

## Recherches sur l'inhibition de la régénération du pharynx chez les planaires

### I. Mise en évidence d'un facteur auto-inhibiteur de la régénération du pharynx

Par CATHERINE ZILLER-SENGEL<sup>1</sup>

*Institut d'Embryologie et de Tératologie expérimentales du Collège  
de France et du C.N.R.S., Nogent-sur-Marne.*

*Directeur: Professeur Etienne Wolff*

---

L'idée que toute morphogenèse doit son accomplissement harmonieux non seulement à des facteurs positifs, les inductions, mais également à des facteurs négatifs, les actions inhibitrices, est relativement ancienne et très répandue. Elle s'appuie sur des données expérimentales aussi nombreuses que variées, tant dans le domaine de l'embryogenèse que dans celui de la régénération et chez des espèces animales très variées.

Dans les célèbres travaux de Child (1911-1929) sur les planaires, la notion de dominance est étroitement liée à celle d'inhibition. Dans un régénérat antérieur, la tête se différencie la première et exerce sur les régions avoisinantes une action inhibitrice qui les empêchera de former une ou plusieurs autres têtes. Les potentialités des néoblastes de ces régions sont limitées par la présence de la tête nouvellement régénérée. Ce phénomène d'inhibition a été mis en évidence non seulement au niveau de la tête, mais aussi de la queue et des yeux des planaires (Rand & Browne, 1926; Rand & Ellis, 1926; Schewtschenko, 1937; Brøndsted, 1955; Lender, 1955; Pentz & Seilern-Aspang, 1961).

Ces travaux relatifs au rôle de l'inhibition dans la morphogenèse régénératrice chez les planaires mettent hors de route l'existence de facteurs auto-inhibiteurs au niveau de certaines régions ou organes de l'animal. Ce sont eux qui empêcheraient la formation dans un régénérat de plusieurs organes semblables et limiteraient le phénomène de la régénération à la seule reconstruction des parties manquantes (Wolff, 1962).

Il est permis de s'interroger sur la nature de ces facteurs. D'après des expériences de Lender (1956*b*, 1960), on peut supposer qu'il s'agit de substances

<sup>1</sup> *Adresse de l'auteur: Institut d'Embryologie et de Tératologie expérimentales du Collège de France et du C.N.R.S., 49 bis, Avenue de la Belle Gabrielle, 94-Nogent-sur-Marne, France.*

diffusibles. Lender montre en effet que non seulement un cerveau greffé est capable d'inhiber la régénération du cerveau de la planaire hôte, mais qu'un extrait de têtes broyées produit le même effet. L'extrait de cerveau contient donc une substance inhibitrice de la différenciation du cerveau chez les planaires traitées.

A la suite de ces expériences Wolff (Wolff, 1962; Wolff & Lender, 1962; Wolff, Lender & Ziller-Sengel, 1964) propose une hypothèse expliquant par la présence de substances diffusibles la théorie des gradients axiaux de Child. D'après Wolff, 'les gradients physiologiques seraient dus initialement à des gradients de diffusion de substances actives' (Wolff *et al.* 1964).

Bien que de tels facteurs auto-inhibiteurs n'aient été mis en évidence jusqu'à présent que pour la tête, le cerveau, les yeux et la queue, il est tentant d'en généraliser la notion et de supposer qu'ils sont présents dans toutes les parties et tous les organes du corps.

Les expériences relatées ici ont eu pour but la mise en évidence de substances auto-inhibitrices au niveau de la zone pharyngienne et du pharynx des planaires *Dugesia lugubris*, *D. tigrina* et *Polycelis nigra*. Nous avons abordé le problème de l'inhibition du pharynx au moyen de deux méthodes expérimentales: la technique des greffes, d'une part; l'utilisation des extraits de tissus et d'organes, d'autre part.

#### INHIBITION DE LA REGENERATION DU PHARYNX PAR LA METHODE DES GREFFES

Comme nous l'avons vu, une tête greffée à une planaire peut empêcher la régénération de la tête normale et inversement. En sera-t-il de même pour le pharynx, chez une planaire possédant deux pharynx? Si l'on admet que le pharynx exerce une action auto-inhibitrice, empêchant ainsi la formation spontanée d'autres organes semblables à proximité, on doit pouvoir mettre cette inhibition en évidence, expérimentalement, chez une planaire poly-pharyngée.

Nous avons obtenu des planaires à deux pharynx en greffant un pharynx supplémentaire dans le voisinage du pharynx normal de l'hôte. Si l'un des deux pharynx vient à être excisé, l'autre pharynx empêchera-t-il le premier de se régénérer? Ou retardera-t-il sa régénération?

L'espèce utilisée est *Dugesia lugubris*. Des expériences de deux types ont été réalisées: dans une première série, le pharynx supplémentaire est greffé *en avant* du pharynx de l'hôte (Fig. 1); dans une deuxième série, il est greffé *à côté* du pharynx normal (Fig. 2).

Ces expériences ont porté sur 90 greffes réussies.

Trois types d'excisions ont été pratiquées sur ces planaires à deux pharynx: excision du pharynx normal de l'hôte; excision du pharynx greffé; excision des deux pharynx en même temps.

Les résultats suivants ont été obtenus :

(1) Le pharynx normal excisé régénère dans 100 % des cas, si le pharynx supplémentaire est greffé *en avant* du pharynx normal, c'est-à-dire si l'éloignement des deux pharynx est relativement grand.

(2) Le pharynx normal excisé ne régénère que dans 50 % des cas, si les deux pharynx sont situés l'un à *côté* de l'autre, c'est-à-dire plus proches que dans l'expérience précédente.

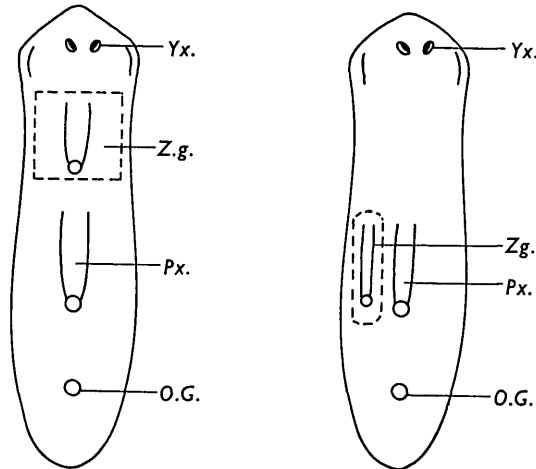


Fig. 1

Fig. 2

Fig. 1. Implantation d'une zone pharyngienne avec pharynx en avant du pharynx de l'hôte. O.G. = orifice génital; Px. = pharynx de l'hôte; Yx. = yeux; Z.g. = zone pharyngienne greffée.

Fig. 2. Implantation d'une zone pharyngienne avec pharynx à côté du pharynx de l'hôte. Conventions comme à la Fig. 1.

(3) Si le pharynx greffé est excisé, sa régénération est empêchée dans 60 à 70 % des cas, qu'il soit placé en avant ou à côté du pharynx normal.

(4) Si les deux pharynx sont excisés, il ne s'en régénère jamais qu'un seul, en position normale.

Il semble donc que la présence d'un pharynx puisse, dans certains cas, empêcher la régénération d'un autre pharynx. La régénération du pharynx greffé est plus facilement inhibée par le pharynx normal que celle du pharynx normal par le pharynx supplémentaire.

Les résultats de ces expériences sont en faveur de l'existence d'une inhibition s'exerçant au niveau du pharynx, sans toutefois la démontrer catégoriquement. Si elle existe, l'action inhibitrice exercée par le pharynx doit être relativement faible, puisqu'elle ne s'exerce pas dans tous les cas. D'autre part, son intensité semble diminuer rapidement avec la distance.

INHIBITION DE LA REGENERATION DU PHARYNX PAR  
LA METHODE DES EXTRAITS

Les expériences effectuées sur des planaires pourvues de deux pharynx permettent de penser que, dans certains cas, la régénération du pharynx peut être inhibée ou retardée par la présence d'un autre pharynx. Si, comme nous l'avons supposé, cette inhibition est due à l'activité d'une substance spécifique, la présence de cette substance doit pouvoir être décelée par la méthode des extraits. C'est cette technique qui a permis à Lender (1956*a*, *b*, 1960) de démontrer l'existence de substances organisatrices et inhibitrices dans le cerveau des planaires.

Afin de rechercher la substance inhibitrice de la différenciation du pharynx, nous avons préparé des extraits de différentes parties du corps de la planaire et nous avons étudié l'action de ces extraits sur la régénération du pharynx chez des planaires qui avaient été préalablement privées de cet organe par excision. Nous avons ainsi comparé entre eux des extraits de zones pharyngiennes (contenant ou ne contenant pas le pharynx), de pharynx seuls, de têtes et de queues. Les résultats préliminaires de ces recherches ont été exposés dans des travaux antérieurs (Wolff *et al.* 1964; Ziller-Sengel, 1965).

MATERIEL ET TECHNIQUES

Les espèces utilisées sont *Dugesia lugubris*, *Dugesia tigrina* (race sexuée et race asexuée scissipare), et *Polycelis nigra*.

1. *Opérations des planaires expérimentales*

Le pharynx est excisé à l'emporte-pièce, avec sa gaine et les tissus qui l'entourent, comme l'indique la Fig. 3. La blessure en forme de fenêtre rectangulaire ainsi pratiquée se cicatrise en 24 h. Les planaires opérées sont alors placées soit dans les solutions des divers extraits, soit dans l'eau pure, s'il s'agit des témoins. Elles sont examinées tous les 1 à 3 jours et l'on note la date d'apparition du pharynx chez chaque planaire. J'ai pris pour critère de la régénération du pharynx la formation de l'orifice buccal. Ce critère est utilisable chez *Dugesia lugubris* et *Polycelis nigra*, où la bouche apparaît comme un orifice circulaire clair sur la face ventrale sombre, pigmentée. Chez *D. tigrina*, la face ventrale est dépourvue de pigment et la bouche est absolument invisible. Par contre, en raison même de l'absence de pigmentation, le pharynx est bien visible, chez *D. tigrina*, dès son apparition et sa régénération peut être suivie facilement.

2. *Préparation des extraits*

Des extraits de 5 sortes ont été préparés: extraits de régions céphaliques; extraits de régions pharyngiennes totales; extraits de régions pharyngiennes sans pharynx (le pharynx est extirpé avant le broyage); extraits de pharynx seuls; extraits de régions caudales.

Les planaires destinées à la préparation des extraits sont toujours de la même espèce que les planaires auxquelles les extraits sont appliqués. Elles sont divisées par deux sections transversales en trois tronçons de masses sensiblement égales (Fig. 4). Pour les extraits de zones pharyngiennes sans pharynx et pour les extraits de pharynx, le pharynx est préalablement extirpé. Les différents tronçons et les pharynx sont ensuite pesés, à sec, de manière à obtenir un poids égal de têtes, de régions pharyngiennes, de queues et de pharynx dans chaque catégorie de broyats, à l'intérieur d'une même série expérimentale. Les fragments et les pharynx sont broyés dans l'eau: la quantité d'eau ajoutée est cal-

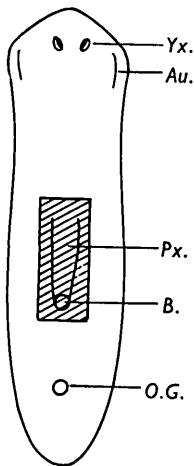


Fig. 3

Fig. 3. Excision du pharynx à l'emporte-pièce. Conventions comme à la Fig. 1.  
Au. = auricules; B. = bouche.

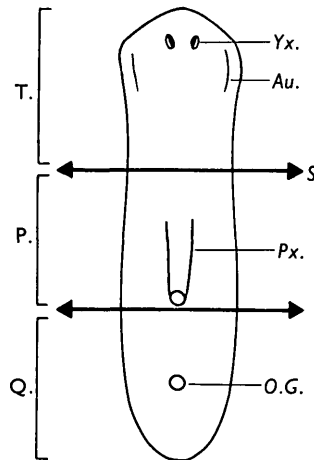


Fig. 4

Fig. 4. Planaire divisée en trois tronçons pour la préparation des extraits. Conventions comme à la Fig. 3. P. = région pharyngienne; Q. = région caudale; S. = niveaux des sections; T. = région céphalique.

culée en fonction du poids de têtes, de régions pharyngiennes, de queues ou de pharynx dont on dispose. Elle est égale à ce poids. Le broyage se fait à l'aide d'un microbroyeur en verre Pyrex à la température de 0 °C. Les broyats sont centrifugés à 10.000g pendant 10 min. Seul le surnageant est utilisé. Dans des séries préliminaires, le surnageant a été employé brut, tel qu'on le recueille après centrifugation. Par la suite, afin d'éliminer les germes infectants contenus dans les broyats, nous avons filtré les surnageants sur membrane Millipore, à pores de 0,45  $\mu$  de diamètre. Le dispositif de filtration est une chambre métallique ('Swinny adapter', Millipore) dans laquelle est fixée la membrane Millipore. Cette chambre s'adapte à une seringue qui contient le liquide à désinfecter. Celui-ci est pressé à travers la chambre, la membrane arrête les bactéries et l'on recueille à la sortie un liquide stérile.

Les extraits sont répartis dans des cristallisoirs de 10 à 15 cc d'eau (selon les

séries), où sont placées 6 à 12 planaires expérimentales. Chaque récipient contient une quantité d'extrait correspondant à 12 à 30 têtes, régions pharyngiennes ou queues broyées, et à 150 à 200 pharynx. Les doses, exprimées en concentration d'extrait dans la solution, sont très différentes d'une expérience à l'autre. Nous n'avons pas appliqué une dose de valeur constante dans toutes les expériences car il était impossible de savoir quelle était la dose optimale. Une dose faible risquait d'être inefficace, une dose forte toxique. Il était donc nécessaire de procéder empiriquement.

La durée des expériences varie de 7 à 21 jours. Les animaux en expérience sont maintenus à une température constante de 18 °C.

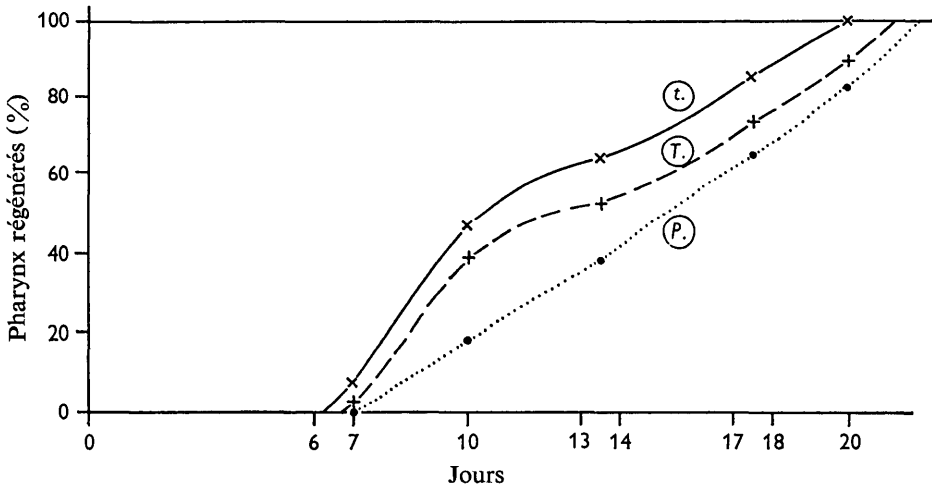


Fig. 5. Régénération du pharynx chez *Dugesia lugubris* en présence d'extraits bruts de têtes et de zones pharyngiennes. P. = extrait de zones pharyngiennes; T. = extrait de têtes; t. = témoins en eau pure. Nombre total d'animaux en début et en fin d'expérience: extrait P, 54 et 52; extrait T, 66 et 62; témoins, 47 et 45.

## RESULTATS

### I. Inhibition exercée par les extraits de zone pharyngienne et de pharynx

#### (1) Action des extraits bruts sur la régénération du pharynx

Cinq séries expérimentales préliminaires ont été réalisées avec *Dugesia lugubris*.

Nous avons étudié et comparé entre eux les effets sur la régénération du pharynx d'extraits bruts de régions pharyngiennes entières (contenant le pharynx), de têtes et de queues. Dans deux séries, l'action du broyat de régions pharyngiennes a été comparée à celle de broyats de têtes, dans trois autres séries, elle a été comparée à l'action de broyats de queues. Les conditions expérimentales étaient les mêmes dans toutes les séries et leurs résultats étaient parfaitement concordants, nous les avons donc groupés. Ils sont présentés par les Figs. 5 et 6. La concentration d'extrait dans chaque série était de 1 %. Chaque expérience a duré 21 jours.

Il ressort des courbes que la régénération du pharynx est nettement plus lente en présence des extraits de zones pharyngiennes qu'en présence des extraits céphaliques et caudaux. La différence est significative ( $P < 0,05$ ) du 7ème au 15ème jour dans la série 'têtes', et du 9ème au 17ème jour dans la série 'queues'. La zone pharyngienne semble donc contenir un facteur capable, non pas d'inhiber complètement, mais de retarder significativement la régénération du pharynx.

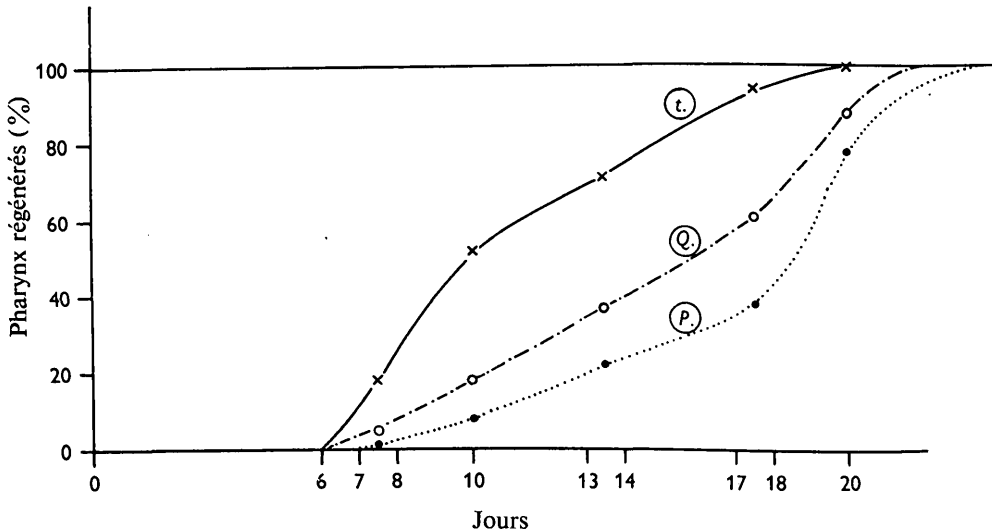


Fig. 6. Régénération du pharynx chez *Dugesia lugubris* en présence d'extraits bruts de queues et de zones pharyngiennes. P. = extrait de zones pharyngiennes; Q. = extrait de queues; t. = témoins en eau pure. Nombre total d'animaux en début et en fin d'expérience: extrait P., 87 et 85; extrait Q., 108 et 88; témoins, 71 et 70.

Il convient de remarquer toutefois que les extraits de têtes et de queues retardent notablement, eux aussi, la régénération du pharynx. La comparaison entre les courbes des témoins en eau pure et des planaires traitées par les extraits céphaliques et caudaux révèle une différence significative ( $P < 0,05$ ).

Il est donc évident que tous les extraits — pharyngiens, céphaliques et caudaux — ont un effet nocif, retardateur, sur le processus de régénération. Cette action commune à tous les extraits doit être attribuée aux infections bactériennes qui sévissent dans les solutions d'extraits à partir du troisième jour de l'expérience, et qui sont inévitables si l'on utilise des surnageants bruts, non filtrés.

Malgré ces effets toxiques non spécifiques, ces expériences préliminaires sont en faveur de l'existence d'une substance inhibitrice spécifique, contenue dans la zone pharyngienne des planaires et capable de retarder la régénération du pharynx.

2) *Action des extraits filtrés sur la régénération du pharynx: comparaison entre les extraits de régions pharyngiennes totales et de régions pharyngiennes privées de pharynx*

La technique de filtration des surnageants sur membrane Millipore nous a permis d'éliminer les bactéries des broyats et nous avons obtenu ainsi des solutions stériles. Grâce à cette méthode, l'effet toxique des extraits a été considérablement atténué de façon générale et même supprimé dans un certain nombre de séries.

Nous avons cherché à savoir si le facteur inhibiteur contenu dans la zone pharyngienne se trouve dans le pharynx lui-même ou dans les tissus qui l'entourent. A cette fin, deux types d'extraits pharyngiens ont été préparés: un extrait de zones pharyngiennes totales; et un extrait de zones pharyngiennes dont le pharynx a été excisé. On broie les fragments immédiatement après l'ablation du pharynx. L'action de ces extraits a été comparée, comme dans les expériences précédentes, à celle d'extraits de têtes et de queues, qui servent de témoins.

Deux expériences de ce type ont été effectuées, l'une avec des planaires de l'espèce *Polycelis nigra*, l'autre avec des *Dugesia tigrina* (race sexuée américaine), en raison d'une pénurie de *D. lugubris*.

(a) *Comparaison entre les extraits de zones pharyngiennes totales, de zones pharyngiennes sans pharynx, de têtes et de queues chez Polycelis nigra.* La concentration d'extrait utilisée est de 0,5 %. La durée de l'observation est de 24 jours, mais les animaux n'ont été maintenus dans les solutions d'extraits que jusqu'au 12ème jour.

Les résultats de cette expérience sont donnés par les courbes de la Fig. 7. Les effets des extraits de têtes et de queues étant semblables, nous avons groupé les résultats concernant les extraits de têtes et de queues: ils sont représentés par une seule courbe *TQ*, pour simplifier la figure.

(b) *Comparaison entre les extraits de zones pharyngiennes totales, de zones pharyngiennes sans pharynx et de queues chez Dugesia tigrina.* La concentration d'extrait utilisée est de 0,45 %. La durée de l'expérience est de 12 jours.

Les extraits de têtes et de queues ont eu des effets semblables dans toutes les séries. L'un ou l'autre, indifféremment, peut donc servir de témoin pour la comparaison avec les extraits pharyngiens. Dans cette expérience nous avons utilisé l'extrait de queues uniquement, dans les expériences ultérieures nous emploierons tantôt l'extrait céphalique, tantôt l'extrait caudal.

Les résultats de l'expérience sont donnés par les courbes de la Fig. 8.

Plusieurs faits se dégagent des résultats de ces deux séries expérimentales, effectuées sur *P. nigra* et *D. tigrina*:

(1) Les deux extraits pharyngiens (zones pharyngiennes totales et zones pharyngiennes sans pharynx) retardent la régénération du pharynx, en comparaison avec les extraits de têtes et de queues.

(2) L'effet inhibiteur de l'extrait de zones pharyngiennes sans pharynx est toutefois nettement plus marqué que celui de l'extrait de zones pharyngiennes



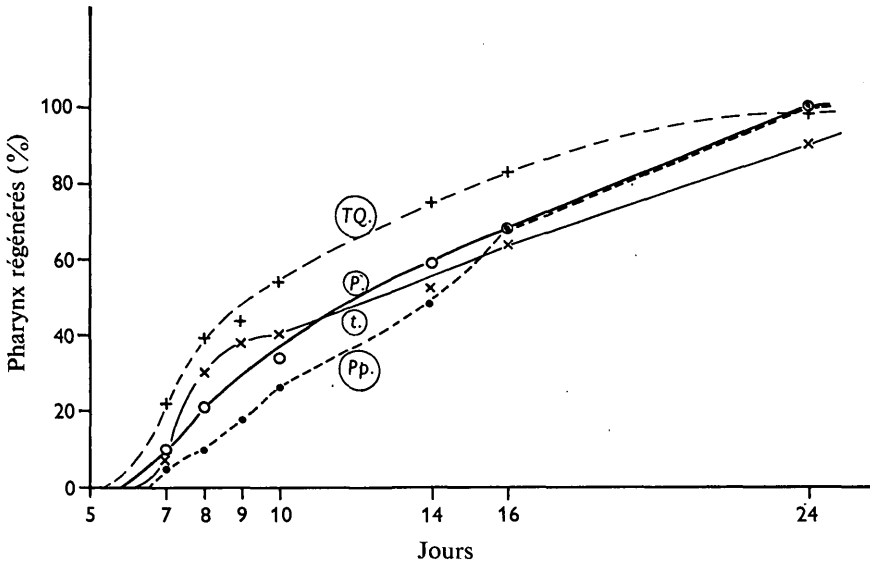


Fig. 7. Régénération du pharynx chez *Polycelis nigra* en présence d'extraits filtrés de têtes, de queues, de zones pharyngiennes totales et de zones pharyngiennes sans pharynx. P. = extrait de zones pharyngiennes totales; Pp. = extrait de zones pharyngiennes sans pharynx; TQ. = extrait de têtes et de queues; t. = témoins en eau pure. Nombre total d'animaux en début et en fin d'expérience: extrait P, 41 et 19; extrait Pp, 38 et 22; extrait TQ, 81 et 48; témoins, 43 et 33.

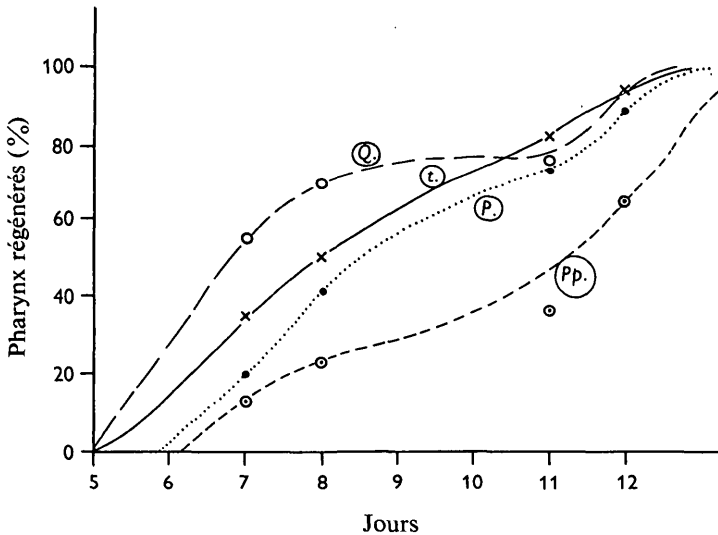


Fig. 8. Régénération du pharynx chez *Dugesia tigrina* en présence d'extraits filtrés de queues, de zones pharyngiennes totales et de zones pharyngiennes sans pharynx. P. = extrait de zones pharyngiennes totales; Pp. = extrait de zones pharyngiennes sans pharynx; Q. = extrait de queues; t. = témoins en eau pure. Nombre total d'animaux en début et en fin d'expérience: extrait P, 60 et 59; extrait Pp, 51 et 38; extrait Q, 59 et 59; témoins, 57 et 57.

totales. Il est donc permis de supposer que le facteur inhibiteur se trouve non pas dans le pharynx lui-même, mais dans les tissus qui l'entourent. L'étude d'extraits de pharynx seuls apportera une réponse définitive à cette question.

(3) Les planaires placées dans les solutions d'extraits de têtes et de queues régénèrent leur pharynx plus vite que les témoins placés dans l'eau pure. Donc, la filtration sur membrane Millipore a non seulement supprimé dans ces deux expériences l'effet toxique des broyats, mais elle a mis en évidence un fait nouveau: c'est que les extraits de têtes et de queues peuvent avoir une action stimulatrice sur le phénomène de régénération. Cet effet favorisant est probablement de nature trophique, non spécifique. Dans ce cas, il serait commun à tous les extraits, mais ne pourrait pas se manifester dans les extraits pharyngiens, où il serait masqué par l'effet inhibiteur, plus intense. Comme le montreront les expériences effectuées ultérieurement, l'action stimulatrice des extraits de têtes ou de queues est très peu constante et ne se retrouve pas dans toutes les séries. Ceci peut s'expliquer par le fait que s'il s'agit d'un facteur trophique, il doit dépendre de l'état de nutrition des planaires au moment où elles sont broyées. Bien que tous les animaux soient soumis au jeûne pendant une semaine avant la préparation des extraits, cet état est très variable.

En conclusion, il est permis d'affirmer que les tissus de la zone pharyngienne contiennent une substance inhibitrice spécifique, qui ne se trouve ni dans la tête, ni dans la queue. Appliquée à des planaires privées de leur pharynx, cette substance retarde considérablement la régénération de cet organe.

### (3) Action d'un extrait de pharynx seuls sur la régénération du pharynx

Les expériences décrites nous ont fait supposer que la substance inhibitrice ne se trouve pas dans le pharynx lui-même, mais dans les tissus avoisinants. Afin de vérifier cette hypothèse, des extraits filtrés de pharynx seuls ont été préparés et leur action sur la régénération du pharynx a été comparée à celle d'extraits filtrés de têtes et d'extraits de régions pharyngiennes.

Deux expériences de ce type ont été réalisées, l'une avec *Dugesia lugubris*, l'autre avec *Dugesia tigrina* (race sexuée). Pour l'expérience avec *D. lugubris*, la concentration d'extrait utilisée est de 0,9 %. La durée de l'expérience est de 15 jours. Dans la série effectuée avec *D. tigrina*, la concentration d'extrait est de 0,3 %. La durée de l'observation est de 20 jours. Les animaux ont été maintenus dans les solutions d'extraits jusqu'au 13ème jour.

Les résultats de ces deux expériences sont donnés par les courbes des Figs. 9 et 10.

Dans les deux cas, les planaires mises en présence de l'extrait de pharynx régénèrent presque à la même vitesse que les planaires soumises à l'action de l'extrait céphalique. La différence entre les courbes *T* et *Px* n'est pas significative ( $P > 0,05$ ). Par contre, nous voyons que dans l'expérience avec *Dugesia lugubris*, l'extrait de régions pharyngiennes sans pharynx est très fortement inhibiteur en comparaison avec l'extrait de têtes et l'extrait de pharynx.

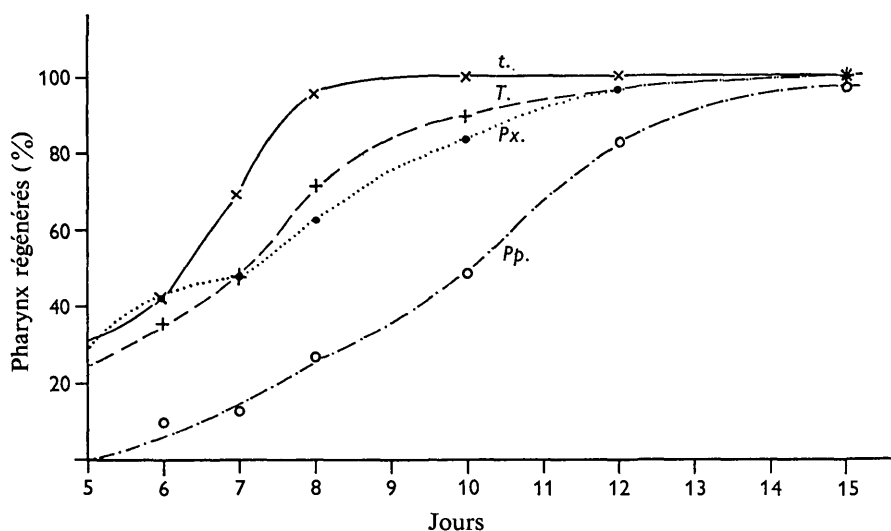


Fig. 9. Régénération du pharynx chez *Dugesia lugubris* en présence d'extraits filtrés de têtes, de pharynx et de zones pharyngiennes sans pharynx. *Pp.* = extrait de zones pharyngiennes sans pharynx; *Px.* = extrait de pharynx; *T.* = extrait de têtes; *t.* = témoins en eau pure. Nombre total d'animaux en début et en fin d'expérience: extrait *Pp.*, 37 et 35; extrait *Px.*, 31 et 31; extrait *T.*, 33 et 29; témoins, 26 et 26.

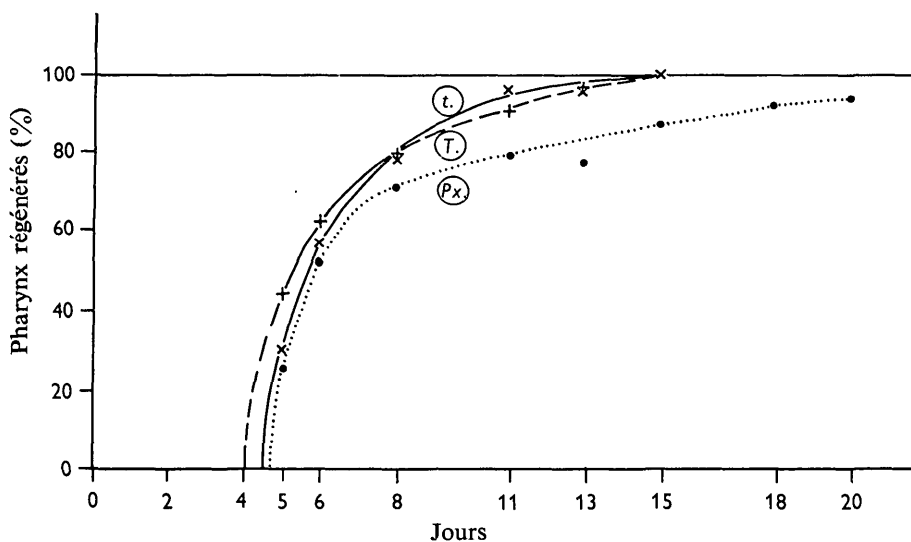


Fig. 10. Régénération du pharynx chez *Dugesia tigrina* en présence d'extraits filtrés de têtes et de pharynx. Conventions comme à la Fig. 9. Nombre total d'animaux en début et en fin d'expérience: extrait *Px.*, 48 et 48; extrait *T.*, 34 et 32; témoins, 23 et 23.

Ces expériences confirment donc l'hypothèse que nous formulions à la suite des résultats obtenus précédemment: elles prouvent que la substance inhibitrice contenue dans la zone pharyngienne ne se trouve pas dans le pharynx proprement dit, mais dans les tissus qui l'environnent.

#### (4) Applications répétées des extraits

Dans les expériences qui précèdent, les extraits n'ont été appliqués qu'une seule fois, au début de l'expérience. Or, il est probable que les extraits se dégradent rapidement à la température ordinaire et que leur action est ainsi fort réduite et de courte durée. Nous avons donc repris l'expérience de base, c'est-à-dire la comparaison entre l'extrait de zones pharyngiennes totales et l'extrait de têtes (extraits filtrés), mais en renouvelant les extraits tous les trois jours, trois fois de suite.

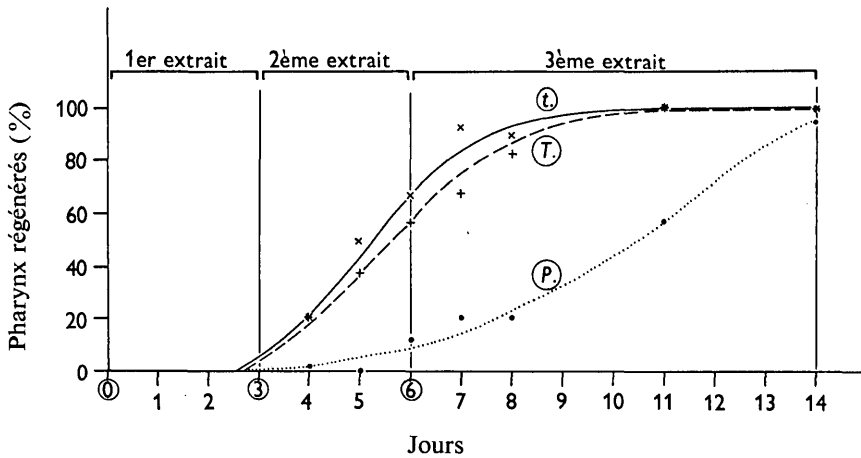


Fig. 11. Applications répétées des extraits: régénération du pharynx chez *Dugesia lugubris* en présence d'extraits filtrés de têtes et de régions pharyngiennes totales. Conventions comme à la Fig. 5. Nombre total d'animaux en début et en fin d'expérience: extrait P., 42 et 36; extrait T., 42 et 41; témoins, 42 et 42.

L'espèce utilisée est *Dugesia lugubris*. Les concentrations d'extrait appliquées sont de 0,46 %, 0,40 % et 0,40 %. La durée de l'expérience est de 14 jours.

Les résultats sont présentés par les courbes de la Fig. 11.

L'inhibition exercée par l'extrait de régions pharyngiennes est très forte: le 8ème jour, 21 % seulement des planaires soumises à l'action de l'extrait de zones pharyngiennes ont régénéré leur pharynx, alors qu'à la même date le taux de régénération est de plus de 80 % chez les témoins et en présence de l'extrait de têtes. La différence est très hautement significative ( $P < 0,01$ ) du 4ème au 12ème jour.

Dans cette série, l'action spécifique de l'extrait pharyngien est considérablement renforcée par rapport aux expériences précédentes. L'extrait est donc plus efficace lorsqu'il est administré en plusieurs fois. Il faut noter également que la

dose globale d'extrait est plus élevée dans cette expérience. Les doses partielles (0,46 %, 0,40 %, 0,40 %) sont comparables aux doses uniques appliquées dans les autres séries.

Remarquons qu'ici aussi l'effet nocif de l'extrait céphalique a été presque complètement supprimé par la filtration sur membrane Millipore. La différence entre la courbe témoin et la courbe *T* (extrait de têtes) est minime et non significative.

Malgré l'augmentation de la dose et l'application répétée des extraits, nous n'obtenons pas l'inhibition définitive de la régénération du pharynx par l'extrait pharyngien. On peut supposer que, bien que dans toutes les expériences l'effet inhibiteur de l'extrait pharyngien soit indiscutable, il n'est pourtant pas capable de contrecarrer l'action inductrice qui s'exerce dans les planaires expérimentales et qui leur permet de régénérer un pharynx. Nous obtenons la même compétition entre induction et inhibition, que nous observions déjà dans les expériences de greffes, compétition dont l'induction sort toujours victorieuse.

#### CONCLUSION

Les expériences sur l'action des extraits de régions pharyngiennes et de pharynx confirment les résultats que nous avons obtenus au cours des expériences de greffes: il existe au niveau de la zone pharyngienne des planaires un facteur inhibiteur de la régénération du pharynx. Les expériences sur les extraits permettent d'autre part d'affirmer que:

(1) La zone pharyngienne des planaires contient une substance spécifique inhibitrice, capable de retarder significativement la régénération du pharynx chez des planaires qui ont été privées de cet organe.

(2) La région céphalique et la région caudale ne contiennent pas cette substance.

(3) Cette substance ne se trouve pas dans le pharynx, mais dans les tissus qui l'entourent.

(4) Cette substance est d'autant plus efficace que la dose d'extrait est plus élevée. Des traitements répétés prolongent et renforcent son activité. Nos expériences ne nous ont pas permis de découvrir la dose optimale. En effet, dans nos conditions expérimentales, la substance n'a jamais été capable d'inhiber définitivement la régénération du pharynx, du moins lorsqu'elle est appliquée sous forme d'extrait de tissu. La technique utilisée affaiblit très certainement l'activité de la substance et il n'est pas impossible que dans d'autres conditions expérimentales on puisse obtenir une inhibition définitive du pharynx par l'action de la substance spécifique.

#### RESUME

1. Le rôle des facteurs auto-inhibiteurs dans la régénération du pharynx chez les planaires est étudié à l'aide de deux méthodes, celle des greffes et celle des extraits.

2. Le pharynx normal d'une planaire-hôte peut inhiber la régénération d'un pharynx greffé, placé en avant ou à côté du pharynx normal. Le pharynx greffé peut, dans certains cas, inhiber ou retarder la régénération du pharynx normal de l'hôte, si le pharynx greffé est placé à côté et à proximité du pharynx normal.

3. Un extrait aqueux de régions pharyngiennes retarde la régénération du pharynx chez des planaires privées de cet organe par excision.

4. Un extrait de zones pharyngiennes sans pharynx retarde également la régénération du pharynx.

5. Un extrait de pharynx seuls ne retarde pas la régénération du pharynx.

6. Les extraits des régions céphaliques et caudales sont sans effet sur la régénération du pharynx.

7. La substance spécifique inhibitrice de la régénération du pharynx qui est contenue dans les tissus de la zone pharyngienne, ne se trouve ni dans la tête, ni dans la queue, ni dans le pharynx lui-même.

8. La régénération du pharynx est d'autant plus retardée que la dose d'extrait de zones pharyngiennes est plus forte. L'action inhibitrice de l'extrait est plus marquée et plus durable si l'extrait est appliqué en plusieurs fois.

#### SUMMARY

##### *Investigation of the inhibition of the regeneration of the planarian pharynx*

1. The role of auto-regulators during pharynx-regeneration in Planaria has been studied by two methods: grafting, and the action of tissue homogenates.

2. The normal pharynx of the host may inhibit the regeneration of a grafted pharynx placed to the front or to the side of the normal pharynx. In some cases, the grafted pharynx inhibits or delays the regeneration of the normal host-pharynx, if the grafted pharynx is placed to the side of the normal pharynx and not too far from it.

3. An extract of pharyngeal regions delays the regeneration of the pharynx in Planaria in which this organ has been removed.

4. An extract of pharyngeal regions without the pharynx also delays the regeneration of the pharynx.

5. An extract of pharynges does not delay the regeneration of the pharynx.

6. Extracts of head- or tail-regions have no effect on pharynx regeneration.

7. The specific inhibitor in the tissues of the pharyngeal region is not found in the head, the tail or the pharynx itself.

8. The inhibition of pharynx regeneration is related to the concentration of the pharyngeal region extracts. The inhibitory action is more pronounced and lasts longer if the extract is applied several times.

## TRAVAUX CITES

- BRONSTED, H. V. (1955). Planarian regeneration. *Biol. Rev.* **30**, 65–126.
- CHILD, C. M. (1911). Studies on the dynamics of morphogenesis and inheritance in experimental reproduction. I. The axial gradients in *Planaria dorotocephala* as a limiting factor in regulation. *J. exp. Zool.* **10**, 265–320.
- CHILD, C. M. (1929). Physiological dominance and physiological isolation in development and reconstitution. *Arch. EntwMech. Org.* **117**, 21–66.
- LENDER, T. (1955). Sur l'inhibition de la régénération du cerveau de la Planaire *Polycelis nigra*. *C. r. heb. Séanc. Acad. Sci. Paris* **241**, 1863–5.
- LENDER, T. (1965a). Recherches expérimentales sur la nature et les propriétés de l'inducteur de la régénération des yeux de la Planaire *Polycelis nigra*. *J. Embryol. exp. Morph.* **4**, 197–216.
- LENDER, T. (1956b). L'inhibition de la régénération du cerveau des Planaires *Polycelis nigra* et *Dugesia lugubris* en présence de broyats de têtes ou de queues. *Bull. Soc. Zool. Fr.* **81**, 192–199.
- LENDER, T. (1960). L'inhibition spécifique de la différenciation du cerveau des Planaires d'eau douce en régénération. *J. Embryol. exp. Morph.* **8**, 291–301.
- PENTZ, S. & SEILERN-ASPANG, F. (1961). Die Entstehung des Augenmusters bei *Polycelis nigra* durch Wechselwirkung zwischen dem Augenhemmfeld und der Augeninduktion durch das Gehirn. *Arch. EntwMech. Org.* **153**, 75–92.
- RAND, H. W. & BROWNE, A. (1926). Inhibition of regeneration in planarians by grafting: technique of grafting. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* **12**, 575–81.
- RAND, H. W. & ELLIS, M. (1926). Inhibition of regeneration in two-headed or two-tailed planarians (*P. maculata*). *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* **12**, 570–4.
- SCHEWTSCHENKO, N. N. (1937). Die Wechselwirkung von Teilen von verschiedener physiologischer Aktivität bei Planarien. *Biol. J.* **6**, 581–7.
- WOLFF, E. (1962). Recent researches on the regeneration of Planaria. In *Regeneration*, 20th Growth Symposium, pp. 53–84. The Ronald Press Co.
- WOLFF, E. & LENDER, T. (1962). Les néoblastes et les phénomènes d'induction et d'inhibition dans la régénération des Planaires. *Ann. Biol.* **1**, 499–529.
- WOLFF, E., LENDER, T. & ZILLER-SENGEL, C. (1964). Le rôle de facteurs auto-inhibiteurs dans la régénération des Planaires. *Rev. suisse Zool.* **71**, 75–98.
- ZILLER-SENGEL, C. (1965). Inhibition de la régénération du pharynx chez les Planaires. *Proc. Regeneration in Animals*, pp. 193–201. Amsterdam: North Holland Publ. Co.

(Manuscrit reçu le 21 février 1967)