

ACTIVITÉ DE CATALASE PENDANT LA PÉRIODE DE CROISSANCE DES EMBRYONS 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).

RÉSUMÉ DE L'A.

(Avec 2 figg. d. l. t.)

Ayant constaté que la quantité de catalase reste constante pendant les premiers jours qui suivent la fécondation, nous nous sommes proposé de rechercher à quel moment du développement commence la synthèse de la catalase du nouvel être (attendu qu'il doit y avoir une synthèse, puisque, dans des conditions analogues, on a une grande quantité de ferment), abstraction faite du ferment préformé de la cellule œuf.

Cette recherche nous a semblé doublement intéressante soit parce qu'elle se rapporte à une période pendant laquelle on voit s'ébaucher les divers organes, soit parce qu'elle pouvait nous offrir la possibilité d'observer si cette augmentation de la synthèse de la catalase coïncidait avec l'apparition des activités peroxydasiques dans la zone des ébauches du sang que SPIRITO a pu mettre en évidence dans de nombreuses espèces d'animaux.

* * *

Comme nous l'avons admis, dans nos recherches sur la catalase pendant la période de différenciation morphologique et de croissance, nous avons tenu compte des expériences faites par SPIRITO ⁽¹⁾ sur des œufs d'espèces diverses.

(*) *Archivio di Farmacologia sperim. e Scienze affini*, LX, 372-385, 1935, avec 2 figg. d. l. t..

(¹) Ricerche sul comportamento dei fermenti embrionali. I. - Le perossidasi nei Ciclostomi, Pesci e Anfibi (*Archivio di Scienze biologiche*, XX, 442, 1934).

L'A. a commencé ses recherches sur l'ontogénèse des ferments respiratoires en tâchant de mettre en évidence des peroxydases dans les œufs et dans l'embryon *in toto*, et surtout en cherchant à établir les régions où éventuellement se localiseraient des activités peroxydasiques, même limitées. Il a étendu ses recherches à de nombreuses espèces de cyclostomes (amphibies) et, parmi les poissons, au *Salmo irideus*, à l'*Esox lucius* et au *Barbus plebeius*, se servant de la réaction colorée produite par le ferment en présence d'une solution alcoolique de benzidine ou de résine de gaïac et d'eau oxygénée dans un milieu acide. Pour ce qui concerne les diverses espèces susdites de poissons, SPIRITO parvint aux conclusions suivantes.

Tant dans les œufs mûrs vierges que dans les œufs fécondés, la réaction du bleu de benzidine apparaît seulement dans le pôle animal: elle manque dans le jaune. Successivement la coloration diffuse apparaît dans le disque embryonnaire et dans les tissus lorsque l'embryon, déjà soulevé sur le sac du jaune, présente des ébauches optiques à l'état de calices.

Indépendamment de cette coloration, dans le *Salmo irideus*, 12 jours après la fécondation, on voit se former sur le sac du jaune, des zones très intenses, par action des réactifs. SPIRITO les identifie comme des îles sanguines, car, lorsque plus tard commence la circulation, la réaction s'étend des zones indicées aux vaisseaux de l'embryon.

On observe les mêmes phénomènes dans l'*Esox lucius* et dans le *Barbus plebeius*, mais avec la différence de la plus grande précocité en rapport avec leur développement qui est plus rapide.

Après s'être assuré de la constance de la réaction des peroxydases, dans des zones toujours égales pour une espèce donnée, l'A. s'est demandé si la manifestation de la coloration, dans les ébauches du sang, était due à la formation de l'hémoglobine, ou bien à la présence de peroxydases, formées avant l'apparition du sang.

Mais, en faisant abstraction de ces résultats, ce qui nous intéresse ce sont les données relatives à l'apparition des activités de peroxydase des ébauches du sang dans l'embryon de poissons (*Salmo irideus*, *Esox lucius* et *Barbus plebeius*).

Justement pour cela, en nous basant sur ce que nous avons dit à propos des rapports possibles entre catalase et peroxydase, nous avons cru bien intéressant de rechercher le moment où commence la formation de catalase dans les embryons de *Salmo irideus* et d'*Esox lucius* pour voir

aussi s'il pouvait y avoir un rapport entre ce moment et celui que SPIRITO a trouvé à propos des activités de peroxydase des îles sanguines.

Les expériences ont été faites avec la même technique que les expériences précédentes. La détermination de l'activité de catalase a été faite sur des œufs de *Salmo irideus* et d'*Esox lucius*, et a été suivie depuis le commencement de la fécondation jusqu'à la libération des alevins de leur involucre. Naturellement on eut soin de choisir toujours, comme réactif, le perhydrol Merk, à 10 V et à $\text{pH} = 3,8$, c'est-à-dire le même dont nous nous étions servis dans nos expériences précédentes.

Dans nos recherches, publiées en 1924 avec la collaboration de PETTINELLI, nous avons étudié la courbe de la catalase pendant le développement embryonnaire du *Salmo fario*. Pour ces expériences l'Inspectorat de la Pêche nous avait fourni environ 7000 œufs, pris à plusieurs femelles. Pour cela la courbe des valeurs de catalase présentait alors des oscillations dues, sans doute, à ce que le contenu, en ferments, change des œufs d'une femelle aux œufs d'une autre femelle.

Pour éviter cet inconvénient, cette fois-ci nous nous sommes servis des œufs d'une seule femelle, obtenus en quantité suffisante pour pouvoir assurer tous les éléments de la courbe.

Nous avons fait tous les jours à la même heure la détermination de la catalase et, en outre, nous nous sommes servis des déterminations faites, dans les divers stades, par SPIRITO, pour ses recherches sur le commencement des activités de peroxydase dans les îles sanguines.

Dans le Tableau I nous rapportons les dosages de catalase faits sur les œufs d'une seule femelle de *Salmo irideus* (Tione) pendant la période qui va de la fécondation des œufs à l'éclosion des alevins.

Le Tableau II se rapporte aux expériences faites avec des œufs d'*Esox lucius*.

Ensuite, avec les éléments des deux séries de déterminations, nous avons construit les figures 1 et 2, dans lesquelles nous avons reproduit la courbe totale de catalase pour le *Salmo irideus* et pour l'*Esox lucius*, depuis la fécondation de l'œuf jusqu'à l'éclosion des alevins.

Arrêtons nous à considérer séparément les valeurs obtenues pour les 2 espèces de poissons.

TABLEAU I. — Recherches sur la catalase des œufs fécondés de *Salmo irideus* pendant la période embryonnaire de différenciation morphologique.

Date	Temps écoulé depuis l'expression et la déposition des œufs (exprimé en jour)	Oxygène moléculaire en cc, développé par la sol. de H ₂ O ₂ avec		Facteur %	Remarques
		œufs vierges	œufs fécondés		
30-3-35	1 (h. 9,10)*	5,2	5,2	100	
31-4-35	2	4,8	4,8	100	
1-4-35	3	4,8	4,8	-104	
2-4-35	4	4,8	4,6	+104	
3-4-35	5	4,6	4,8	+104	
4-4-35	6	4,6	4,8	-115	Disque germinatif considérablement étendu, qui revêt une partie du jaune.
5-4-35	7	4,8	4,8	-114	
6-4-35	8	4,8	4,2	—	
7-4-35	9	2,1	2,8	+107	On observe les premières traces de l'embryon seulement sur le sac du jaune.
8-4-35	10	4,4	4,8	+109	Embryon avec vésicule optique secondaire et formation du cristallin. Somites: environ une trentaine. Absence de la réaction de la benzidine dans la zone des peroxydases de SPIRITO.
9-4-35	11	4,8	5,2	-108	
10-4-35	12	4,2	5,2	—	
11-4-35	13	4,0	5,6	—	
12-4-35	14	—	7,2	—	On remarque, sur le sac du jaune, l'apparition de zones intensément colorées avec la benzidine. Elles correspondent aux ébauches du sang (SPIRITO).
13-4-35	15	—	4,6	—	Réaction toujours plus étendue, et plus intense que le jour avant, de la benzidine.
14-4-35	16	—	12,0	—	Cœur pulsant. Circulation en action. Pigmentation de l'œil.
15-4-35	17	—	12,8	—	L'embryon se meut facilement.
16-4-35	18	—	15,4	—	
17-4-35	19	—	18,6	—	
18-4-36	20	—	20,8	—	Embryon remarquablement grossi. Mouvements actifs.
19-4-35	21	—	28,4	—	
20-4-35	22	—	30,4	—	
21-4-35	23	—	40,4	—	
22-4-35	24	—	59,6	—	
23-4-35	25	—	64,4	—	
24-4-35	26	—	92,8	—	Éclosion des alevins.

(*) La durée de la période embryonnaire résulte effectivement de 25 jours, parce que la fécondation a été faite le 30 mars à 9 heures 10'.

TABLEAU II. — Expérience sur l'activité de catalase des œufs fécondés d'*Esox lucius* pendant la période de différenciation morphologique et de croissance.

Date	Temps écoulé depuis la déposition et la fécondation (exprimé en jours)	Quantité de O ₂ en cc développé par les		Facteur %	Remarques
		œufs vierges	œufs fécondés		
26-3-35	1 (h. 7,30)*	16,4	16,4	100	Premiers stades de segmentation.
27-3-35	2	16,4	16,5	100	Disque germinatif avec cell. très petites qu'on ne peut pas compter.
28-3-35	3	—	15,4	-106	Disque germinatif très étendu sur le jaune, de manière à en laisser à découvert une petite partie inférieure.
29-3-35	4	—	16,4	100	Embryon qui commence à se soulever sur le sac du jaune.
31-3-35	5	—	19,9	+121	Formation de la vésicule optique secondaire et du cristallin.
31-3-35	7	—	23,4	+142	Embryon encore immobile. Aucune pulsation cardiaque. Le développement de l'embryon continue. Le nombre des somites augmente.
1-4-35	6	—	26,8	+163	A 10 heures on observe le commencement des battements cardiaques. Commencement de la formation des peroxydases dans les îles hématiques (SPIRITO).
2-4-35	7	—	30,2	+184	A 10 heures on avertit la pulsation du cœur et la pigmentation des yeux est initiée.
3-4-35	8	—	33,7	+205	Sang d'une couleur rouge, visible au microscope. Yeux pigmentés. Embryon en mouvement et prêt à sortir.
4-4-35	10	—	—	—	Éclosion des alevins.

(*) La durée de la période embryonnaire est, en réalité, de 9 jours environ, parce qu'elle a été initiée le 26 Mars, à 7 heures 30'.

*
* *
*

Comme il est démontré par la courbe générale (fig. 1), 9-10 jours après le commencement de la fécondation des œufs de *Salmo irideus*,

les valeurs de O_2 retournent aux valeurs initiales. Les oscillations relatives, que l'on rencontre pendant toute cette première phase du développement, dépendent, comme nous l'avons déjà fait remarquer dans une Note précédente, de processus physico-chimiques et, particulièrement, de la quantité d'eau d'absorption.

Exactement 10 jours et 15 heures après la fécondation, les va-

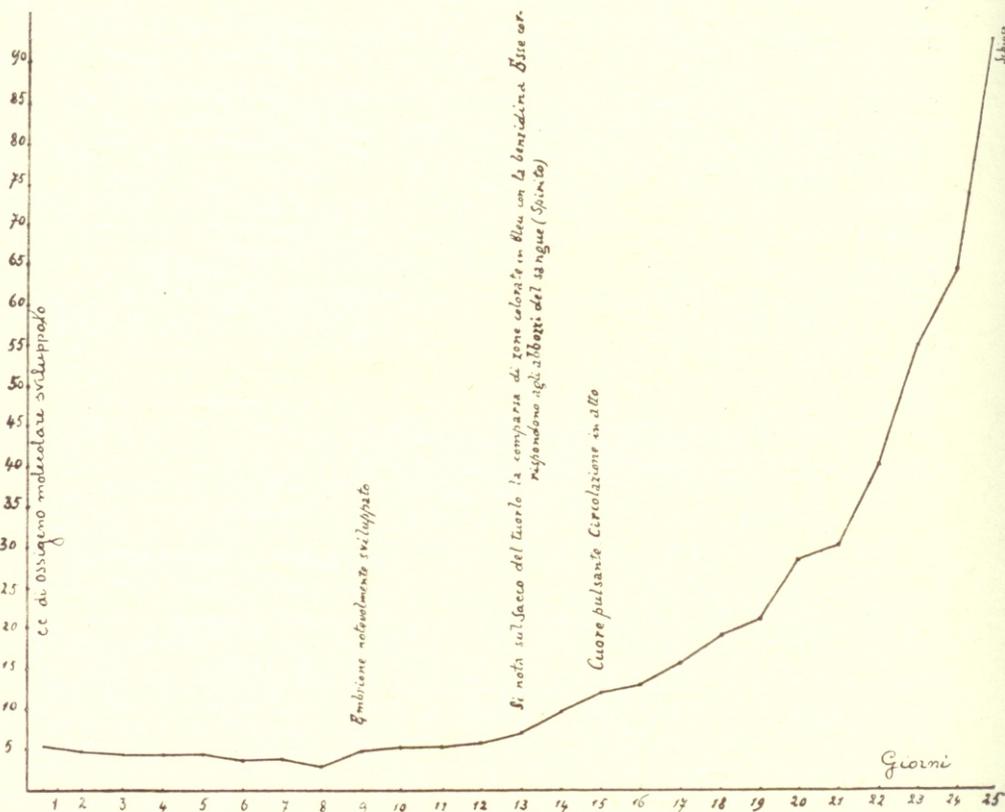


Fig. 1. Curva di catalasi sull'embrione di *Salmo irideus*

leurs de catalase sont égales aux valeurs initiales. Selon SPIRITO il s'agit de stades dans lesquels il y a déjà des peroxydases, remarquables dans l'œuf, sans que la formation des «activités de peroxydase» des ébauches du sang soit initiée. Ainsi, tandis que 1 gr de bouillie d'œuf développe 5,6 cc d' O_2 , environ 12 jours après la fécondation, elle

en donne 7,2 cc après 13 jours, et, en même temps, moyennant la réaction de la benzidine, on obtient, sur le sac du jaune, l'apparition de zone intensément colorées en bleu, zones qui correspondent à la localisation dont nous avons parlé. Il faut remarquer que l'augmentation de cc 0,6 en 24 heures ne s'éloigne pas de l'augmentation précédente qui était de cc 0,4.

Il faut bien remarquer aussi que, après le premier jour, la zone des ébauches du sang se présente intensément colorée, et qu'après 48 heures, on découvre la circulation sanguine.



Fig. 2 - Curva di catalasi dell'embrione di Osore lucius

Précisément dans cette période de 48 heures on voit s'accroître l'augmentation de l'oxygène, scindé par la solution de peroxyde, avec 2,4 cc obtenus, respectivement, 14 et 15 jours après la fécondation.

Si nous faisons abstraction de ce moment biologique très délicat, nous voyons que l'augmentation remarquable de la catalase coïncide avec le développement successif de l'embryon, et qu'elle suit une courbe grando-linéaire jusqu'au 25^{ième} jour du développement pendant le-

quel, avec l'éclosion des alevins, on constate la valeur considérable de cc 92,8 d'oxygène moléculaire (fig. 1).

On doit maintenant penser à établir s'il existe un rapport démontrable entre le commencement de la formation d'une nouvelle catalase et la formation des activités de peroxydase, trouvée par SPIRITO en relation avec les îles hématiques.

Nous avons mis une attention toute particulière dans la recherche de ce parallélisme. Le fait est que l'augmentation de l'oxygène, relativement à celui qui est dû à la catalase qui s'est préformée dans l'œuf, se manifeste en une période de temps qui, pour le *Salmo irideus*, va du 12^{ième} au 15^{ième} jour, période pendant laquelle on voit ressortir, sur le cadre du développement embryonnaire, l'apparition des activités de peroxydase des ébauches du sang, et, ensuite, son développement graduel avec le commencement de la circulation sanguine.

Ces constatations laissent entrevoir qu'il peut y avoir des rapports d'inter-dépendance entre la synthèse de la nouvelle catalase et la formation des activités de peroxydase, mises en évidence dans les îles sanguines. Le comportement de la catalase en fonction du temps de développement est analogue.

La fig. 2 nous montre une courbe de la catalase en fonction du temps du développement, courbe très brève à cause du temps que l'embryon emploie pour se développer, c'est-à-dire environ 9 jours depuis la fécondation jusqu'à l'éclosion des alevins.

Ici les valeurs d'oxygène se révèlent constantes, sauf une petite diminution au 3^{ième} jour, due à des variations hydriques qui préludent au soulèvement de l'embryon sur le sac du jaune. Pour cela les premiers jours sont caractérisés par une uniformité des valeurs d'oxygène, tant pour les œufs fécondés que pour les œufs vierges déposés dans l'eau. Au 5^{ième} jour, commence l'augmentation de la catalase, c'est-à-dire la synthèse du nouveau ferment, et, au 6^{ième}, on constate l'existence de la réaction des peroxydases.

La rapidité d'augmentation de la catalase est caractéristique dans l'*Esox lucius*. Si nous regardons attentivement la fig. 2, nous nous apercevons que le développement complet peut être divisé en deux phases nettement distinctes: la première, qui correspond au temps de segmentation de l'œufs fécondé, pendant lequel les valeurs de l'oxygène restent essentiellement inaltérées; la seconde, pendant laquelle l'acti-

tivité de catalase augmente déjà au 5^{ième} jour et continue sans interruption jusqu'à l'éclosion des alevins.

Pendant cette seconde phase, qui correspond au temps de différenciation morphologique et de croissance, se vérifie la synthèse de la nouvelle catalase, avec une augmentation journalière constante et égale. Cette augmentation de cc 3,5 de O₂ qui se révèle pour la première fois au 5^{ième} jour, continue jusqu'au 9^{ième}, c'est-à-dire jusqu'à la libération de l'embryon de l'involucre, sans subir le moindre déplacement des valeurs.

Nous nous réservons d'attendre l'occasion propice et d'avoir un plus grand nombre de données expérimentales, pour pouvoir discuter le mécanisme de synthèse de la catalase presque contemporanément à l'apparition des peroxydases de la zone embryonnaire, qui deviendra, ensuite, la zone hématique future, et nous nous bornons à énoncer les conclusions suivantes:

1) Pendant la période de différenciation embryonnaire du *Salmo irideus*, l'augmentation de la catalase, ou bien la synthèse de la nouvelle catalase, commence environ vers le 12^{ième} jour et suit une courbe arithmétique toujours progressive.

2) L'augmentation, c'est-à-dire la synthèse, commence presque parallèlement à l'apparition des peroxydases des îles hématiques.

3) La plus grande augmentation de la catalase se manifeste toujours contemporanément au commencement de la circulation; probablement elle est en rapport avec la croissance totale de l'embryon.

4) Dans l'*Exos lucius* la catalase augmente au 5^{ième} jour de développement de l'œuf, c'est-à-dire 24 heures avant l'apparition de la réaction de la peroxydase dans les îles hématiques.

5) Contrairement à ce que l'on constate dans le *Salmo irideus*, dans l'*Esox lucius*, avec la synthèse de la catalase, l'augmentation de l'O₂ décomposé marque une valeur constante jusqu'à l'éclosion des alevins, c'est-à-dire du 5^{ième} au 9^{ième} jour de leur développement.