondraient, dans les combinaisons, des propriétés inhibitrices; au Magnésium, au Potassium, des propriétés excitatrices. Le métal exciteur pourrait être apporté par le spermatozoïde dans la fécondation ordinaire. Malheureusement, cette hypothèse ne tient compte que d'une série expérimentale.

DELAGÉ²⁾ fait remarquer avec raison que tous les cas observés (j'ajouterai: les miens surtout) »sont absolument comparables à celui de LOEB, et qu'il n'est pas possible d'appliquer aux uns une explication fondamentalement différente de celle qui est valable pour les autres«. S'il est difficile d'attribuer un rôle particulier à tel métal avec le sérum, que dira-t-on d'une solution de sucre de canne?

Je me suis placé au point de vue physique, et mes expériences ont nettement souligné un facteur qui paraît intervenir dans les opérations les plus disparates.

Et, puisque les faits d'observation ont trouvé place dans cet exposé rapide, je note une coïncidence curieuse. Entre autres hypothèses pour expliquer la »fragmentation«, BARFURTH insiste sur celle-ci: dans les œufs de Poule »vierges«, on pourrait admettre un processus physico-chimique ayant pour base une déshydratation du blastoderme. Puis il cherche à appliquer cet élément théorique à la segmentation normale.

»Da die Zerklüftung des Bildungs- und weißen Dotters sowohl bei befruchteten wie bei unbefruchteten Keimscheiben vorkommt, bei der befruchteten aber die specifischen Kennzeichen der ‚Furchung‘ annimmt, so folgt, dass die durch Befruchtung ausgelöste direkte Entwicklung sich den physikalischen oder physikalisch-chemischen Vorgang der Dotterzerlegung gewissermaßen dienstbar macht, oder, vielleicht richtiger ausgedrückt, sich ihr gerade so anpasst, wie sie es den Einwirkungen der Schwere, der Wärme, des Lichtes etc. gegenüber thut³⁾.«

Il y a entre l'idée de BARFURTH et le principe expérimental auquel je me suis attaché une parenté évidente et sur laquelle je n'insisterai pas.

¹⁾ LOEB, l. c. Am. Journ. of Phys. III. 1899.

²⁾ DELAGÉ, Fécondation mérogonique et théorie nouvelle de la fécondation normale. (Arch. de Zool. exp. 1899. No. 4.)

³⁾ BARFURTH, l. c. (Archiv f. Entwicklungsmech. Bd. II. 1896. pag. 343.)

Mes données se sont trouvées plus suggestives que celles de LOEB parce qu'il est plus simple d'agir sur la pression osmotique des matériaux d'eau douce que sur celle des œufs marins avec des substances comme le serum et le sucre.

Si l'éminent physiologiste américain avait pu faire intervenir dans ses opérations des combinaisons non métalliques, il se serait sûrement arrêté de préférence au principe physique qu'il avait relevé d'une façon si magistrale dans ses études sur les extraovats et les développements doubles.

V. Conclusion.

Ces brèves indications sur le rôle de la Pression osmotique dans quelques cas fondamentaux fixeront peut-être l'attention des biologistes sur un facteur de premier ordre, et dont l'étude promet des documents précieux.

Je ne me dissimule pas qu'entre l'élément accessible à l'expérience et le résultat obtenu, il reste une grande lacune. Mais le lien empirique qui rattache ces deux termes paraît difficile à préciser actuellement. Dans son mémoire sur les extraovats et les développements doubles, LOEB¹⁾ invoque, pour la séparation originelle des ébauches, des mouvements tourbillonnaires comme ceux de l'expérience de QUINCKE. Je n'ai pas insisté sur cette idée parce que d'autres groupes de faits, ceux de parthénogénèse expérimentale par exemple, se montrent plus complexes.

Si la séparation des blastomères au contact d'un milieu à pression osmotique plus faible peut être rapportée à ces actions physiques élémentaires, comment expliquer par les mêmes actions les mouvements nucléaires qui se produisent dans les solutions plasmolytiques?

J'ai voulu simplement mettre en évidence un facteur physique général, accessible à l'expérience dans bien des cas. Ce facteur avait déjà permis de préciser quelque peu: les rapports intercellulaires, les rapports entre les tissus et les plasmas, entre les liquides organiques et les milieux extérieurs, des phénomènes obscurs comme la sécrétion urinaire. Avec LOEB, qui dans cette voie fut un précurseur, nous le voyons intervenir dans l'ontogénèse.

¹⁾ LOEB, Beiträge zur Entwicklungsmechanik der aus einem Ei entstehenden Doppelbildungen. (Archiv f. Entwicklungsmech. Bd. I. 1895.)

Les résultats du savant physiologiste sont pleinement confirmés par les miens. J'en apporte d'autres, non moins curieux, touchant à la résistance de certains organismes, à la polyembryonie et à la parthénogénèse expérimentale, en attendant que la même action physique se dégage plus largement sur le terrain de la Tératogénèse. Sa part reste à faire dans les belles expériences de HERBST, MORGAN, HERTWIG, GURWITSCH, etc. . . sur le développement de l'œuf dans les solutions salines.

Université de Dijon, le 25 Août 1900.

Note complémentaire sur la Parthénogénèse expérimentale.

La rédaction de ce mémoire était terminée lorsque j'ai reçu de M. J. LOEB un nouveau travail¹⁾ où il abandonne l'action prépondérante des Ions métalliques dans la Parthénogénèse provoquée. L'opinion que j'exprimais dans ma communication du 9 Juillet²⁾ et que j'ai développée dans les pages qui précèdent est nettement corroborée par ces expériences récentes publiées les premiers jours d'Août.

Ce rapprochement de dates n'a pas pour objet de souligner un point de priorité qui n'offre aucun intérêt. Mais le fait de deux observateurs qui, séparés par une grande distance et appliquant les mêmes méthodes à des matériaux différents, arrivent simultanément, l'un à donner certaines conclusions, l'autre à modifier les siennes dans le sens du premier: ce fait, dis-je, est une agréable surprise. Je vois là, pour ma part, un argument topique en faveur de ma thèse; à ce point de vue, l'identité des résultats doit être mise en évidence.

Je tire de ma note du 9 Juillet les quelques lignes suivantes: »L'excitant mystérieux qui se dégage mal d'expériences isolées et disparates paraît être, dans la plupart des cas (SO^+H^2 , brossage, sublimé, solutions salines ou sucrées), une déshydratation relative.

¹⁾ LOEB, Further experiments on artificial Parthenogenesis and the nature of the process of fertilization. (Am. Journ. of Phys. August 1 1900.)

Id., Artificial Parthenogenesis in Annelids (Chaetopterus). (Science. August 3 1900.)

²⁾ BATAILLON, E., La segmentation parthénogénétique expérimentale chez les Amphibiens et les Poissons. (C. R. Acad. des Sciences de Paris. 9 Juillet 1900.)

» ... Il eût été curieux de voir si une solution de CaCl_2 , malgré ses propriétés inhibitrices (LOEB) ne se comporterait pas comme les autres. »

» ... L'action de tel métal, difficile à admettre avec le serum, devient inacceptable avec l'emploi du sucre. »

» ... Le serum de Mammifère, diphtéritique ou non, se comporte comme une solution isotonique saline ou sucrée: il agit par sa pression osmotique. »

LOEB passe en revue les 3 modifications du milieu qui peuvent être mises en cause dans ses premières expériences.

1. Pression osmotique plus forte.

2. Proportion moindre (moitié) des sels normaux de l'eau de mer dans ses mélanges.

3. Action spécifique des Ions Mg.

Il élimine le deuxième élément en respectant les constituants ordinaires de l'eau de mer à laquelle il ajoute en proportion convenable NaCl ou KCl: les résultats sont positifs.

Il rejette aussi le rôle possible des Ions métalliques en substituant avec succès à MgCl_2 des combinaisons considérées a priori comme inhibitrices: NaCl et CaCl_2 (c'était un de mes desiderata).

Il le rejette surtout en employant, comme je l'ai fait moi-même, des combinaisons non métalliques et en particulier le sucre de canne.

Reste la pression osmotique: son rôle est formulé dans deux conclusions qui sont, pour un autre matériel et avec des faits plus décisifs¹⁾, la répétition exacte des miennes:

» 1° Through a certain increase in the osmotic pressure of the surrounding solution, the unfertilized eggs of some (probably all)

¹⁾ Pour montrer le rôle de la pression osmotique dans l'ensemble des cas de parthénogénèse expérimentale, je n'ai tenu compte, en effet, que des mouvements initiaux, les plus généraux et les seuls que j'aie observés jusqu'ici.

Mais, ayant donné dans mon exposé une large place à la critique de VIGUIER, je dois remarquer qu'en ce qui concerne les larves plutéennes, LOEB confirme absolument ses premiers résultats. Il les étend même aux Annélides (Chætoperus). Il y a plus, chez Chætoperus, le simple accroissement des Ions K, sans augmentation de la pression osmotique, déterminerait, non-seulement l'élimination des globules polaires observé par MEAD, mais l'évolution complète de larves Trochophores aussi actives que celles provenant d'œufs fécondés.

C'est maintenir, pour un type particulier, la fertilisation chimique à côté de la fertilisation osmotique.

Je me contente de noter cette indication préliminaire en attendant les détails expérimentaux annoncés par l'auteur.

Echinoderms can be caused to develop into normal blastulae or plutei. 2° This increase in osmotic pressure can be produced by electrolytes as well as by non-conductors. It is therefore probable that the parthenogenetic development is caused by the egg losing a certain amount of water¹⁾.«

Dijon, le 1^{er} Septembre 1900.

Résumé.

Un facteur biologique général, comme la pression osmotique des divers plasmas, peut et doit fournir à l'expérimentateur des données sur les problèmes les plus divers.

1° Il rend compte de la résistance des œufs d'*Ascaris* par deux conditions essentielles: a) existence, à l'intérieur de la coque rigide, d'un chorion membraneux qui réalise une paroi semi-perméable des plus parfaites; b) concentration extrême du fluide intérieur qui représente une pression osmotique énorme. Ces œufs, qui montrent le début de la plasmolyse dans des solutions isotoniques à 15% de NaCl environ, ne supportent guère la déshydratation correspondant à 30 % du même sel.

La résistance de certains matériaux classiques (Vie latente ou Anhydrobiose) peut être comprise de la même façon, par la concentration des liquides organiques qui fait obstacle à la déshydratation complète.

2° Dans l'Ontogénèse, la perte d'eau ralentit l'évolution et peut la suspendre provisoirement (*Ascaris*, *Petromyzon Planeri*).

Chez *Petromyzon*, les solutions isotoniques comprises entre 0,8% et 0,5% de NaCl troublent la marche de la segmentation: les troubles apparaissent, au plus-tard, avec les sillons de troisième ordre. A 1%, l'évolution est entravée; à 0,2% elle est régulière et complète. Les résultats obtenus paraissent indépendants de la composition chimique des milieux employés.

3° Dans des conditions spéciales et mal précisées, les œufs de *Petromyzon* subissent une blastotomie originelle spontanée qui a permis de suivre le développement de larves jumelles depuis la première segmentation jusqu'à l'éclosion.

¹⁾ LOEB, l. c. (Am. Journ. of Phys. 1^{er} Août. pag. 184.)

La blastotomie expérimentale a été obtenue au moyen de solutions salines ou sucrées isotoniques à 1% de NaCl. Les œufs, plongés un certain temps dans ces liquides, étaient ensuite restitués au milieu normal. Ici, on a obtenu des ébauches multiples bien caractérisées et des formations doubles parfaites. Les résultats sont encore indépendants de la nature chimique du milieu: ils relèvent de la pression osmotique. L'idée émise par LOEB se trouve donc vérifiée par l'observation directe et par l'expérimentation sur le type vertébré.

4° L'hypothèse est confirmée encore par le fait que des œufs de Téléostéens (*Leuciscus rutilus*), à segmentation discoïdale, donnent, dans les mêmes conditions, des monstres embryonnaires doubles.

5° En partant des solutions isotoniques, on précise les faits de parthénogénèse expérimentale. Qu'il s'agisse des Poissons, qu'il s'agisse des Amphibiens, le serum, diphtéritique ou non, se comporte comme une solution isotonique quelconque, saline ou sucrée; tous les éléments antérieurement utilisés (SO_4H_2 , brossage, sublimé, serum, sels divers) agissent sur la pression osmotique. Il y a des degrés dans les résultats obtenus; mais on peut les réunir tous (faits d'observation et faits d'expérience).

Il suffit d'admettre une série continue partant de la »fragmentation« (BARFURTH) pour aboutir à la parthénogénèse normale et à l'Amphigonie. La parthénogénèse provoquée, abortive ou complète (LOEB), fournit tous les intermédiaires qui relèvent du même principe physique.

Zusammenfassung.

Ein allgemein biologischer Faktor, wie der osmotische Druck der verschiedenen Plasmaarten kann und muss bei Versuchen Anhaltspunkte für die verschiedensten Aufgaben liefern.

1) Er erklärt die Widerstandsfähigkeit des *Ascaris*-Eies durch zwei wichtige Einrichtungen:

a) Vorhandensein eines häutigen Chorions nach innen von der starren Eischale, welches eine sehr vollkommene halbdurchlässige Scheidewand darstellt.

b) Äußerste Konzentration der nach innen von ihr vorhandenen Flüssigkeit, welche eine enorme osmotische Valenz besitzt.

Diese Eier, welche den Anfang der Plasmolyse in isotonischen Kochsalzlösungen von ungefähr 15% zeigen, ertragen die Wasserentziehung nicht, welche 30% desselben Salzes entspricht.

Die Widerstandsfähigkeit anderer, in dieser Beziehung klassischer Materialien (latentes Leben oder Anhydrobiose), kann auf dieselbe Weise aufgefasst werden, nämlich als erzeugt durch Eindickung der organischen flüssigen Körper, welche eine vollständige Wasserentziehung verhindert.

2) Bei der Entwicklung wirkt der Wasserverlust verzögernd und kann sie vorübergehend ganz aufheben (*Ascaris*, *Petromyzon Planeri*).

Bei *Petromyzon* stören die isotonischen Kochsalzlösungen in den Grenzen von 0,8 bis 0,5% das Vorschreiten der Furchung, und zwar erscheinen die Störungen spätestens bei den Furchen dritter Ordnung. Bei 1% NaCl ist die Entwicklung unterbrochen, bei 0,2% geht sie vollständig regelmäßig vor sich. Die erhaltenen Resultate scheinen von der chemischen Zusammensetzung der angewandten Medien unabhängig zu sein.

3) Unter speciellen, nicht genau präcisirten Bedingungen erleiden die Eier von *Petromyzon* eine eigenthümliche freiwillige Blastotomie, welche gestattet, die Entwicklung von Zwillingslarven von der ersten Furche an bis zum Auskriechen zu verfolgen. Die experimentelle Blastotomie wurde durch Salz- oder Zuckerlösungen erreicht, die 1% NaCl-Lösung isotonisch waren. Die Eier wurden nach bestimmtem Aufenthalt in den gewählten Flüssigkeiten in das normale Medium zurückversetzt. Hier wurden gut charakterisirte Mehrfachbildungen und vollkommene Doppelbildungen beobachtet.

Der von LOEB ausgesprochene Gedanke findet sich also durch die direkte Beobachtung und durch Versuche an Wirbelthieren bestätigt.

4) Die Hypothese wird dadurch gestützt, dass Teleostier-Eier mit discoïdaler Furchung (*Leuciscus rutilus*) unter denselben Bedingungen monströse Doppelbildungen ergeben.

5) Unter Anwendung von isotonischen Lösungen kann man die künstliche Parthenogenese genau studiren. Ob es sich dabei um Fische oder Amphibien handelt, immer verhält sich das Serum, sei es diphtheritisch oder nicht, wie irgend eine osmotische Salz- oder Zuckerlösung. Alle früher angewendeten Mittel (SO_4H_2 , Bürsten der Eier, Sublimat, Serum, verschiedene Salze) beeinflussen den osmotischen Druck. Die erhaltenen Resultate zeigen graduelle Verschiedenheiten; man kann sie aber alle (beobachtete und künstlich erzeugte) einheitlich auffassen.

Es genügt die Beschaffung einer kontinuierlichen Serie, die von der »Fragmentation« (BARFURTH) ausgeht, um schließlich mit der normalen Parthenogenese und der Amphigonie zu enden. Die erzeugte Parthenogenese, sei sie abortiv oder vollständig (LOEB), liefert alle Zwischenstadien, welche sich aus demselben physischen Princip ergeben.

Explication de la Planche V.

Fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6. Segmentations anormales de l'œuf de Lamproie (*Petromyzon Planeri*) dans une solution de sucre à 8%. Les œufs sont vus par la face supérieure. Les lettres *a*, *b*, *c*, *d* numérotent les sillons dans l'ordre d'apparition.

Fig. 7, 8, 9. Segmentations anormales dans le sel à 0,8%. Mêmes indications.

Fig. 10, 11, 12. Œufs immobilisés pendant 24 heures à la suite de la fécondation par des solutions de sucre à 10% (Fig. 10 et 12), ou de sel à 1% (Fig. 11); et reportés dans l'eau pure. Après 12 heures de réhydratation, un début de segmentation se produit, particulièrement net à la face inférieure. Ces œufs présentent donc leur pôle végétatif.

- Fig. 13 et 14. Ces figures montrent que, dans les cas les plus réguliers, les œufs ayant passé par les solutions ne présentent le plan de clivage horizontal qu'après le stade à 8 éléments (disposés en deux séries parallèles). La déshydratation accusée au pôle animal donne à l'ébauche une forme générale caractéristique (œufs au sucre; 8‰).
- Fig. 15 et 16. Œufs de Lamproie (*P. Planeri*) fécondés et plongés deux heures après dans le sucre à 10‰ (Fig. 15) ou dans le sel à 1‰ (Fig. 16). 18 heures plus tard, on les remet à l'eau ordinaire et chaque blastomère sert de point de départ à une ébauche distincte. Les sphérules représentent des morulas. Et ces morulas, trop nombreuses, n'atteindront pas le stade gastrulaire.
- Fig. 17, 18, 19, 20, 21. Œufs de *Leuciscus rutilus* non fécondés: fragmentation expérimentale du blastoderme (sucre à 10‰ pendant 3 heures; puis, retour à l'eau ordinaire). Blastodisque âgé de 18 heures.
- Fig. 22. Deux embryons de Lamproie (*Petromyzon Planeri*) issus d'un seul œuf (Blastotomie spontanée).
- Fig. 23, 24, 25, 26. Ebauches multiples sorties d'un œuf simple (*P. Planeri*) (Blastotomie expérimentale).
- Fig. 23, 24 et 25. Fécondation dans l'eau; 2 heures après, les œufs sont immergés dans le sucre à 10‰. Au bout de 18 heures, ils sont remis à l'eau (Fig. 23 et 25, 8 jours; Fig. 24, 10 jours).
- Fig. 26. Même traitement avec le sel à 1‰. Ebauches de 8 jours (2 blastules ont avorté; un seul embryon se développe).
- Fig. 27. Schéma classique de la segmentation (Amphibiens et Lamproie).
- Fig. 28 et 32. Segmentation régulière (pôle supérieur) des œufs de *Rana esculenta* non fécondés, après passage par le serum, le sucre à 10‰, ou le sel à 1‰ (durée de l'immersion: de 1^h à 2^h 1/2).
- Fig. 29, 30, 33. Segmentation inégale conduisant à l'émiettement précoce d'un quadrant (Fig. 30 et 33: le même œuf vu à 6 heures d'intervalle).
- Fig. 31. Fragmentation irrégulière d'un œuf dont les premiers sillons étaient, 6 heures auparavant, d'une régularité parfaite (à rapprocher de la Fig. 28).
- Fig. 34 et 35. Ebauches monstrueuses (œufs de *Leuciscus rutilus* ayant passé 1^h dans le sel à 1‰ après la fécondation).
- Fig. 36. Ebauche monstrueuse (œuf de *Leuciscus rutilus* traité de la même façon par le sucre à 10‰).
-