

ACTIVITÉ DE CATALASE DANS LES PREMIÈRES PHASES
EMBRYONNAIRES DES ŒUFS DE *SALMO IRIDEUS* ET
D'*ESOX LUCIUS* (*).

U. SAMMARTINO

(Institut d'Anatomie et d'Embryologie comparées de la R. Université de Roma,
dirigé par le Prof. G. COTRONEI).

(Avec 2 planches)

RÉSUMÉ DE L'A.

Avec une première série de recherches expérimentales faites sur des œufs de *Salmo irideus*, de *Barbus plebeius* et d'*Esox lucius* j'avais pu démontrer que le processus de la fécondation ne cause aucune modification sur le contenu en catalase, soit tout de suite après la pénétration du sperma, soit plusieurs heures après la fécondation.

Le phénomène que j'ai démontré, pour la première fois, dans les vertébrés, trouve une démonstration analogue dans les observations faites par AMBERG et WINTERNITZ sur quelques invertébrés.

Des expériences parallèles, faites sur des œufs vierges, obtenus en pressant l'oviduct, et non déposés dans l'eau douce, comparativement à d'autres œufs de la même femelle placés dans l'eau Marcia, me permirent d'établir que l'œuf vierge qui n'a pas été à contact avec le milieu hydrique, présente des valeurs plus élevées de catalase, et, dans quelques espèces, comme p. ex, dans le *Barbus plebeius*, remarquablement plus élevées que celles des mêmes œufs, non déposés artificiellement dans l'eau (1).

Mon assertion est d'accord avec les expériences de J. F. MANERY et L. IRVING. Ces AA., (1935), en déterminant le poids des œufs fécondés de *Salvelinus fontinalis*, trouvèrent une augmentation de 23% comparativement aux œufs vierges de la même femelle; ils en dédui-

(*) *Archivio di Farmacologia sperimentale e Scienze affini*, LX, 342-352, 1935 (XIII). Avec 2 planches. — Pour la Bibliographie voir la note complète.

(1) V. "*Archives ital. de Biol.*", XCIII, 131-140, 1935 (XVII), avec 3 figg. d.l.t..

sirent que cette augmentation était due à absorption d'eau, parce que, si l'on fait sécher les œufs, on obtient un poids à sec, qui, exprimé en % du poids des œufs, plongés dans l'eau, donne une diminution de 20 % environ. MANERY et L. IRVING observèrent, en même temps, que la détermination des chlorures donnait une concentration de 40 mille équivalents comparativement aux 52 pour Kg initials, c'est-à-dire une diminution des électrolytes, correspondant à l'augmentation du poids des œufs trempés.

Puisque les deux valeurs sont équivalentes, ces AA. en déduisent qu'il y avait une simple dilution des électrolytes à cause de l'absorption d'eau qui s'était produite.

* * *

Les recherches étant à ce point, il fallait les continuer pour étudier l'activité de la catalase dans les œufs fécondés, toujours comparativement aux œufs vierges (jusqu'à ce que ceux-ci pussent être utilisés dans les jours après la fécondation) pour voir si au moins le grand travail de la segmentation de l'œuf apporte, ou non, quelques changements dans le contenu de cet enzyme.

Les expériences ont été faites sur les œufs de *Salmo irideus* et de *Esox lucius*. Pour chaque espèce une moitié environ des œufs de chaque femelle a été fécondée, l'autre moitié a été laissée vierge; les deux lots ont été placés, au même instant, dans de l'eau de source à la t° de 10°. Tandis que pour les œufs de *Salmo irideus* nous nous sommes servis de petites caisses à incubation, pour les œufs d'*Esox lucius*, agglutinants, nous nous sommes servis d'appareils de von CHASE.

Pour la technique que nous avons employée dans les déterminations de catalase, nous renvoyons à nos recherches précédentes. Dans les tableaux ci-après on rapporte seulement les chiffres définitifs d'O₂ développé dans chaque détermination.

Mélange de réaction α : 30 cc de *Perhydrol Merck* à 10 V° + gr 1 de bouillie homogène d'œufs vierges, prélevés d'une femelle de *Salmo irideus* à 17 hh. 30' du 18-2-35.

Mélange de réaction β : 30 cc de *Perhydrol Merck* à 10 V° + 1 gr de bouillie homogène d'œufs de la même femelle, fécondés le 18-2 à 17 hh. 30'.

TABLEAU I. — Recherches sur la catalase des œufs de *Salmo irideus*, pendant les premières phases embryonnaires.

Date	Temps écoulé après la pression et la déposition dans l'eau jours	O ₂ moléculaire en cc développé par la sol. de H ₂ O ₂ avec		Facteur %	Observations
		α œufs vierges	β œufs fécondés		
18-2-35	1 ^o (h 1,30) (*)	11,6	11,6	100	
19-2-35	2 ^o	11,0	11,4	+ 103	
20-2-35	3 ^o	11,2	11,2	100	
21-2-35	4 ^o	11,2	11,2	100	À 17 h. 30' du 7 ^{ième} jour finissent les 6 jours après le commencement. Aucune trace de l'ébauche de sang. Embryon déjà soulevé sur le sac du jaune.
22-2-35	5 ^o	11,0	11,0	100	
26-2-35	6 ^o	11,4	11,2	— 103	
27-2-35	7 ^o	11,2	9,2	— 121	

(*) Toutes les déterminations ont été faites à des intervalles égaux (24 hh.) et toujours en commençant par la première qui a été faite 1 h. 30' après la pression.

TABLEAU II. — Recherches sur la catalase des œufs de *Salmo irideus* pendant les premières phases embryonnaires.

Date	Temps écoulé après la pression et la déposition dans l'eau, exprimé en jours	O ₂ moléculaire en cc développé par la sol. de H ₂ O ₂ avec		Facteur %	Observations
		α œufs vierges	β œufs fécondés		
22-3-35	1 ^o (h 9,0) (*)	3,2	3,2	100	
23-3-35	2 ^o	3,6	3,8	+ 105	Après 36 hh. l'œuf fécondé est à l'état de division avancée.
24-3-35	3 ^o	3,2	3,0	— 106	
25-3-35	4 ^o	2,4	2,4	100	Au contrôle microscopique les œufs vierges ne révèlent pas de segmentation. Les œufs fécondés présentent un large disque embryonnaire.
26-3-35	5 ^o	3,4	3,8	+ 111	
27-3-35	6 ^o	3,4	3,4	100	À 10 hh. du 5 ^{ième} jour finissent les 5 jours depuis le commencement.

(*) Toutes les déterminations ont été faites à des intervalles de 24 hh. à partir de la première qui a été faite 9 h. après la pression.

Mélange de réaction α : 20 cc de *Perhydrol Merck*, à 10 V⁰ + gr 1 de bouillie homogène d'œufs vierges de *Salmo irideus* (Tione, Bolzano), prélevés le 22-3-35, à 10 hh..

Mélange de réaction α : 20 cc de *Perhydrol Merck* à 10 V⁰ + gr 1 de bouillie homogène d'œufs de la même femelle, fécondés le 22-3-35 à 10 hh..

TABLEAU III. — Recherches sur la catalase des œufs de *Salmo irideus* pendant les premières phases embryonnaires.

Date	Temps écoulé après la pression et la déposition des œufs, exprimé en jours	O ₂ moléculaire en cc développé par la sol. de H ₂ O ₂ avec		Facteur %	Observations
		α œufs vierges	β œufs fécondés		
30-3-35	1 ⁰ (h 9,10) (*)	5,2	5,2	100	
1-4-35	2 ⁰	4,8	4,8	100	
2-4-35	3 ⁰	4,8	4,6	— 104	
3-4-35	4 ⁰	4,6	4,8	+ 104	
4-4-35	5 ⁰	4,6	4,8	+ 104	Disque germinatif remarquablement étendu, jusqu'à revêtir une partie du jaune.
5-4-35	6 ⁰	4,8	4,2	— 114	Aucune trace de l'embryon soulevé sur le sac du jaune.
6-4-35	7 ⁰	4,8	4,2	— 114	
7-4-35	8 ⁰	2,6	2,8	+ 107	L'embryon commence à peine à se soulever sur le sac du jaune.
8-4-35	9 ⁰	4,4	4,8	+ 109	
9-4-35	10 ⁰	4,8	5,2	+ 108	

(*) Toutes les déterminations ont été faites à intervalles de 24 hh., à partir de la première, qui a été faite 9 h. 10' après la pression.

Mélange de réaction α : 20 cc de *Perhydrol Merck*, à 10 V⁰ + 1 gr de bouillie homogène d'œufs vierges de *Salmo irideus* de Tione (Bolzano) prélevés le 30-3-35 à 9 hh. 50'.

Mélange de réaction β : 20 cc de *Perhydrol Merck*, à 10 V⁰ + 1 gr de bouillie homogène d'œufs de la même femelle, fécondés le 30-3-35, à 9 hh. 50'.



Fig. 1. — Expériences sur les œufs de *Salmo irideus*

Noir = Volume d'O₂ développé par 1 gr d'œufs vierges.
 Gris = Volume d'O₂ développé par 1 gr d'œufs fécondés.

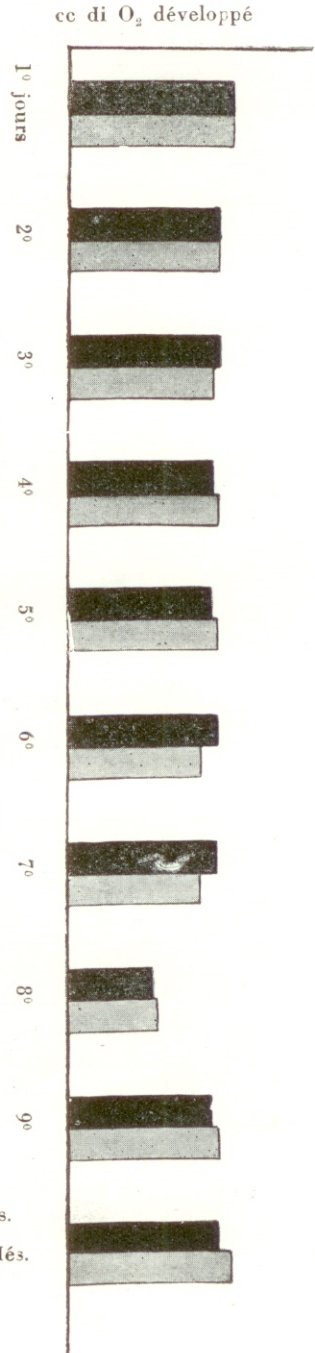


Fig. 3. — Expériences sur les œufs de *Salmo irideus*.

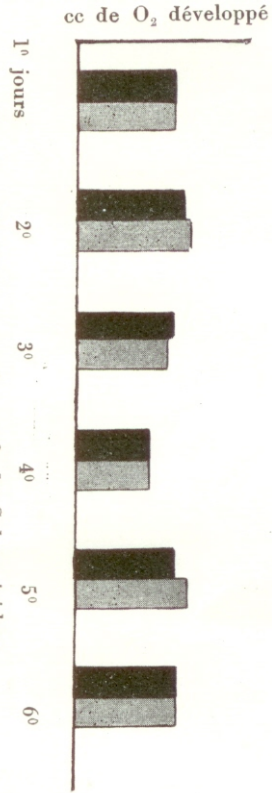


Fig. 2. — Expériences sur les œufs de *Salmo trutta*

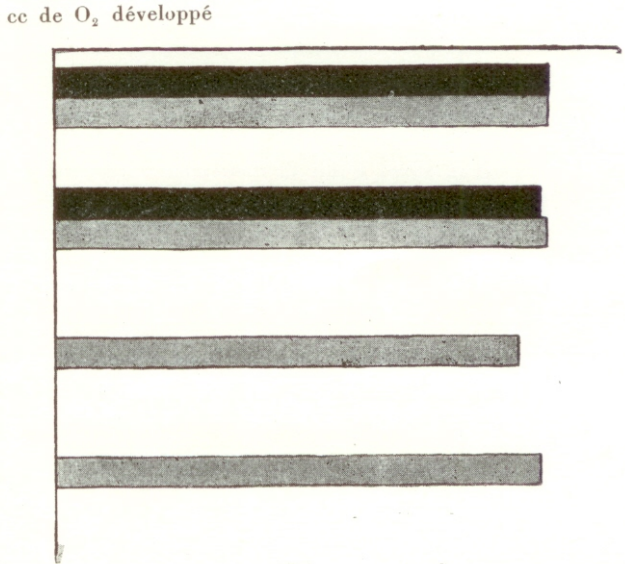


Fig. 4. — Expériences sur les œufs de *Esox lucius*

Noir = Volume d'O₂ développé par 1 gr d'œufs vierges.
Gris = Volume d'O₂ développé par 1 gr d'œufs fécondés.

Mélange de réaction α : 30 cc de *Perhydrol Merck*, à 10 V⁰ + gr 1 de bouillie homogène d'œufs vierges d'*Exos lucius* (Lac de Vico).

Mélange de réaction β : 30 cc de *Perhydrol Merck*, à 10 V⁰ + 1 gr de bouillie homogène d'œufs fécondés d'*Exos lucius* provenant de la même femelle.

TABLEAU IV. — Recherches sur la catalase des œufs d'*Esox lucius* pendant les premières phases embryonnaires.

Date	Temps écoulé depuis la pression et la déposition des œufs, exprimé en jours	O ₂ moléculaire en cc développé par la sol. de H ₂ O ₂ avec		Facteur %	Observations
		α œufs vierges	β œufs fécondés		
26-3-35	1 ^o (h 7,30 (*))	16,4	16,4	100	Disque germinatif d'environ 20 cellules.
27-3-35	2 ^o	16,4	16,5	100	Disque germinatif avec des cellules très petites qu'on ne peut pas compter.
28-3-35	3 ^o	— (**)	15,4	—	Disque germinatif très étendu sur le jaune, de manière à laisser découverte une petite portion inférieure.
29-3-35	4 ^o	—	16,4	—	Embryon qui commence à se montrer soulevé sur le sac du jaune, qui est complet.

(*) La fécondation a eu lieu le 26 mars, à 12 h. 30' et la première détermination de catalase 7 hh. après, c'est-à-dire à 19 h. 30'.

Toutes les déterminations ont été faites à intervalles de 24 hh. à partir de la première.

(**) Nous ne pouvons pas tenir compte de la valeur de cc. 10,3, que nous avons obtenue, car les œufs vierges d'*Esox lucius*, à différence des œufs de *Salmo irideus*, déjà au 2^{ième} jours se présentent pour le 60% en état de cytolysé avancée.

Considérons maintenant les résultats obtenus dans chaque expérience, pour ce qui concerne les valeurs de catalase. Dans le tab. I, où sont rapportées les premières recherches faites sur des œufs de *Salmo irideus*, nous observons que, tant avec les œufs vierges qu'avec les

œufs fécondés, de la même femelle, les valeurs d'O₂, décomposé dans toutes les déterminations, s'équivalent, ou presque. Le dégagement d'O₂ dans les 2 appareils est égal, même si, d'un jour à l'autre, se manifestent de petites oscillations. Ces oscillations, étant égales dans les deux cas (œufs vierges et œufs fécondés), excluent absolument l'influence de la segmentation de l'œuf fécondé sur la catalase.

Le développement égal continue exactement jusqu'au 6^{ième} jour, époque à laquelle les chiffres de catalase, qui ne varient plus pour les œufs vierges, baissent légèrement pour les œufs fécondés, passant de cc 11,2 à cc 9,2. A ce moment la recherche microscopique révèle les premières traces de soulèvement de l'embryon sur le sac du jaune (fig. 1, pl. I).

Cet abaissement qui, avec toute probabilité, parle en faveur d'une augmentation de l'absorption d'eau du milieu, à cause du besoin qu'en a le développement actif de l'embryon, ne s'est pas révélé dans l'expér. II dans laquelle, à cause du manque imprévu et soudain de l'eau, le matériel à expérience mourut au 5^{ième} jour (fig. 2, pl. II).

Un comportement identique présente l'expérience III, faite sur des œufs de *Salmo irideus*, provenant de Tione (prov. de Bolzano) et en une période optimum de maturation, attendu que le climat du lieu d'origine était plus froid.

Pendant cette expér. on constate l'abaissement des valeurs de catalase entre le 5^{ième} et le 6^{ième} jour; ensuite elles retournent aux valeurs initiales, et au 8^{ième} jour elles retournent identiques à celles du premier (fig. 3, pl. I).

Ce que nous venons de remarquer à propos de la catalase des œufs de *Salmo irideus* est valable aussi pour les œufs d'*Esox lucius*, la période embryonnaire desquels est remarquablement plus courte (8-9 jours) que celle du *Salmo irideus*.

Si l'on consulte le tab. IV on voit qu'O₂, scindé par les œufs vierges, et déterminé le 1^{ier} et le 2^{ième} jour (3 hh. après le commencement de la déposition artificielle dans l'eau potable), est parfaitement égal, comme quantité, à celui des œufs qui ont subi la fécondation artificielle.

Les données qui concernent les œufs vierges pendant le 3^{ième} jour de leur développement, manquent dans le tab. parce que les œufs d'*Esox lucius*, à différence des œufs de *Salmo irideus*, présentent, après 48

hh., de profonds processus de cytolyse avec une remarquable altération des valeurs de catalase. De même il est évident qu'on ne peut pas tenir compte du contenu en catalase parce que, par la trituration, on obtient une bouillie qui n'est plus homogène et qui est divisée en 2 couches: l'une séreuse et l'autre visqueuse et dense.

Quoi qu'il en soit, pendant le 3^{ième} jour, et précisément 55 hh. après la fécondation, l'abaissement des valeurs de catalase, qu'on a déjà remarqué dans les espèces précédentes, se manifeste: l'O₂ passe de cc 16,5 à cc 15,4. A l'analyse microscopique on observe les mêmes phénomènes que nous avons remarqués sur le *Salmo irideus*, c'est-à-dire la présence d'un disque germinatif très étendu sur le sac du jaune, de manière à en laisser découverte une petite portion inférieure (fig. 4, pl. II).

Comme nous l'avons déjà fait remarquer, ce phénomène est toujours constant et il est logique que cette diminution de catalase doive être attribuée à une ultérieure dilution de la concentration de l'œuf, causée, à son tour, par une nouvelle absorption d'eau.

Au 4^{ième} jour l'absorption d'O₂ scindé retourne exactement aux valeurs identiques aux déterminations précédentes, soit pour les œufs vierges, soit pour les œufs fécondés.

Le résultat de la recherche quantitative de la catalase, que nous venons d'exposer, contribue indirectement à éclaircir complètement le problème de l'échange de l'eau. De l'examen de nos tab. il résulte évident que tant l'œuf vierge que l'œuf fécondé, déposés dans l'eau douce, subissent des modifications physico-chimiques par action du milieu dans lequel ils viennent à se trouver après leur sortie de l'oviducte (¹); c'est-à-dire qu'ils absorbent des quantités identiques d'eau, démontrant ainsi clairement que la fécondation et la segmentation successive de l'œuf n'ont aucune influence, du moins pour ce qui concerne les espèces que nous avons examinées. Ce phénomène se manifeste toujours égal et constant jusqu'à des moments biologiques déterminés qui coïncident avec la période de soulèvement de l'embryon sur le sac du jaune, soulèvement qui a lieu vers le 5^{ième} ou le 6^{ième} jour dans le *Sal-*

(¹) Nous employons le terme "oviducte,, lato sensu, tout en connaissant les différentes homologues, sur cet argument, relativement aux Téléostéens et particulièrement aux Salmonides.

mo irideus, et vers le 3^{ième} jour dans l'*Esox lucius*, en rapport avec leur diverse rapidité de développement. Alors seulement, c'est-à-dire lorsque l'embryon commence à peine à se soulever sur le sac du jaune, nous constatons une légère diminution des valeurs de catalase, tandis qu'elles restent constantes dans les œufs vierges (expér. I et III). Ce comportement nous indique, par la diminution de la concentration du ferment, qu'il y a eu une modification de l'eau d'absorption et, précisément, une augmentation, exigée évidemment par les besoins de l'embryon qui est en train de se développer considérablement.

Récemment J. F. MANERY et L. IRVING se sont occupés de ce problème pour rectifier l'opinion exprimée par plusieurs expérimentateurs qui affirmaient que l'absorption d'eau devait être attribuée au processus de fécondation (RUNNSTRÖM, GRAY, SVETLOV, KRONFELD et SCHEMINZKI). MANNERY et IRVING ont étudié les changements d'eau dans les œufs de *Salmo irideus*, fécondés ou non fécondés.

Comme nous l'avons déjà dit, ces AA., moyennant la détermination du poids, on constaté que, dans les œufs de *Salmo irideus* et de *Trota spleckled*, il n'y a aucune variation de la quantité d'eau qu'ils contiennent, jusqu'à la phase qui précède l'éclosion des alevins, et que le poids sec des œufs vierges et des œufs fécondés, mesuré à des intervalles divers de temps, est égal à celui des œufs de l'oviducte. Ainsi le poids humide de l'œuf qui est de mg 63 après 9 hh. de la fécondation, est encore de 63 mg, 6 jours après, tandis que le poids sec, exprimé en pour cent du poids humide, est de 32,7 initialement, et de mg 33,1, après 6 jours. De cette manière MANERY et IRVING démontrèrent que le changement de poids dépend uniquement de l'absorption d'eau.

Cette conclusion a été confirmée par la détermination des électrolytes (chlorures) de l'œuf humide de l'oviducte et de l'œuf du même lot fécondé; en calculant les changements qui ont lieu dans les œufs, pour cent de substance sèche, on a mis en relief que, par effet de la déposition, on n'a qu'un passage d'eau avec altération de la concentration des électrolytes, sans aucune influence sur le contenu global des électrolytes.

Nous sommes parvenus à des conclusions identiques en substituant à la détermination du poids et du contenu en électrolytes, la recherche quantitative de la catalase: ce qui nous permet d'affirmer, comme les expérimentateurs que nous venons de nommer, que les œufs de *Salmo irideus* et d'*Esox lucius*, fécondés ou vierges, absorbent la même

quantité d'eau pendant la première heure après leur déposition, excluant ainsi toute influence du processus de fécondation.

Si nous considérons les résultats de nos recherches, nous pouvons ajouter que les œufs fécondés de *Salmo irideus* et d'*Esox lucius* absorbent la même quantité d'eau que les œufs vierges, non seulement pendant la première heure après leur déposition, mais aussi pendant toute la période de la segmentation, jusqu'au commencement du soulèvement de l'embryon sur le sac du jaune.

L'évidence des résultats obtenus nous autorise aux conclusions suivantes:

1) L'activité catalytique sur le peroxyde d'hydrogène des œufs de *Salmo irideus* et d'*Esox lucius*, pendant leur division en segments, est toujours égale à celle des œufs vierges qui n'ont pas encore subi de visibles processus de cytolysse.

2) La segmentation ne modifie aucunement le pouvoir catalytique des œufs sur le peroxyde d'hydrogène, jusqu'à la période embryonnaire qui précède la phase active du soulèvement de l'embryon sur le sac du jaune.

3) Tant pour les œufs de *Salmo irideus* que pour les œufs d'*Esox lucius* la fécondation, et la successive segmentation, n'exercent aucune influence sur l'absorption de l'eau du milieu extérieur.

4) L'absorption d'eau de la part de l'œuf de *Salmo irideus* et d'*Esox lucius*, pendant cette première période embryonnaire, doit être attribuée uniquement au processus de déposition.
