

Recherches sur l'Expression des Facteurs létaux héréditaires chez l'Embryon de la *Drosophile*

VIII. Des Substances fluorescentes trouvées chez l'Embryon et leurs Variations au cours du Développement embryonnaire¹⁾

par

Tadashi IMAIZUMI

Institut de Zoologie, Faculté des Sciences, Université de Kyoto

(Reçu le 15 novembre 1961)

Pour établir les dessins métaboliques au cours du développement embryonnaire, par lesquels il peut être interpréter les effets létaux chez l'embryon, les variations en substances fluorescentes ont été étudiées pour la première fois par la méthode de la chromatographie sur papier. Des substances fluorescentes étaient encore mal connues chez l'embryon de *Drosophila*, malgré que plusieurs de ces substances aient les fonctions valables à la vie. On trouvera un fait intéressant dans cette recherche: c'est d'exister au cours du développement embryonnaire la "crise métabolique" qui peut être comparable à la "crise morphologique".

Matériels et Méthode

Les embryons et les œufs vierges de la souche sauvage Oregon-RS, les embryons létaux dépourvus de chromosome X (YY), et aussi ceux de quatre souches mutantes: *vermilion*, *cinnabar*, *scarlet* et *white* de *D. melanogaster* ont été utilisés pour cette recherche. Les embryons d'une souche normale chez *Bombyx mori* ont été aussi utilisés, à titre de référence. L'analyse de substances fluorescentes a été effectuée au moyen de la chromatographie sur papier bidimensionnelle (papier filtre: Toyo-Roshi No. 50).

Chez *D. melanogaster*, les œufs déchorionnés dont le nombre défini a été compté (500~1000 pour le test qualitatif, 200 par chaque stade du développement embryonnaire pour l'observation de variation) ont été pressés directement par un baton vitré sur le point original de papiers. On les ont irrigués pour la première fois par l'eau chaude (75°~80°C), à la direction de (I) dans les figures,

1) Cette recherche a été effectuée, principalement avant mars de l'an 1959, grâce à l'aide du Fonds de la recherche scientifique du Ministère de l'Instruction publique.

dans l'obscurité; après qu'ils aient été séchés complètement, on les ont irrigués secondairement, à la direction de (II) dans la chambre noire, à quelques solvants: alcool butylique normal/acide acétique glaciale/eau 4:1:5 (la phase supérieure) (Fig. 1), alcool butylique normal/alcool propylique normal/eau 2:2:1 (Fig. 2), l'eau saturée par alcool isoamylique (Fig. 3), la solution aqueuse de Na_2HPO_4 à 5% (Fig. 4), phénol/alcool butylique normal/eau 160g:30ml:100ml (la phase inférieure) (Fig. 5) et la collidine saturée par l'eau (Fig. 6). De plus, on a utilisé les solvants d'irrigation suivants: alcool propylique normal/ammoniacal à 1% 2:1 (Fig. 7) (HADORN et MITCHELL, 1951; VISCONTINI *et al.*, 1955; et VAN BAALEN *et al.*, 1957 et 1959), alcool butylique normal/acide acétique glaciale/eau 4:1:1 (Fig. 8) (VAN BAALEN *et al.*, 1957 et 1959), citrate de sodium à 4% (Fig. 9) (VAN BAALEN *et al.*, 1957 et 1959) et alcool butylique normal/acide acétique à 5N 2:1 (POLONOVSKI *et al.*, 1954). Après la sécheresse, on a examiné les papiers en lumière à l'ultraviolet filtrée le filtre UV-D₁.

Observations

Récognition des taches fluorescentes.

Huit taches fluorescentes au moins ont été reconnues dans les chromatogrammes. Elles ont été nommées Fl. a, Fl. b, Fl. c, Fl. d, Fl. e, Fl. f, Fl. g et Fl. h respectivement, comme on les voit dans les figures (Figs. 1~9). Fl. n qui représente une fluorescence jaune est une tache spéciale qu'on a pu trouver exclusivement dans les chromatogrammes aux solvants de phénol/alcool butylique/eau et de collidine; et Fl. p est une tache bleuâtre (ou violâtre) qu'on n'a pu reconnaître que dans les chromatogrammes à citrate de sodium et à Na_2HPO_4 . De plus, il y a une tache particulière qui représente une fluorescence violâtre (Fl. k) chez l'embryon de *vermilion* (Figs. 18~24); et deux taches spéciales qui représentent une fluorescence jaunâtre (Fl. l et Fl. m) chez l'embryon de *white* malgré que la nature des substances soit obscure (Figs. 39~45). Les valeurs de R_f et les couleurs fluorescentes de chaque tache sont rapportées dans le Tableau 1.

Identification des substances qui constituent chaque tache.

Trois groupes de substances fluorescentes ont été reconnus chez l'embryon de *Drosophila*: les produits dus au métabolisme de tryptophane, les dérivés de riboflavine et les ptéridines.

1. *Les produits dus au métabolisme de tryptophane.* Les substances qui appartiennent au premier groupe sont représentées aux taches de Fl. a, Fl. b et Fl. k. Voici le Tableau 2 dans lequel on a signalé les résultats des réactions à quelques réactifs: para-diméthyl-aminobenzaldéhyde (*p*-DAB), nitrate d'argent ammoniacal et ninhydrine.

Tableau 1. Les valeurs de Rf des taches à quelques solvants d'irrigation et leurs couleurs fluorescentes.
La température de chambre est 18° ~ 22°C.

Taches	Solvants fluorescents		alc. but. n./a.a., eau 4 : 1 : 5		alc. but. n., alc. prop. n., eau		alc. isoamy1.			
	Couleurs fluorescentes	distributions	valeurs moyennes	No. des tests	distributions	valeurs moyennes	No. des tests	distributions	valeurs moyennes	No. des tests
Fl. a	bleu	0.38~0.46	0.44	20	0.32~0.39	0.34	17	0.58~0.67	0.64	10
Fl. b	verdâtre	0.36~0.41	0.38	17	0.24~0.30	0.27	17	0.50~0.56	0.54	10
Fl. c	jaunâtre	0.31~0.38	0.34	20	0.21~0.29	0.25	20	0.32~0.36	0.35	10
Fl. d	jaunâtre	0.31~0.38 ⁽¹⁾	0.33	18	(0.00-0.19)~ (0.00-0.29)	—	20	(0.00-0.32)~ (0.00-0.36)	—	10
Fl. e	jaunâtre	0.14~0.25	0.19	24	0.10~0.14	0.12	20	0.48~0.51	0.49	10
Fl. f	jaune	0.10~0.16	0.13	13	0.03~0.07	0.05	19	0.78~0.86	0.82	19
Fl. g	jaune	0.04~0.08	0.05	25	0.00~0.03	0.006	20	0.86~0.92	0.89	18
Fl. h	violâtre	0.32~0.40	0.35	23	?	?	?	?	?	?
Fl. k ⁽²⁾	violâtre	0.38~0.42	0.40	6	0.26~0.35	0.32	10	0.58~0.66	0.63	12
Fl. n	jaunâtre	(coexiste avec Fl. g)	—	—	(coexiste avec Fl. g)	—	—	(coexiste avec Fl. g)	—	—
Fl. l ⁽³⁾	jaunâtre	0.30~0.34	0.32	7	?	?	?	?	?	?
Fl. m ⁽⁴⁾	jaunâtre	0.20~0.25	0.23	8	?	?	?	?	?	?
Fl. p	bleunâtre ou violâtre	(coexiste avec Fl. c)	—	—	?	?	?	?	?	?

Tableau 1. (Continuité)

Taches	Couleurs fluorescentes	Solvants			Na ₂ HPO ₄ à 5%			phénol/alc. prop. n./eau			collidine		
		distributions	valeurs moyennes	No. des tests	distributions	valeurs moyennes	No. des tests	distributions	valeurs moyennes	No. des tests	distributions	valeurs moyennes	No. des tests
Fl. a	bleu	0.60~0.68	0.64	20	0.02~0.06	0.04	14	0.42~0.47	0.44	20			
Fl. b	verdâtre	0.51~0.58	0.55	20	0.00~0.02	0.01	16	0.46~0.54	0.50	20			
Fl. c	jaunâtre	0.23~0.30	0.26	20	0.74~0.88	0.85	16	0.72~0.80	0.76	21			
Fl. d	jaunâtre	(0.00-0.20)~ (0.00-0.28)	—	20	(0.58-0.76)~ (0.62-0.85)	—	14	(0.00-0.72)~ (0.00-0.80)	—	20			
Fl. e	jaunâtre	0.38~0.43	0.41	20	0.55~0.62	0.59	15	0.56~0.62	0.60	20			
Fl. f	jaune	(coexiste avec Fl. b)	—	—	0.10~0.15	0.13	17	0.02~0.06	0.04	22			
Fl. g	jaune	(coexiste avec Fl. e)	—	—	0.19~0.28	0.23	16	0.12~0.18	0.15	25			
Fl. h	violâtre	?	?	—	?	?	—	?	?	—			
Fl. k ⁽²⁾	violâtre	0.56~0.62	0.60	10	0.02~0.05	0.04	10	0.40~0.45	0.44	10			
Fl. n	jaunâtre	(coexiste avec Fl. g)	—	—	0.35~0.45	0.41	15	0.30~0.38	0.33	20			
Fl. l ⁽³⁾	jaunâtre	?	?	—	?	?	—	?	?	—			
Fl. m ⁽⁴⁾	jaunâtre	?	?	—	?	?	—	?	?	—			
Fl. p	bleunâtre ou violâtre	0.53~0.58	0.55	10	?	?	—	?	?	—			

Tableau 1. (Continuité)

Couleurs fluorescentes Taches	alc. but. n./a. a./eau 4 : 1 : 1			alc. prop. n./ammoniaque à 1% 2 : 1			citrate de sodium à 4%			
	distributions	valeurs moyennes	No. des tests	distributions	valeurs moyennes	No. des tests	distributions	valeurs moyennes	No. des tests	
Fl. a	bleu	0.44~0.52	0.48	12	0.60~0.68	0.64	10	0.63~0.68	0.66	11
Fl. b	verdâtre	0.35~0.46	0.40	12	0.51~0.60	0.55	10	0.52~0.58	0.56	11
Fl. c	jaunâtre	0.30~0.34	0.32	10	0.48~0.52	0.50	10	0.23~0.28	0.26	11
Fl. d	jaunâtre	(0.00-0.31)~ (0.00-0.35)	—	10	(0.00-0.49)~ (0.00-0.53)	—	10	(0.00-0.24)~ (0.00-0.29)	—	11
Fl. e	jaunâtre	0.14~0.20	0.17	10	0.34~0.40	0.37	10	0.11~0.17	0.13	11
Fl. f	jaune	0.07~0.12	0.10	10	0.28~0.32	0.29	10	0.38~0.44	0.42	11
Fl. g	jaune	0.00	0.00	10	0.16~0.19	0.18	10	0.26~0.30	0.28	11
Fl. h	violâtre	0.21~0.29	0.26	9	?	?	?	?	?	?
Fl. k ⁽²⁾	violâtre	0.37~0.43	0.41	6	0.61~0.64	0.62	5	0.52~0.65	0.59	6
Fl. n	jaunâtre	(coexiste avec Fl. g)	—	—	(coexiste avec Fl. g)	—	—	(coexiste avec Fl. g)	—	—
Fl. l ⁽³⁾	jaunâtre	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Fl. m ⁽⁴⁾	jaunâtre	?	?	?	?	?	?	?	?	?
Fl. p	bleunâtre ou violâtre	(coexiste avec Fl. c)	—	—	(coexiste avec Fl. c)	—	—	0.60~0.64	0.61	11

N.B. (1). Les valeurs de Rf dans l'endroit concentré. (2). La tache spéciale chez l'embryon de *vermillion*.
(3) et (4). Les taches spéciales chez l'embryon de *ulite*.

Tableau 2. Les résultats des réactions différentielles à quelques réactifs aux trois taches: Fl. a, Fl. b et Fl. k.

Réactifs	Taches			
	Fl. a	Fl. b	Fl. k	Tryptophane
	bleu	verdâtre	violâtre	bleuâtre très faible
<i>p</i> -DAB/eau acide ⁽¹⁾	orange, ne changeant pas de couleur après 24 heures	orange, ne changeant pas de couleur après 24 heures	rose, se décolore après 24 heures	rouge violâtre, virant à vert après 24 heures
<i>p</i> -DAB/alcool acide ⁽²⁾	orange jaunâtre (même quand on ne la chauffe pas), orange après 24 heures	orange jaunâtre, virant à rose après 24 heures	orange jaunâtre, ne changeant pas de couleur après 24 heures	orange, virant à de couleur verdâtre après 24 heures
Nitrate d'argent ammoniacal ⁽³⁾	brun jaunâtre	brun jaunâtre	non-réaction	non-réaction
Réaction à ninhydrine	violet pâle	rose pâle	violet pâle	violet
Identification	kynurenine	3-hydroxy-kynurenine	un oxyde de tryptophane	

N.B. (1) D'après DALGLIESH (1952). (2). D'après REDDI *et al.* (1953). (3). Mélange de parties égales du nitrate d'argent à 0.1N et de l'ammoniaque à 5N. Après la pulvérisation de tous les réactifs ci-dessus, les chromatogrammes sont chauffés pendant quelques minutes à la température de 100°C.

En ce qui concerne le métabolisme de tryptophane, les substances fluorescentes ont été examinées chez les embryons de trois souches mutantes: *vermilion*, *cinnabar* et *scarlet* dans lesquelles on sait que le pas métabolique de tryptophane était bloquée dans une portion entre la tryptophane et la kynurenine à la première, entre la kynurenine et la 3-hydroxy-kynurenine à la seconde et dans une portion de l'autre côté passé la 3-hydroxy-kynurenine à la dernière. Lorsqu'on voit ces chromatogrammes (Figs. 18~38), on peut reconnaître que l'embryon de *vermilion* ne possède ni Fl. a ni Fl. b et qu'il possède une seule tache fluorescente violâtre, Fl. k, différemment des taches de Fl. a et Fl. b (Figs. 18~24). On peut aussi reconnaître que l'embryon de *cinnabar* ne possède qu'une tache bleue, Fl. a, manquant de la tache Fl. b (Figs. 25~31) et que celui de *scarlet* possède les deux taches de Fl. a et Fl. b l'une et l'autre de même que chez l'embryon de la mouche sauvage (Figs. 32~38). HADORN et MITCHELL (1951) ont trouvé une substance fluorescente bleue, qu'ils ont nommée Fl. 6, dans l'embryon, dans la nymphe et aussi dans l'adulte chez *D. melanogaster*. DANNEEL et ZIMMERMANN (1954) ont confirmé que la substance de Fl. 6 qui avait été trouvée par HADORN et MITCHELL est la kynurenine. Plus tard, GRAF (1957) a trouvé que la substance bleue ou la kynurenine n'est pas contenue chez l'embryon de *vermilion* par l'application de la méthode de la chromatographie sur papier.

Tableau 3. Les valeurs de Rf aux produits dus au métabolisme de tryptophane.

Substances	Solvants	alc. but. n./a. a./eau 4:1:5	alc. prop. n./ammoniaque à 1% 2:1
	Kynurenine		0.48 (BENASSI, 1951) 0.48 (DALGLIESH, 1952) 0.48 (REDDI et RODICEK, 1953) 0.50 (KIKKAWA, 1953) 0.45 (d'après BLOCK <i>et al.</i> , 1955) 0.45 (HASHIMOTO, 1957)
3-hydroxy-kynurenine		0.39 (DALGLIESH, 1952) 0.44 (KIKKAWA, 1953) 0.40 (d'après BLOCK <i>et al.</i> , 1955)	—

Ici, citon les valeurs de Rf à kynurenine et à 3-hydroxy-kynurenine (Tableau 3, aussi comparez avec le Tableau 1).

Selon les données ci-dessus, il est probable que la substance de Fl. a soit identifiée comme kynurenine, celle de Fl. b comme 3-hydroxy-kynurenine et celle de Fl. k comme un oxyde de la tryptophane qui diffère de kynurenine, bien qu'on n'ait pu identifier sa nature véritable. Enfin, nous avons confirmé, contre toute attente, que les deux produits dus au métabolisme de tryptophane : kynurenine et 3-hydroxy-kynurenine existent l'un et l'autre chez l'embryon de *white* de même que chez l'embryon de la souche sauvage (Figs. 39~45).

2. *Les dérivés de riboflavine.* D'abord, voyons le relevé (Tableau 4) dans lequel on a indiqué les valeurs de Rf à la riboflavine et ses dérivés à quelques solvants d'irrigation.

1° Sur la substance de Fl. c : Cette substance fluorescente jaunâtre est caractérisée par ce qu'elle est contenue en grande quantité chez l'embryon de *Drosophila*, mais lorsqu'on compare le Tableau 4 avec le Tableau 1, on n'y peut trouver un composé flavinique connu qui correspond à la substance de Fl. c. Donc, on a exécuté les examens suivants à des extraits des découpages de Fl. c dans les chromatogrammes à alcool butylique/acide acétique/eau et à citrate de sodium respectivement : (a), la photodécomposition alcaline, (b), l'oxydation avec permanganate alcalin (d'après VAN BAALEN *et al.*, 1957; FORREST *et al.*, 1958) et (c), l'hydrolyse acide (d'après VAN BAALEN *et al.*, 1957; FORREST *et al.*, 1958). Puis, on a examiné les produits qui ont produit de ces traitements par la méthode de la chromatographie sur papier. Dans ces examens, nous avons pu reconnaître la tache de lumiflavine à la photodécomposition et à l'oxydation avec permanganate, et la tache de FMN à l'hydrolyse acide. Il est certain, donc, que la substance de Fl. c n'est autre chose qu'une sorte d'un dérivé de la riboflavine, peut-être une flavoprotéine dans laquelle est contenu le FMN.

2° Sur la substance de Fl. d : Cette substance fluorescente jaunâtre qui

Tableau 4. Les valeurs de Rf à la riboflavine et ses dérivés à quelques solvants d'irrigation.

Solvants	alc.but.n./a.a./eau 4:1:5	Na ₂ HPO ₄ à 5%	alc. isoamyl.	alc.but.n./ alc.prop.n./eau	collidine	phénol/alc.but.n./eau
FAD	0.02 (CRAMMER, 1948)	0.35 (WHITBY, 1950)	0.90 (WHITBY, 1950 et 1952)	0.00 (WHITBY, 1950 et 1952)	0.11 (CRAMMER, 1948)	0.23 (DIMANT <i>et al.</i> , 1952)
	0.03 (WHITBY, 1950 et 1952)	0.35 (DIMANT <i>et al.</i> , 1952)			0.17 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.23 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)
	0.05 (DIMANT <i>et al.</i> , 1952)	0.34~0.38 (SHIMIZU et <i>al.</i> , 1952)				
	0.04~0.06 (SHIMIZU <i>et al.</i> , 1952)	0.40 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)				
	0.05 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)					
FAD-X	0.05 (DIMANT <i>et al.</i> , 1952)	0.35 (DIMANT <i>et al.</i> , 1952)			0.30 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.47 (DIMANT <i>et al.</i> , 1952)
	0.05 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.40 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)				0.47 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)
FMN	0.09 (CRAMMER, 1948)	0.5 (WHITBY, 1950)	0.85 (WHITBY, 1950 et 1952)	0.04 (WHITBY, 1950 et 1952)	0.04 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.17 (DIMANT <i>et al.</i> , 1952)
	0.09 (WHITBY, 1950)	0.48 (DIMANT <i>et al.</i> , 1952)				0.17 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)
	0.10 (WHITBY, 1952)	0.55~0.58 (SHIMIZU, <i>et al.</i> , 1952)				
	0.13 (DIMANT <i>et al.</i> , 1952)	0.54 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)				
	0.10~0.13 (SHIMIZU <i>et al.</i> , 1952)					
0.10 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)						
FMN-X	0.13 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.54 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)			0.15 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.50 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)
FFC (Fourth Flavine Compound)	0.13 (YAGI, 1953)	0.42 (YAGI, d'après YAGI, 1957)	0.88 (YAGI, d'après YAGI, 1957)			
Riboflavine	0.3 (CRAMMER, 1948)	0.25 (WHITBY, 1950)	0.40 (WHITBY, 1950 et 1952)	0.20 (WHITBY, 1950 et 1952)	0.5 (CRAMMER, 1948)	0.80 (DIMANT <i>et al.</i> , 1952)
	0.37 (HAIS et PEČÁKOVÁ, 1949)	0.30 (DIMANT <i>et al.</i> , 1952)			0.69 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.79 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)
	0.30 (WHITBY, 1952)	0.25~0.30 (SHIMIZU <i>et al.</i> , 1952)				
	0.30 (DIMANT <i>et al.</i> , 1952)	0.30 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)				
	0.32~0.37 (SHIMIZU <i>et al.</i> , 1952)					
0.30 (HUENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)						

Lyxoflavine : 6,7-diméthyl-9- (1-1'-lyxityl)- isoalloxazine	0.32 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.29 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	—	—	0.65 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.77 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)
Riboflavine- diphosphate	0.17 (WHITBY, 1950)	0.41 (DIMANT <i>et al.</i> , 1952)	0.84 (WHITBY, 1950)	—	—	—
Phosphate flavinique	0.09 (CRAMMER, 1948)	—	—	—	0.09 (CRAMMER, 1948)	—
Acide 6,7-diméthyl- isoalloxazine- 9-acétique	0.30 (HAIS et PEČÁKOVÁ, 1949) 0.30 (SAKURAI et FUKAMACHI, 1954)	0.43~0.45 (SAKURAI et FUKAMACHI, 1954)	—	—	—	—
Glucoside de riboflavine	0.20 (WHITBY, 1950 et 1952) 0.22 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953) 0.20~0.22 (TACHIBANA et KATAGIRI, 1955)	0.40 (WHITBY, 1950) 0.40 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953) 0.40~0.42 (TACHIBANA et KATAGIRI, 1955)	0.50 (WHITBY, 1950 et 1952) 0.48~0.50 (TACHIBANA et KATAGIRI, 1955)	0.10 (WHITBY, 1950 et 1952)	0.50 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.60 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)
Galactoside de riboflavine	0.18 (TACHIBANA, 1955)	0.43 (TACHIBANA, 1955)	0.84 (TACHIBANA, 1955)	—	—	—
Lumiflavine	0.49 (HAIS et PEČÁKOVÁ, 1949) 0.40 (WHITBY, 1950 et 1952) 0.48~0.52 (SHIMIZU <i>et al.</i> , 1952) 0.46 (YAGI, 1952) 0.48 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.13~0.18 (SHIMIZU <i>et al.</i> , 1952) 0.18 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.25 (WHITBY, 1950 et 1952)	0.30 (WHITBY, 1950 et 1952)	0.68 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.94 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)
Lumichrome	0.70 (HAIS et PEČÁKOVÁ, 1949) 0.70 (WHITBY, 1950 et 1952) 0.69~0.73 (SHIMIZU <i>et al.</i> , 1952) 0.67 (YAGI, 1952) 0.68 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.05~0.07 (SHIMIZU <i>et al.</i> , 1952) 0.07 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	0.10 (WHITBY, 1950 et 1952)	0.55 (WHITBY, 1952)	0.72 (HUEENNEKENS <i>et al.</i> , 1953)	—

Tableau 5. Les valeurs de Rf à quelques substances ptérimiques naturelles.

	couleurs fluorescentes	alc.but.n./a.a./eau 4 : 1 : 5	alc.but.n./a.a./eau 4 : 1 : 1	alc.prop.n./amm. à 1%	citrate de sodium à 4%	Na ₂ HPO ₄ à 5%
Xanthoptérine	vert jaunâtre (bleu en Na ₂ HPO ₄)	0.38 (GOOD et JOHNSON, 1949) 0.34~0.43, M=0.39 (l'auteur, donnée inédite)	0.36 (VAN BAALEN et FORREST, 1959) 0.36 (FORREST, VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1959) 0.29 (MATSUMOTO <i>et al.</i> , 1960)	0.23 (VAN BAALEN et FORREST, 1959) 0.25 (DE ALMEIDA, 1958) 0.23 (FORREST, VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1959) 0.14 (MATSUMOTO <i>et al.</i> , 1960) 0.22~0.26, M=0.24 (l'auteur, donnée inédite)	0.62 (VAN BAALEN et FORREST, 1959) 0.62 (FORREST, VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1959)	0.36~0.44, M=0.40 (l'auteur, donnée inédite)
Isoxanthoptérine	violet	0.28 (KIKKAWA, 1953) 0.37 (FORREST et MITCHELL, 1955)	0.16 (MATSUMOTO <i>et al.</i> , 1960)	0.177 (HADORN et MITCHELL, 1951) 0.20 (FORREST et MITCHELL, 1955) 0.18 (DE ALMEIDA, 1958) 0.13 (MATSUMOTO <i>et al.</i> , 1960)	---	---
Acide isoxanthoptérine- 6-carboxylique	violet	---	0.06 (MATSUMOTO <i>et al.</i> , 1960)	0.02 (MATSUMOTO <i>et al.</i> , 1960)	---	---
Leucoptérine	bleu blanchâtre	0.12 (GOOD et JOHNSON, 1949) 0.12 (KIKKAWA, 1953)	---	---	---	---
2-amino-4- hydroxyptéridine	bleu	0.45 (FORREST et MITCHELL, 1955)	0.42 (HAMA et OBIKA, 1958)	0.44 (FORREST et MITCHELL, 1955) 0.30 (VISCONTINI <i>et al.</i> , 1955) 0.35 (DE ALMEIDA, 1958) 0.45 (HAMA et OBIKA, 1958)	---	0.55 (HAMA et OBIKA, 1958)

2-amino-4-hydroxy-6-carboxyptéridine	bleu	0.12 (SHIMIZU, 1953) 0.45 (FORREST et MITCHELL, 1955)	0.23 (HAMA <i>et al.</i> , 1958) 0.22 (FORREST, VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1959) 0.12 (MATSUMOTO <i>et al.</i> , 1960)	0.373 (HADORN et MITCHELL, 1951) 0.44 (FORREST et MITCHELL, 1955) 0.09 (VISCONTINI <i>et al.</i> , 1955) 0.14 (FORREST, VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1959) 0.10 (MATSUMOTO <i>et al.</i> , 1960)	0.46 (FORREST, VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1959)	0.44 (SHIMIZU, 1953)
Bioptérine	bleu ou violâtre	—	0.31 (VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1957) 0.30 (MATSUMOTO <i>et al.</i> , 1960)	0.31 (VISCONTINI <i>et al.</i> , 1955) 0.46 (FORREST et MITCHELL, 1955) 0.46 (VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1957) 0.34 (MATSUMOTO <i>et al.</i> , 1960)	0.60 (VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1957)	—
7-hydroxybioptérine	violet	—	0.18 (MATSUMOTO <i>et al.</i> , 1960)	0.20 (MATSUMOTO <i>et al.</i> , 1960)	—	—
Glucoside de bioptérine	bleu	—	0.10 (VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1957)	0.37 (VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1957)	0.73 (VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1957)	—
2,6-diamino-4-hydroxyptéridine	jaune	—	0.26 (VAN BAALEN et FORREST, 1959)	0.27 (VAN BAALEN et FORREST, 1959)	0.37 (VAN BAALEN et FORREST, 1959)	—
Ichthyoptérine	bleu	—	0.15 (KOLTE, 1954)	—	—	—
Sépiaptérine ⁽¹⁾	jaune	0.47 (FORREST et MITCHELL, 1954) 0.36~0.40, M=0.39 ⁽³⁾ (l'auteur, donnée inédite)	—	0.437 (HADORN et MITCHELL, 1951) 0.432 (BUZZATI-TRAVERSO, 1953) 0.44 (FORREST et MITCHELL, 1954) 0.38~0.44, M=0.41 ⁽³⁾ (l'auteur, donnée inédite)	—	—
Compound A ⁽²⁾	jaune	—	0.54 (FORREST, VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1959) 0.75 (FORREST, HATFIELD <i>et al.</i> , 1959)	0.66 (FORREST, VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1959) 0.78 (FORREST, HATFIELD <i>et al.</i> , 1959)	0.27 (FORREST, VAN BAALEN <i>et al.</i> , 1959)	—

N.B. (1). Pigment jaune qui a été obtenue d'une mutant *sepia* chez *D. melanogaster*. (2). Ptéridine jaune qui a été trouvée dans une algue (FORREST, VAN BAALEN *et al.*, 1959) et dans *D. melanogaster* (FORREST, HATFIELD *et al.*, 1959). (3). Les chiffres sont les valeurs lorsqu'on a utilisé les yeux de mutant *sepia* de *D. melanogaster*.

n'est guère développée par l'eau chaude est sans doute une substance flavinique liée au substrat protéique. Chez l'embryon de *Drosophila* aussi bien que chez celui de *Bombyx*, la tache de Fl. c s'unit fréquemment avec la tache de Fl. d aux jeunes stades du développement, mais la première se sépare de la dernière suivant que le développement d'embryon s'avance; et la dernière se diminue progressivement dans la suite des stades et presque disparaît aux stades avant l'éclosion.

3° Sur la substance de Fl. e: Il est probable que cette substance jaunâtre soit la glucoside de riboflavine qui a été trouvée par WHITBY (1950) pour la première fois, suivant le comportement dans les chromatogrammes.

4° Sur les substances de Fl. f et de Fl. g: On peut identifier très net que la première substance fluorescente jaune est le flavine-mononucléotide (FMN) et la dernière substance fluorescente jaune est le flavine-adénine-dinucléotide (FAD).

5° Sur la substance de Fl. n: Cette tache a été distinguée exclusivement dans les chromatogrammes aux solvants de phénol/alcool butylique/eau et de collidine. DIMANT *et al.* (1952) et HUENNEKENS *et al.* (1953) ont trouvé par la méthode de la chromatographie sur papier l'existence d'un composé riboflavinique (FAD-X). Il peut être séparé du FAD lorsqu'on a utilisé les deux solvants ci-dessus, mais ne peut être distingué du FAD lorsqu'on a utilisé les autres solvants. Quand on compare la valeur de Rf de la tache de Fl. n à celle du FAD-X, on sait que la substance de Fl. n correspondrait au FAD-X.

Malgré que des dérivés de riboflavine soient trouvés en grande quantité chez l'embryon de *Drosophila*, ils n'existent que sous la forme d'un composé ou sous la forme liée au substrat; et en tant qu'il s'agit de la riboflavine libre, on ne l'a pu reconnaître chez les embryons de *Drosophila*.

3. *Les ptéridines.* On peut reconnaître les deux ptéridines chez l'embryon de la mouche sauvage de *D. melanogaster*: violâtre (Fl. h) et bleuâtre (ou violâtre) (Fl. p). Quant à la première, on n'a pu déterminer la nature de cette substance parce que la quantité en soit très basse. Quant à la dernière, elle coexiste avec la tache de Fl. c aux solvants à alcool butylique/acide acétique/eau et à alcool propylique/ammoniaque, mais les deux taches se séparent l'une l'autre aux solvants à citrate de sodium et à Na_2HPO_4 (voir le Tableau 1). D'ailleurs, nous avons pu confirmer que la 2-amino-4-hydroxy-6-carboxyptéridine est produite de la substance de Fl. p par l'oxydation avec permanganate et par l'hydrolyse acide lesquelles ont été décrites plus haut.

Voici le relevé (Tableau 5) dans lequel sont rapportées les valeurs de Rf à quelques substances ptéridiniques naturelles.

Par comparaison au Tableau 5 avec le Tableau 1 et selon les résultats des examens à l'oxydation et à hydrolyse ci-dessus, il semble que la substance de la tache de Fl. p soit la bioptérine: 2-amino-4-hydroxy-6(1', 2'-dihydroxypropyl)ptéridine trouvée par PATTERSON *et al.* (1955 et 1956), par FORREST et MITCHELL (1955) et par VISCONTINI *et al.* (1955). Contrairement à l'embryon

de *Drosophila*, de nombreux ptéridines sont contenues en grande quantité dans la nymphe (HADORN et MITCHELL, 1951; l'observation inédite de l'auteur), aussi bien que dans l'embryon de *Bombyx* (POLONOVSKI *et al.*, 1948, 1950 et 1954; l'observation de l'auteur, Tableau 9 et Figs. 57~68), et dans l'embryon d'*Ephestia* (EGELHAAF, 1956). Il est intéressant que peu de ptéridines existent chez l'embryon de *Drosophila*, contrairement aux embryons de *Bombyx* et d'*Ephestia*.

Variations de teneurs en substances fluorescentes au cours du développement embryonnaire.

Une seule méthode de l'irrigation bidimensionnelle a été utilisée pour cette recherche: l'eau chaude à l'un côté, alcool butylique normal/acide acétique glaciale/eau 4:1:5 à l'autre côté. L'observation a été exécutée à 200 œufs déchorionnés par chaque stade: St. 1, St. 2, St. 5, St. 7, St. 9-10, St. 13, St. 14 et St. 16 lesquels ont été décrits par l'auteur (1958). Le résultat chez les embryons de la souche sauvages Oregon-RS a été indiqué dans le Tableau 6 et aussi dans les Figs. 10~17; les résultat chez les embryons des souches mutantes de *vermilion*, *cinnabar*, *scarlet* et *white* ont été indiqués dans le Tableau 7 et aussi dans les Figs. 18~45 (18~24 pour *vermilion*, 25~31 pour *cinnabar*, 32~38 pour *scarlet* et 39~45 pour *white*).

1. *Sur les variations de teneurs en produits dus au métabolisme de tryptophane chez les embryons des souches sauvage et mutantes.* De toutes les taches fluorescentes au cours du développement embryonnaire de la mouche sauvage, les variations les plus évidentes sont trouvées dans les taches de kynurenine et de 3-hydroxy-kynurenine (Tab. 6 et Figs. 10~17). La première, la tache fluorescente bleue, s'accumule chez les embryons au cours du développement initial, donnant le sommet de son accumulation au Stade 2 (où le protoplasme s'est

Tableau 6. Variations en substances fluorescentes au cours du développement embryonnaire de la souche sauvage.

Stades Taches	St. 1	St. 2	St. 5	St. 7	St. 9-10	St. 13	St. 14	St. 16
Fl. a	###	####	###	###	##	+	+	+(±)
Fl. b	—	—	—	—	+(±)	+	+	###
Fl. c	+	+	+	+	+	+	+	##
Fl. d	+	##	##	+	+	+(±)	—(±)	—
Fl. e	+	+	+	+	+(#)	+	+	+
Fl. f	+	+	+	+(±)	±	±	±	±
Fl. g	+	+	+	+	+	##	##	##
Fl. h	+	+	+	+	+(±)	+(±)	+(±)	+(±)

N.B. #### : la quantité est extrêmement abondante, ### : très abondante, ## : assez abondante, # : abondante, + : moins abondante, + : basse, ± : très basse et — : on ne la peut voir; il est de même des tableaux suivants.

Tableau 7. Variations en substances fluorescentes au cours du développement embryonnaire dans les souches mutantes : *vermilion*, *cinnabar*, *scarlet* et *white*.L'embryon de *vermilion*.

Taches \ Stades	Stades						
	St. 2	St. 5	St. 7	St. 9-10	St. 13	St. 14	St. 16
Fl. a	—	—	—	—	—	—	—
Fl. b	—	—	—	—	—	—	—
Fl. k	‡	‡	‡	+	±(—)	±(—)	±(—)

Les autres taches comportent toute comme celles de la souche sauvage.

L'embryon de *cinnabar*.

Taches \ Stades	Stades						
	St. 2	St. 5	St. 7	St. 9-10	St. 13	St. 14	St. 16
Fl. a							
Fl. b	—	—	—	—	—	—	—

Les autres taches comportent toute comme celles de la souche sauvage.

L'embryon de *scarlet*.

Taches \ Stades	Stades						
	St. 2	St. 5	St. 7	St. 9-10	St. 13	St. 14	St. 16
Fl. a					‡	+	+(±)
Fl. b	—	—	—	+(±)	‡		

Les autres taches comportent toute comme celles de la souche sauvage.

L'embryon de *white*.

Taches \ Stades	Stades						
	St. 2	St. 5	St. 7	St. 9-10	St. 13	St. 14	St. 16
Fl. a					‡	+(±)	±
Fl. b	—	—	—	±	+	‡	

Les autres taches, excepté les taches spéciales de Fl. l et Fl. m, comportent toute comme celles de la souche sauvage.

contracté) et au Stade 5 (où le blastoderme s'est formé), mais elle décroît peu à peu après les Stades 7, 9 ou 10 et disparaît à peu près au Stade 16 (juste avant l'éclosion), comme l'affirmation de GRAF (1957). Au contraire, la dernière, la tache fluorescente verdâtre, n'existe pas chez les embryons aux premières stades, et apparaît pour la première fois aux Stades 9-10 (le moment où l'involution de tête et la clôture dorsale s'exercent), puis elle s'accroît de plus en plus selon

que le développement s'avance. Par conséquent, le moment où la kynurenine commence à être convertie à la 3-hydroxy-kynurenine ou le moment où l'oxydase à kynurenine commence à agir serait aux Stades 9-10 au moins.

Cette conversion s'exerce chez l'embryon de *scarlet* (Tab. 7 et Figs. 32~38) de même que chez l'embryon de la souche sauvage; mais ni la diminution de kynurenine ni l'apparition de 3-hydroxy-kynurenine ne s'exercent chez l'embryon de *cinnabar* et la première alors continue de s'accumuler durant tous les stades du développement embryonnaire (Tab. 7 et Figs. 25~31). Chez l'embryon de *vermilion*, ni kynurenine ni 3-hydroxy-kynurenine n'existent l'une et l'autre, et en échange de celles, on peut voir une tache fluorescente violâtre, un oxyde de tryptophane, dont la quantité est basse en comparaison de celle de kynurenine. Cette tache se diminue vers les stades finals (Tab. 7 et Figs. 18~24). Quant à la conversion de kynurenine à 3-hydroxy-kynurenine, nous devons additionner un fait intéressant: c'est le cas dans le souche mutante *white*. Chez l'embryon de *white*, les deux taches de kynurenine et de 3-hydroxy-kynurenine existent l'une et l'autre, et la première est convertie à la dernière aux Stades 9-10 comme la conversion chez l'embryon de la mouche sauvage. C'est à dire, chez l'embryon de *white*, les modes d'accumulation et de diminution aux deux produits dus au métabolisme de tryptophane sont identiques à ceux chez l'embryon de la mouche sauvage (Tab. 8 et Figs. 39~45). Il est à remarquer, donc, que le processus métabolique de tryptophane (tryptophane \rightarrow kynurenine \rightarrow 3-hydroxy-kynurenine au moins) s'exécute aussi chez l'embryon de la souche *white*.

2. *Sur les variations de teneurs en dérivés de riboflavine et de ptéridine chez les embryons des souches sauvage et mutantes.* Ce qu'on voit la variation la plus nette de toutes les taches de dérivés riboflaviniques chez l'embryon de la souche sauvage, c'est la tache de Fl. d qui sans doute un composé riboflavinique lié au substrat protéique (Tab. 6 et Figs. 10~17). Elle s'accumule chez les embryons aux premiers stades, puis se diminue graduellement avec l'avance du développement et enfin disparaît avant l'éclosion. On peut aussi voir que la tache de FMN a une tendance à diminution vers les stades finals d'embryon. Au contraire, les taches de FAD, de glucoside de riboflavine et aussi de flavoprotéine (Fl. c) s'accumulent dans les embryons jusqu'aux stades finals. Chez les embryons de *vermilion*, de *cinnabar* et de *scarlet*, les variations aux dérivés de riboflavine ne diffèrent pas de celles chez l'embryon de la mouche sauvage (Tab. 7 et Figs. 18~38); chez l'embryon de *white*, les variations sont aussi presque d'accord avec celles chez l'embryon de la mouche sauvage, mais dans cet embryon il y a les deux taches spéciales qui représentent une fluorescence jaunâtre (Tab. 7 et Figs. 39~45). Enfin, quant aux substances ptéridiniques les quantités sont si basses que nous n'avons pu s'assurer leur variation.

3. *Sur les variations de teneurs en quelques substances chez l'embryon létal de Nullo-X et chez l'œuf vierge d'Oregon-RS.* Voici le Tableau 8 dans lequel on indique les résultats des variations en substances fluorescentes chez l'embryon

Tableau 8. Variations en substances fluorescentes chez l'embryon létal de YY et chez l'œuf vierge d'Oregon-RS.

L'embryon létal de Nullo-X.

Stades	L-1	L-2	L-5	L-7	L-13	L-24
Fl. a	≡	≡≡≡	≡≡≡	≡	≡≡≡	≡
Fl. b	—	—	—	—	—	—
Fl. c	≡	≡	≡	≡	≡	±
Fl. d	≡	≡	≡	≡	≡	—
Fl. e	+	+	+	—	—	—
Fl. f	+	+	+	±	±	±
Fl. g	+	+	+	+	+	+
Fl. h	+	+	+	±	±	—

L'œuf vierge d'Oregon-RS.

Stades	V-1	V-2	V-5	V-7	V-13
Fl. a	≡	≡≡≡	≡≡≡	≡≡≡	≡≡≡
Fl. b	—	—	—	—	—
Fl. c	+	+	+	+	+
Fl. d	≡	≡	≡	≡	≡
Fl. e	+	+(±)	±	—	—
Fl. f	+	+(±)	±	—	—
Fl. g	+	+	+	+(±)	+(±)
Fl. h	+	+	+	±	±

N.B. L-1, L-2, L-5, L-7 et L-13 correspondent respectivement aux St. 1, St. 2, St. 5, St. 7 et St. 13 chez l'embryon de la mouche sauvage dans le passage du temps, L-24 est l'embryon mort de YY à 24 heures après la ponte; il en est de même de l'œuf vierge.

létal de Nullo-X (aussi voir les Figs. 46~51) et chez l'œuf vierge d'Oregon (aussi voir les Figs. 52~56).

On peut voir, dans le Tableau 8, que toutes les substances ont une tendance de décroissance avec le temps, sauf le cas de kynurenine. Chez l'embryon de YY et aussi chez l'œuf vierge, la kynurenine se relève de nouveau à un temps 15 heures environ après la ponte, L-13 et V-13, lequel correspond au Stade 13 de l'embryon normal (Figs. 50 et 56). Chez l'embryon létal de YY, comme le développement embryonnaire est empêché au stade de la formation du blastoderme, le contenu d'embryon était déjà détruit à ce temps, L-13, mais y s'accumule la seule kynurenine. Chez l'œuf vierge, cette substance n'indique pas la diminution évidente avec le temps, mais elle s'accumule de nouveau au temps de V-13. On n'a pu trouver alors la 3-hydroxy-kynurenine soit chez l'embryon létal

soit chez l'œuf vierge. De tous les dérivés de riboflavine, les taches qu'on peut voir nettement jusqu'aux stades finals chez l'embryon létal aussi bien que chez l'œuf vierge sont les deux taches de FAD et de Fl. c, spécialement la première est bien réservée même chez l'embryon mort de YY à 24 heures après la ponte.

Discussion

1. Sur la "crise métabolique" au cours du développement embryonnaire.

Dans les observations ci-dessus, on pourra reconnaître qu'il existe une "crise métabolique" au cours du développement embryonnaire. On a déjà vu qu'il y a une crise où la kynurenine est convertie à la 3-hydroxy-kynurenine chez l'embryon sain de la mouche sauvage, de *scarlet* et aussi de *white*, et que cette crise coïncide au stade où s'exercent l'involution de tête et la clôture dorsale au point de vue morphologique. Le stade du raccourcissement d'embryon constitue un point critique au cours du développement embryonnaire et les facteurs létaux chez l'embryon de *Drosophila* indiquent un sommet de leur manifestation à ce stade. En ce qui concerne la variation de teneur en kynurenine, on peut voir son accumulation nouvelle au temps de L-13 chez l'embryon létal de YY et au temps de V-13 dans l'œuf vierge, bien que le contenu de ces embryons déjà fût détruit à ce temps (Figs. 50 et 56). La 3-hydroxy-kynurenine n'a pas été trouvée dans ces cas, même dans l'embryon mort à 24 heures (Fig. 51) (le temps indispensable à la ponte de l'élosion est 18~20 heures chez l'embryon normal de *D. melanogaster* à 25°C). L'accumulation de kynurenine dans les deux cas ci-dessus, donc, semble baser à l'oxydation naturelle de tryptophane soi-même. Malgré que la kynurenine s'accumule sans conversion à 3-hydroxy-kynurenine au temps de L-13 chez l'embryon létal et de V-13 dans l'œuf vierge, la première était déjà convertie à la dernière au temps de St. 13 chez l'embryon sain. Et aussi, la première substance s'accumule durant tous les stades du développement sans conversion à la dernière substance dans l'embryon sain de la souche *cinnabar* dans laquelle le pas métabolique de tryptophane était bloquée entre la kynurenine et la 3-hydroxy-kynurenine. Ces faits prouveront qu'une "crise métabolique" où la kynurenine est convertie à la 3-hydroxy-kynurenine existe au stade du raccourcissement d'embryon (St. 9-10) chez *Drosophila*. La kynurenine est contenue en grande quantité chez l'embryon de *Drosophila* déjà juste après la fécondation, bien que le sommet de son accumulation soit indiqué au Stade 2 ou au Stade 5. GRAF (1957) a reconnu que la kynurenine est accumulée dans l'ovaire de *Drosophila*. Nous avons aussi confirmé ce fait et reconnu, de plus, qu'un peu de tryptophane libre existe dans l'ovaire mais peu de celle-ci est trouvée dans l'embryon. Par conséquent, il semble que la conversion de tryptophane à kynurenine s'exerce généralement dans l'ovaire.

Dans l'embryon de souches normales de *Bombus*, la 3-hydroxy-kynurenine

est contenue du début à la fin du développement embryonnaire, mais alors peu de kynurenine est trouvée (KIKKAWA, 1951 et 1953; et l'auteur, Tab. 10 et Figs. 57~68).

2. *Sur la teneur en riboflavine chez l'embryon de Drosophila et sur le problème concernant la transformation de riboflavine à ptéridine.*

CHARCONNET-HARDING et CALET (1951) ont mesuré la teneur en trois vitamines du groupe B (riboflavine, niacine et acide pantothénique) de *D. melanogaster* en fonction des stades du développement par la méthode microbiologique classique. En ce qui concerne la teneur en riboflavine, ces auteurs n'ont pas rapporté ce dosage dans l'embryon, bien que des dosages aient été enregistrés dans la vie larvaire et dans la vie nymphale (larves 2 jours 2.1 γ , larves 5 jours 10.7 γ , pupes blanches 16.7 γ et pupes noires 13.2 γ pour 1000 individus). Contrairement à l'observation de ces auteurs, nous avons pu apercevoir que des substances riboflaviniques sont contenues en assez grande quantité chez l'embryon de *D. melanogaster*, soit dans la souche sauvage soit dans des souches mutantes (en flavines, la quantité minimale qu'on peut vérifier sur le chromatogramme est 0.01 γ , d'après CRAMMER, 1948). La méthode d'extraction à des vitamines qui ont été mesurées par ces auteurs n'ont été pas expliquée dans le mémoire, mais il nous semble que la donnée négative en riboflavine chez l'embryon de *Drosophila* soit due à ce que cette substance a été perdue au cours du procédé de l'extraction. La riboflavine est contenue en grande quantité chez l'embryon de *Drosophila*, mais la quantité en substances ptériniques qui y est contenue est très basse durant tous les stades du développement embryonnaire, différemment de l'embryon de *Bombyx*, quoique l'existence de précurseurs de ptéridines ne fût pas établie encore chez l'embryon de *Drosophila*. Chez l'embryon de *Bombyx*, plusieurs dérivés ptériniques sont accumulés en grande quantité, élevant leurs dosages des stades initiaux aux stades finals du développement embryonnaire, par contre la quantité en riboflavine est plutôt basse.

Ici, ajoutons le Tableau 9, à titre de référence, dans lequel les variations en substances fluorescentes ont été indiquées chez l'embryon dans une souche normale de *Bombyx mori*, lequel a été forcé de faire à non-diapause artificielle. Et leurs chromatogrammes ont été indiqués dans les Figs. 57~68. Quatre œufs ont été pressés toutes les 24 heures sur le point original de papiers et les matériels ont été développés par l'eau chaude (75°~80°C) à l'un côté et par alcool butylique normal/acide acétique glaciale/eau 4:1:5 à l'autre côté, comme les expériences précédentes qui ont été exécutées aux embryons de *Drosophila*.

L'identification préliminaire de chaque tache qu'on a pu observer chez l'embryon de *Bombyx* a été rapportée dans le Tableau 10.

En examinant l'extrait d'embryons de ver à soie au cours du développement embryonnaire, POLONOVSKI et BUSNEL, en 1950, ont rapporté que la teneur en ptéridines décroît progressivement au cours du développement, tandis qu'aug-

Tableau 9. Variations en substances fluorescentes chez l'embryon d'une souche normale de *Bombyx mori*.

Stades Taches	Embryon 30 minutes après la ponte	Embryon 1 jour	Embryon 2 jours	Embryon 3 jours	Embryon 4 jours	Embryon 5 jours
Fl. 1						
Fl. 2					++	++
Fl. 3	+	++	++			
Fl. 4	—	—	+	+	++	++
Fl. 5	+	—	—	—	+	++
Fl. 6	++	+	±	±	±	+
Fl. 7	—	—	—(±)	—(±)	±	+
Fl. 8	bleu verdâtre pâle	dito	dito	dito	violet pâle	violet
Fl. 9	—	—	—	—	—	—
Fl. 10	—	—	—	—	—	—

Stades Taches	Embryon 6 jours	Embryon 7 jours	Embryon 8 jours	Embryon 9 jours	Embryon 10 jours	11 jours, larve juste après l'éclosion
Fl. 1				++	—(±)	—
Fl. 2	++	++	++	++	++	++
Fl. 3						
Fl. 4						
Fl. 5	++				++	—
Fl. 6	+	+	+	++		
Fl. 7	+	+	+	+	++	++
Fl. 8	dito	violet pâle	dito	violet	dito	violet pâle
Fl. 9	—	—	—	+(±)	+	—
Fl. 10	—	—	—	—	—	

N.B. Le temps de la blastokinèse s'introduit entre l'embryon 4 jours et l'embryon 5 jours. La couleur de fluorescence dans la tache de Fl. 8 se change avec le progrès du développement embryonnaire.

mente au contraire le taux de riboflavine, de façon inversement proportionnelle de 1~2% à la ponte jusqu'à 30%/g à l'éclosion. Chez l'embryon de ver à soie, dans notre observation, les taches qui manifestent la variation la plus évidente sont Fl. 1 et Fl. 2 qui représentent les substances flaviniques et aussi Fl. 3 et Fl. 4 qui représentent les substances ptéridiniques. Vraiment, les comportements de variation dans ces deux groupes sont opposés l'un l'autre: les deux premières, les substances flaviniques, décroissent selon que le développement s'avance, au contraire les deux dernières, les substances ptéridiniques, y s'accroissent avec

Tableau 10. Identification préliminaire de chaque tache dans les chromatogrammes à l'embryon de *Bombyx*. La température de chambre est $28^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

	Couleurs fluorescentes	Valeurs de Rf à but./a.a./eau 4:1:5	Comparaison aux taches chez l'embryon de <i>Drosophila</i>	Identification
Fl. 1	jaune	0.36~0.42 (0.48)*	Fl. d	un composé riboflavinique
Fl. 2	jaune	0.36~0.43 (0.47)*	Fl. c	une flavoprotéine
Fl. 3	violet	0.30~0.36	—	isoxanthoptérine ou fluoresciance-B
Fl. 4	bleu blanchâtre	0.16~0.22	—	leucoptérine
Fl. 5	verdâtre	0.44~0.54 (0.58)*	Fl. b	3-hydroxy-kynurenine
Fl. 6	jaune	0.15~0.19	Fl. f	FMN
Fl. 7	jaune	0.04~0.08	Fl. g	FAD
Fl. 8	violâtre pâle	0.00	—	un composé ptérinique (?)
Fl. 9	jaune pâle	0.28~0.29	—	riboflavine libre (?)
Fl. 10	violet	(0.00-0.38)	—	inconnu

N.B. * Une valeur de Rf qui a été élevée anormalement. Il semble que les valeurs de Rf qui sont plus élevées en général que celles de *Drosophila* (Tab. 1) soient dues à la haute température de chambre.

l'avance du développement. D'ailleurs, la première apparition du FAD et du FMN est après le temps de blastokinèse et la décroissance rapide en substances de Fl. 1 et Fl. 2 est aussi après ce temps, malgré que les dernières substances fussent conservées en grande quantité et invariablement aux premiers stades avant ce temps. Cette corrélation semble expliquer que le FAD et le FMN ont été synthétisés des substances de Fl. 1 et Fl. 2. L'augmentation en substances ptérimiques, Fl. 3 et Fl. 4, est aussi corrélative à la décroissance en substances flaviniques, Fl. 1 et Fl. 2; cependant, il nous semble moins raisonnable d'admettre que les dernières ont été échangées contre les premières que de croire que le FAD et le FMN ont été produits des substances flaviniques de Fl. 1 et Fl. 2, bien qu'une possibilité de l'échange de substances flaviniques contre des substances ptérimiques au cours du développement embryonnaire ait été considérée par BODINE et FITZGERALD (1947 et 1948), par BURGESS (1949) et par BURGESS *et al.* (1954) chez l'embryon de *Melanoplus differentialis* (Orthoptère), et par BUSNEL (1954) chez l'embryon de *Bombyx mori*.

Résumé

Dans *D. melanogaster*, des substances fluorescentes au cours du développement chez les embryons de souches : sauvage, *vermilion*, *cinnabar*, *scarlet* et *white*, aussi bien que chez l'œuf vierge de la mouche sauvage et chez l'embryon létal de Nullo-X ont été recherchées par la méthode de la chromatographie sur papier bidimensionnelle. En outre, des substances au cours du développement em-

bryonnaire d'une souche normale de ver à soie ont été étudiées par la même méthode, à titre de référence. On a pu reconnaître huit taches au moins dans les chromatogrammes chez l'embryon de la mouche sauvage de *D. melanogaster* et les identifier comme suite: kynurenine, 3-hydroxy-kynurenine, une flavoprotéine dans laquelle est contenu le FMN, un composé riboflavinique, glucoside de riboflavine, FMN, FAD et une substance ptérinique inconnue. De plus, on a pu aussi reconnaître la biotérine.

Concernant les variations de teneur en kynurenine et en 3-hydroxy-kynurenine au cours du développement embryonnaire, on a trouvé un point critique où la première est convertie à la dernière. Il est un temps où l'involution de tête et la clôture dorsale d'embryon s'exécutent au point de vue morphologique, et nous nommerons ce temps la "crise métabolique". Encore, le problème quant à la transformation de substances flaviniques à des substances ptéridiniques ont été discutés en comparant l'embryon de *Drosophila* à celui de *Bombyx*.

Travaux cités

- ALMEIDA, F. F., DE, 1958. Zeits. Naturf., 13 (b): 687-691.
- BENASSI, C. A., 1951. Boll. Soc. ital. biol. sper., 27: 420-421. (D'après BLOCK *et al.*, 1955.)
- BLOCK, R. J., E. L. DURRUM & G. ZWEIG, 1955. A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis.
- BODINE, J. H., & L. FITZGERALD, 1947a. J. Exp. Zool., 104: 353-363.
- & ——— 1947b. Physiol. Zool., 20: 146-160.
- & ——— 1948. Ibid., 21: 93-100.
- BURGESS, L. L., 1949. Arch. Biochem., 20: 347-355.
- , J. O. STEWART & D. T. ROLFE, 1954. Fed. Proc., 13: 20.
- BUSNEL, René-Guy, 1954. Ciba Found. Symp.: Chemistry and biology of pteridine, 56-60 (en discussion générale).
- BUZZATI-TRAVERSO, A. A., 1953. Proc. Nat. Acad. Sci., 39: 376-391.
- CHARCONNET-HARDING, F., & C. CALET, 1951. C. R. Acad. Sci., 233: 759-761.
- CRAMMER, J. L., 1948. Nature, 161: 349-350.
- DALGLIESH, C. E., 1952. Biochem. J., 52: 3-14.
- DANNEEL, R., & B. ZIMMERMANN, 1954. Zeits. Naturf., 9 (b): 788-792.
- DIMANT, E., D. R. SANADI & F. M. HUENNEKENS, 1952. J. Amer. Chem. Soc., 74: 5440-5444.
- EGELHAAF, A., 1956. Naturwiss., 43: 165-166.
- FORREST, H. S., & H. K. MITCHELL, 1954. J. Amer. Chem. Soc., 76: 5656-5658.
- & ——— 1955. Ibid., 77: 4865-4869.
- , D. HATFIELD & C. VAN BAALLEN, 1959. Nature, 183: 1269-1270.
- , C. VAN BAALLEN & J. MYERS, 1958. Arch. Biochem. Biophys., 78: 95-99.
- , ——— & ——— 1959. Ibid., 83: 508-520.
- FUKAMACHI, C., & Y. SAKURAI, 1954. Vitamin, 7: 939-942, 1014-1016. (En japonais.)
- GOOD, P. M., A. W. JOHNSON, 1949. Nature, 163: 31.
- GRAF, G. E., 1957. Experientia, 13: 404-405.
- HADORN, E., & H. K. MITCHELL, 1951. Proc. Nat. Acad. Sci., 37: 650-665.
- HAYS, I. M., & L. PECÁKOVÁ, 1949. Nature, 163: 768.
- HAMA, T., & S. HORIUCHI, 1958. C. R. Soc. Biol., 152: 213-216.

- HAMA, T., & M. OBIKA, 1958. *Experientia*, **14**: 182-184.
- HASHIMOTO, A., 1957. *Vitamin*, **13**: 419-422. (En japonais.)
- HUENNEKENS, F. M., D. R. SANADI, E. DIMANT & A. I. SCHEPARTZ, 1953. *J. Amer. Chem. Soc.*, **75**: 3611-3612.
- IMAIZUMI, T., 1958. *Cytologia*, **23**: 270-285.
- KIKKAWA, H., 1951. *J. Seric. Sci. Jap.*, **20**: 66. (Abst. en japonais.)
- 1953. *Adv. in Genet.*, **5**: 107-140.
- KOLTE, F., 1954. *Ciba Found. Symp.: Chemistry and biology of pteridine*, 159-164.
- MATSUMOTO, J., T. KAJISHIMA & T. HAMA, 1960. *Genetics*, **45**: 1177-1189.
- PATTERSON, E. L., H. P. BROQUIST, A. M. ALBRECHT, M. H. VON SALTA & E. L. R. STOKSTAD, 1955. *J. Amer. Chem. Soc.*, **77**: 3167-3168.
- , R. MILSTREY & E. L. R. STOKSTAD, 1956. *Ibid.*, **78**: 5868-5871.
- , M. H. VON SALTA & E. L. R. STOKSTAD, 1956. *Ibid.*, **78**: 5871-5873.
- POLONOVSKI, M., & René-Guy BUSNEL, 1948. *C. R. Acad. Sci.*, **226**: 1047-1048.
- & —— 1950. *Ibid.*, **230**: 585-587.
- , H. JÉROME & P. GONNARD, 1954. *Ciba Found. Symp.: Chemistry and biology of pteridine*, 124-134.
- REDDI, K. K., & E. KODICEK, 1953. *Biochem. J.*, **53**: 286-294.
- SHIMIZU, S., 1953. *Vitamin*, **6**: 766-769. (En japonais.)
- , T. OHARA & K. MINOURA, 1952. *J. Ferment. Technol., Osaka*, **30**: 13-22. (En japonais.)
- TACHIBANA, S., & H. KATAGIRI, 1955. *Vitamin*, **8**: 304-308.
- VAN BAALEN, C., & H. S. FORREST, 1959. *J. Amer. Chem. Soc.*, **81**: 1770.
- , —— & J. MYERS, 1957. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **43**: 701-705.
- VISCONTINI, M., E. LOESER, P. KARRER & E. HADORN, 1955. *Helv. Chim. Acta*, **38**: 1222-1224.
- , M. SCHOELLER, E. LOESER, P. KARRER & E. HADORN, 1955. *Ibid.*, **38**: 394-401.
- WHITBY, L. G., 1950. *Nature*, **166**: 479-480.
- 1952. *Biochem. J.*, **50**: 433-438.
- YAGI, K., 1952. *Igaku to Seibutsugaku*, **25**: 266-268. (En japonais.)
- 1953. *Kagaku, Tokyo*, **23**: 532-533. (En japonais.)
- 1957. *Biochimie de flavines. Tokyo*. (En japonais.)

Explications des Figures

- Figs. 1~56: Les chromatogrammes chez les embryons de *Drosophila*; Figs. 57~68: Ceux chez les embryons de *Bombyx*. Tous les matériels ont été développés à la direction de (I), à l'abscisse, par l'eau chaude et puis développés à la direction de (II), à l'ordonnée, par de solvants d'irrigation. On a dessiné les contours des taches fluorescentes dans tous les chromatogrammes et puis les enregistrés dans les figures.
- Figs. 1~9: Les chromatogrammes à quelques solvants d'irrigation chez l'embryon de la mouche sauvage Oregon-RS pour identifier de substances. Fig. 1: alcool butylique normal/acide acétique glaciale/eau 4:1:5. Fig. 2: alcool butylique normal/alcool propylique normal/eau 2:2:1. Fig. 3: l'eau saturée par alcool isoamylique. Fig. 4: solution aqueuse de Na_2HPO_4 à 5%. Fig. 5: phénol/alcool butylique normal/eau 160 g:30 ml:100 ml. Fig. 6: collidine saturée par l'eau. Fig. 7: alcool propylique normal/ammoniaque à 1% 2:1. Fig. 8: alcool butylique normal/acide acétique glaciale/eau 4:1:1. Fig. 9: solution aqueuse de citrate de sodium à 4%.
- Figs. 10~17: Variations des substances fluorescentes au cours du développement chez l'embryon de la mouche sauvage Oregon (solvant d'irrigation à la direction II: alcool butylique/acide acétique/eau 4:1:5, et il en est aussi de tous les chromatogrammes suivants). Fig. 10: Stade 1. Fig. 11: Stade 2. Fig. 12: Stade 5. Fig. 13: Stade 7. Fig. 14: Stades 9-10. Fig. 15: Stade 13. Fig. 16: Stade 14. Fig. 17: Stade 16.
- Figs. 18~24: Variations des substances fluorescentes au cours de développement chez l'embryon de la souche *vermilion*. Fig. 18: Stade 2. Fig. 19: Stade 5. Fig. 20: Stade 7. Fig. 21: Stades 9-10. Fig. 22: Stade 13. Fig. 23: Stade 14. Fig. 24: Stade 16.
- Figs. 25~31: Variations des substances fluorescentes au cours du développement chez l'embryon de la souche *cinnabar*. Fig. 25: Stade 2. Fig. 26: Stade 5. Fig. 27: Stade 7. Fig. 28: Stades 9-10. Fig. 29: Stade 13. Fig. 30: Stade 14. Fig. 31: Stade 16.
- Figs. 32~38: Variations des substances fluorescentes au cours du développement chez l'embryon de la souche *scarlet*. Fig. 32: Stade 2. Fig. 33: Stade 5. Fig. 34: Stade 7. Fig. 35: Stades 9-10. Fig. 36: Stade 13. Fig. 37: Stade 14. Fig. 38: Stade 16.
- Figs. 39~45: Variations des substances fluorescentes au cours du développement chez l'embryon de la souche *white*. Fig. 39: Stade 2. Fig. 40: Stade 5. Fig. 41: Stade 7. Fig. 42: Stades 9-10. Fig. 43: Stade 13. Fig. 44: Stade 14. Fig. 45: Stade 16. La tache qu'on voit sur l'abscisse dans tous les chromatogrammes de *white* représente une fluorescence bleue (la forme liée de kynurenine?); chez les embryons d'autres souches on ne la voit pas, ou même si on la voit la quantité en est très basse.
- Figs. 46~51: Variations des substances fluorescentes chez l'embryon létaux de Nullo-X. Fig. 46: juste après la fécondation. Fig. 47: le temps de contraction du protoplasme. Fig. 48: 2~3 heures après la ponte. Fig. 49: 6 heures environ après la ponte. Fig. 50: 15 heures environ après la ponte. Fig. 51: 24 heures après la ponte.
- Figs. 52~56: Variations des substances fluorescentes chez l'œuf vierge de la mouche sauvage Oregon-RS. Fig. 52: juste après la ponte. Fig. 53: le temps de contraction du protoplasme. Fig. 54: 2~3 heures après la ponte. Fig. 55: 6 heures environ après la ponte. Fig. 56: 15 heures environ après la ponte.
- Figs. 57~68: Variations des substances fluorescentes au cours du développement chez l'embryon de ver à soie. Fig. 57: embryon 30 minutes après la ponte. Fig. 58: embryon 1 jour. Fig. 59: embryon 2 jours. Fig. 60: embryon 3 jours. Fig. 61: embryon 4 jours. Fig. 62: embryon 5 jours. Fig. 63: embryon 6 jours. Fig. 64: embryon 7 jours. Fig. 65: embryon 8 jours. Fig. 66: embryon 9 jours. Fig. 67: embryon 10 jours. Fig. 68: 11 jours, larve juste après l'éclosion.

































