Recherches sur l'Expression des Facteurs Létaux Héritaires chez l'Embryon de la Drosophile

VI. Une expérience de centrifugation sur l'œuf de la mouche sauvage

Tadashi Imaizumi

Institut de Zoologie, Faculté des Sciences, Université de Kioto, Kioto, Japon

Reçu le 24 janvier 1958

Au début de développement chez l'embryon de Diptère, on peut voir un phénomène caractéristique : la formation du blastoderme et des cellules polaires. D'ailleurs, dans quelques embryons létaux : Nullo-X, X 10 et X 20 chez *D. melanogaster*, on voit que la prolifération nucléaire a lieu sans l'organisation du blastoderme (Poulson 1940 et 1945 ; Ede 1956). Afin de considérer le processus de la formation du blastoderme, une observation par centrifugation a été exécutée.

Méthode et observation

Le matériel utilisé est des embryons, au stade de contraction du protoplasme, de la mouche sauvage Oregon-R.

Fig. 1. Schéma de la disposition des œufs dans l'expérience de centrifugation.

Le bloc de gélatine végétale à 2~2.5% a été utilisé afin d'orienter des œufs. Avant que l'on verse de gélatine dissoute dans le verre de centrifuge, un fragment de coton lié à un fil est enfoncé au fond, à cause de la difficulté de tirer dehors le bloc de gélatine (Fig. 1). Après que l'on ait tiré dehors le bloc et ait coupé la surface à plat formant un disque, les œufs déchorionnés sont introduits sous microscope binoculaire en orientation définie (par rapport à l'axe céphalo-caudal) dans les petits trous percés sur la surface de disque ; le bloc sur lequel ils ont été plantés est renvoyé dans le verre de centrifuge et on le centrifuge à la vitesse de 5000 r.p.m. pour 15 minutes. Après le traitement, les œufs ont été placés dans la solution de Ringer et leur développement a été observé.

Comme l'on voit dans les expériences de centrifugation d'Hegner (1908), de Pauli (1927), de Reith (1933), de Shapiro (1938), d'Howland (1941) et de Tirelli (1943) chez l'œuf d'insectes, le

contenu d'œuf est stratifié à trois parts après centrifugation : le pôle centripète est la zone lipidique, la portion moyenne est la zone cytoplasmique contenant les noyaux et le pôle centrifuge fait accumuler les granules vitellines

Figs. 2-6. Développement de l'embryon centrifugé. 2, juste après centrifugation: stratification du protoplasme. La force centrifuge a été imposée en bas dans la figure. 3, dito; la force centrifuge a été imposée en haut dans la figure. 4, le début de la formation du blastoderms: celui-ci s'est formé dans la portion moyenne de l'embryon. 5, embryon dont le blastoderme s'est formé complètement. Les cellules polaires ne se sont pas formées; comparez aussi les Figs. 6 et 7 dans le mémoire précédent. 6, embryon dont l'embryogénèse s'est presque achevée.

(Figs. 2 et 3). Dans les œufs centrifugés, le blastoderme se forme et l'embryogénèse tardive a lieu dans la solution de Ringer. Malgré qu'elle s'approche de l'achèvement les embryons ne sont pas éclos (Fig. 6). Le résultat de l'expérience est comme le Tableau 1.

Dans ce cas, la formation du blastoderme est commencée par la portion moyenne d'œuf, c'est à dire, la couche cellulaire se forme d'abord dans la périphérie de la zone protoplasmique succédant son evolution en avant et en arrière d'œuf (Fig. 4). Les cellules polaires ne se sont pas formées dans les œufs centrifugés quelle que soit l'orientation des œufs (Fig. 5).

Discussion

Chez l'embryon de *Drosophila*, on sait qu'il y a des granules spécifiques dans la couche polaire postérieure, lesquels ont été découverts par Huettner (1923) et Rabinowitz (1940). Ils sont bien tentés par Haematoxylin

ferrique et s'introduisent dans les cellules polaires lorsqu'elles se forment. Par centrifugation, il est certain que soit les granules soit le cytoplasme périphérique polaire soient transportés à la part intérieure de leur position originale, autant que la transposition de la couche postérieure soit effectuée dans les œufs centrifugés. D'abord, on doit reconnaître que ce changement structural de la couche postérieure polaire serait une cause de l'insuccès de la formation des cellules polaires chez les embryons centrifugés. Et il est impossible de préciser, dans cette observation seulement, ce que les granules sont l'élément déterminable à la formation des cellules polaires ou non, à condition que la migration des granules polaires vers l'intérieur soit inséparable au changement structural de la couche polaire par centrifugation.

Tableau 1. Développement des embryons centrifugés

Orientation d'œufs	Embryons morts sans la formation du blastoderme	Embryons morts en formant le blastoderme partiel	Blastoderme se complète; mais l'embryogénèse tardive ne s'achève pas
↑ *	14	6	16
↑	26	12	20
Orientation d'œufs	Embryogénèse a lieu, mais elle est incomplète	Embryogénèse presque s'achève	Total d'œufs
↑ *	0	4	40
↑	18	0	76

* Le signe de la flèche indique la direction de la force centrifuge.

Strasburger (1934) a reconnu l'existence d'une couche spéciale, la couche corticale ("Keimhautblastema" en allemand), dans la périphérie chez jeune embryon de *Calliphora erythrocephala*. Chez l'embryon de *Drosophila*, la couche corticale a été reconnue aussi, bien que la structure ne soit pas si claire que celle d'œuf de *Calliphora*, spécialement juste après la fécondation. Chez *Drosophila*, elle est caractérisée par sa propriété tinctoriale: elle est acidophile, à l'inverse de ce que le cytoplasme intérieur indique fort basophilie. Cette couche acidophile n'est pas distincte juste après la fécondation, mais elle devient assez claire au stade de contraction; et elle est libre aux petits granules basophiles (voir le texte de l'auteur, 1954) et aux granules vitellines (Fig. 7). Cette couche doit être mélangée au cytoplasme propre par centrifugation, mais le blastoderme se forme aussi dans le cas. Ce fait signifie que la couche acidophile est peut-être inefficace à la migration centrifuge des noyaux.

Dans quelques embryons létaux, on peut observer un phénomène qui est caractérisé la prolifération nucléale sans l'organisation du blastoderme. Le même phénomène a été indiqué dans les embryons de *Drosophila* et *Caliphora* au premier stade du développement, lorsqu'ils ont été traités par le rayon X (Sonnenblick 1940), par la centrifugation (Pauli 1927) et par les ultrasons (Counce et Selman 1955). L'effet par le traitement du rayon X doit être considéré comme le facteur léthal dominant: il est probable que l'effet de celui-ci est aussi effectif aux noyaux eux-mêmes. Au contraire, Counce et Selman ont observé que la prolifération nucléale sans différenciation, comme l'on voit dans les embryons létaux héréditaires, dans quelques embryons qui traités par les ultrasons au stade préblastodermique. Le même type est aussi observé dans quelques embryons qui traités au stade blastodermique. Counce et Selman ont noté que le traitement d'ultrasons doit donner un effet mécanique, "stirring round", dans certaine portion d'œuf sans que l'activité des noyaux soit paralysé. Donc, il est probable que les noyaux peuvent se diviser, bien qu'un effet mécanique ait donné au cytoplasme par le traitement: soit

Fig. 7. Indique la couche périphéral au stade du contraction du protoplasme.

ultrasons ou centrifugation. Mais dans le dernier cas, il faut que l'on considère une cause spéciale à l'insuccès d'organisation de l'embryogénèse initiale: le dérangement de la polarité décisive d'œuf. D'abord, rappelon que l'œuf d'insecte a été déterminé en mosaïque déjà au stade initial du développement, et que la polarité d'œuf peut donner certain effect à l'organisation désormais. Malheureusement, l'essentialité de la polarité reste inconnue encore, bien que récemment le plan de la polarité dans l'œuf de Coléoptère a découvert topographiquement par Mulnard (1954). Et puis, dans l'embryon Nullo-X, les noyaux peuvent se diviser malgré que l'activité du système respiratoire peut-être ait été inhibée. Cette chose indique que la capacité de la division nucléale peut être possédée du moins à la condition anaérobie. Et si l'activité du cytoplasme n'a pas été paralysée, le blastoderme se forme.

Quant aux discussions plus avancées, autant que l'auteur sache, il y a peu de données encore; mais en somme, la dépression de la condition physiologique cytoplasmique, soit par l'hérédité soit par le traitement mécanique, serait adopter à une raison d'impossibilité du mouvement centrifuge des noyaux ou de la formation du blastoderme.

Résumé

Le blastoderme se forme dans les embryons dont le contenu a été stratifié par centrifugation au stade de contraction du cytoplasme. Dans le cas, la formation du blastoderme est commencée par la portion moyenne : la zone cytoplasmique contenant les noyaux, succédant son évolution en avant et en arrière d'embryon. Les cellules polaires n'ont pas été formées aux embryons centrifugés. L'insuccès de la formation de ces cellules doit être le changement structural de la couche périphéral postérieure.

Travaux cités

- Counce, S. J. and Selman, G. G. 1955. J. Embryo. Exp. Morph. 3: 121-141.
Ede, D. A. 1956. Roux' Arch. Entwm. 149: 101-114.
— 1956. *ibid.* 149: 247-258.
Hegner, R. W. 1908. J. Exp. Zool. 6: 507-552.
Howland, R. B. 1941. Proc. Amer. Phil. Soc. 84: 605-616.
Huettnner, A. F. 1923. J. Morph. 37: 385-423.
Imaizumi, T. et Kimoto, Y. 1954. Protoplasma 44: 11-21.
Mulnard, J. 1954. Arch. Biol. 65: 261-314.
Pauli, M. E. 1927. Zeits. wiss. Zool. 129: 483-540.
Poulson, D. F. 1940. J. Exp. Zool. 83: 271-325.
— 1945. Amer. Nat. 79: 340-363.
Rabinowitz, M. 1940. J. Morph. 69: 1-50.
Reith, F. 1933. Roux' Arch. Entwm. 127: 238-299.
Shapiro, H. 1938. Anat Rec 72: (suppl) 101-102.
Sonnenblick, B. P. 1940. Proc. Nat. Acad. Sci. 26: 373-381.
Strasburger, E. H. 1934. Zeits. wiss. Zool. 145: 625-641.
Tirelli, M. 1943. Roux' Arch. Entwm. 142: 200-224.
-