

Neurosecrétion et régulation hydroélectrolytique chez *Artemia salina*¹

Neurosecretion and Hydroelectrolytic Regulation in *Artemia salina*

PH. VAN DEN BOSCH DE AGUILAR

Laboratoire de Morphologie animale, Bâtiment Claude Bernard, Place Croix du Sud 5, B-1348 Louvain-la-Neuve (Belgique), 15 septembre 1975.

Summary. The activity of *Artemia* protocerebral median neurosecretory cells is stimulated when animals are grown in media whose tonicity is lower than that of sea water. The substance liberated by these cells could regulate the tonicity of the internal medium.

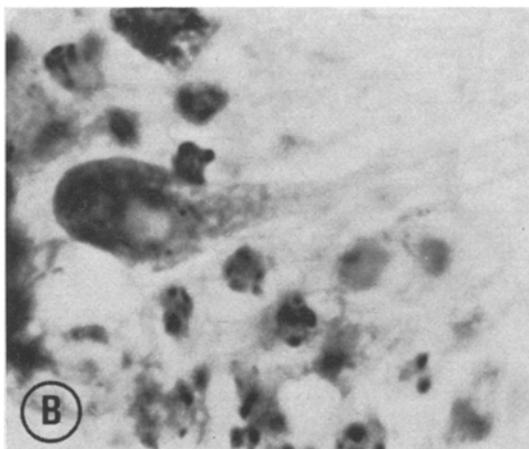
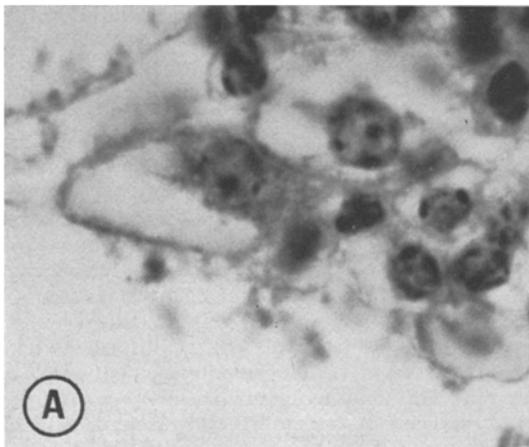
La morphologie du système neurosecréteur d'*Artemia salina* a été décrite par LOCHHEAD et RESNER², BAID et RAMASWAMI³, HENTSCHEL⁴ et KULAKOVSKII⁵. Des péricaryones neurosecréteurs sont situés dans le cérébron et la chaîne nerveuse ventrale et une structure d'aspect neurohémal peut être observée dans le pédoncule oculaire entre la lamina et la medulla. Les cellules neurosecrétrices les plus volumineuses sont disposées, au niveau du protocérébron, en deux paires symétriques de part et d'autre du neuropile de l'œil nauplien. Les cellules médianes sont unipolaires et piriformes; les cellules latérales sont unipolaires et sphériques. Les axones de ces cellules se dirigent vers les connectifs périoesophagiens. L'analyse

histochimique révèle que les produits élaborés par ces deux types de cellules sont de nature différente⁶.

La capacité remarquable de régulation osmotique exercée par l'*Artemia* favorise l'étude de l'influence des variations de salinité sur son système neurosecréteur. Des individus adultes mâles et femelles⁷ au stade d'instar XII ou XIII sont placés dans des solutions de salinités différentes, préparées à partir d'eau de mer, de façon à obtenir 5 milieux contenant respectivement 9, 18, 36, 70 et 140 g de sels par litre. 10 individus sont prélevés dans chaque milieu après 4, 8, 12 et 24 h et après 2, 4 et 8 jours. Les manipulations histologiques sont pratiquées de façon standardisée et le produit de neurosecrétion est mis en évidence, après oxydation permanganique, par la coloration au bleu alcian et la méthode de Mann-Dominici.

Après 12 h de traitement, l'aspect des cellules latérales et médianes est comparable chez tous les animaux quelque soit le milieu auquel ils ont été soumis. Des grains de sécrétion occupent tout le cytoplasme qu'ils quittent par l'axone. Les premières variations cytologiques apparaissent dans le système neurosecréteur après 24 h et affectent exclusivement les cellules médianes. Chez les animaux soumis à des milieux où la concentration en sels est supérieure à 35 g/l, la charge en produit de sécrétion diminue progressivement durant les 8 jours de traitement. Des vacuoles acidophiles envahissent le cytoplasme et les cellules ne présentent plus de signe d'activité sécrétrice. Chez les animaux soumis à des milieux où la concentration en sels est égale ou inférieure à 35 g/l, la charge en produit persiste et la migration axonale est bien apparente. La charge et la migration de produit de sécrétion sont d'autant plus importantes que le milieu est moins concentré. Ces variations cytologiques se présentent de façon identique chez tous les individus soumis à un même milieu, qu'ils soient mâles ou femelles.

L'*Artemia* maintient son milieu interne hypotonique par rapport au milieu externe à toutes les concentrations de ce dernier supérieures à une concentration correspondant à une solution de 9 g de sels par litre. Le milieu interne de l'animal devient hypertonique à des concentrations externes inférieures^{8,9}. Il semble que le taux de



Aspects des cellules neurosecrétrices médianes d'*Artemia salina* après élevage pendant 8 jours dans un milieu contenant 140 g de sels/l (A) et 9 g de sels/l (B). Coloration au bleu alcian après oxydation permanganique.

¹ Travail réalisé avec l'appui financier du FRFC (programme N° 2.9010.75).

² J. H. LOCHHEAD et R. RESNER, Proc. XV. Int. Congr. Zool. 4, 397 (1958).

³ I. C. BAID et L. S. RAMASWAMI, Experientia 21, 528 (1965).

⁴ E. HENTSCHEL, Z. wiss. Zool. 171, 44 (1965).

⁵ E. E. KULAKOVSKII, Proc. Acad. Sci. USSR 209, 246 (1973).

⁶ Ph. VAN DEN BOSCH DE AGUILAR, non publié.

⁷ Les animaux utilisés appartiennent à la souche californienne diploïde bisexuée et nous ont été aimablement procurés par le professeur PERSOONE de l'Université de Gand.

⁸ P. C. CROGHAN, J. exp. Biol. 35, 213 (1958).

⁹ P. THUET, R. MOTAIS et J. MAETZ, Comp. Biochim. Physiol. 26, 793 (1968).

salinité du milieu constitue un stimulus pour les cellules médianes. L'activité cellulaire et la libération du produit de neurosécrétion sont stimulés dans les milieux peu concentrés et inhibés dans les milieux plus concentrés. La perception des stimuli de nature osmotique pourrait être assurée par les «organes récepteurs de la cavité»¹⁰, voisins des cellules médianes. Le produit pourrait agir sur l'excrétion de sels¹¹ et favoriser leur rétention dans le milieu interne. Le fait que l'*Artemia* soit un «régulateur» hypo-osmotique laisse supposer qu'il tire son origine d'une espèce adaptée primitivement à l'eau douce¹². L'existence d'une régulation hormonale assurant en milieu dilué, la rétention de sels dans le milieu interne pourrait dès lors

être un reflet de cette origine. Ceci serait en accord avec les observations de KAMEMOTO et TULLIS¹³ qui constatent la présence d'un facteur neuroendocrinien augmentant l'influx de sodium dans le milieu interne de Crustacés d'eau douce et l'absence de ce facteur chez des espèces marines.

¹⁰ R. ELOFSSON et P. S. LAKE, *Z. Zellforsch.* 121, 319 (1971).

¹¹ D. E. COPELAND, *Protoplasma* 63, 363 (1967).

¹² W. T. W. POTTS et G. PARRY, *Osmotic and Ionic Regulation in Animals* (Pergamon Press, New York 1964).

¹³ F. I. KAMEMOTO et R. E. TULLIS, *Gen. comp. Endocr. suppl.* 3, 299 (1972).

Sur la présence de glycoprotéines dans les grains à microtubules des cellules sécrétrices paragoniales de *Drosophila melanogaster* Meig.

Glycoproteins in the Microtubular Granules of the Paragonial Secretory Cells in *Drosophila melanogaster* Meig.

J. BEAULATON et C. PERRIN-WALDEMER

Université de Clermont, Laboratoire de Zoologie et Laboratoire de Biologie animale, Complexe Scientifique des Cèzeaux B.P. 45, F-63170 Aubière (France), 18 September 1975.

Summary. Cytochemical observations of the paragonial microtubular granules during the first 2 weeks after emergence have shown the ultrastructural localization of glycoprotein in peripheral or central matrices by periodic acid-thiocarbohydrazide-silver proteinate method (PATAg). The microtubules do not appear to contain glycoprotein moiety. The functional significance of the components of paragonial secretion is discussed.

Au cours des dernières années on a montré que les glandes accessoires mâles des Insectes ont des fonctions diverses et importantes¹. Chez *Drosophila*, les études ultrastructurales des cellules sécrétrices paragoniales²⁻⁶ entreprises depuis la découverte du peptide sexuel libéré par ces glandes^{7,8} ont révélé qu'elles élaborent de volumineux grains de sécrétion à microtubules («corps filamenteux»²) dans lesquels, seules des protéines ont été décelées jusque-là par la technique d'extraction enzymatique sur coupes ultrafines^{4,5}.

Nous présentons ici les résultats concernant la recherche des polysaccharides en ultracytochimie.

Matériel et méthodes. Les glandes sont prélevées sur des mâles de souche sauvage au cours des 15 premiers jours de la vie imaginaire et fixées dans le glutaraldéhyde à 2% dans le tampon cacodylate pH 7,4. Après postfixation au tétrahydroxyde d'osmium, les pièces ont été déshydratées et incluses en Epon. Les coupes ultrafines ont été traitées, soit par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb, soit par la technique à l'acide périodique-thiocarbohydrazide-protéinate d'argent (PATAg) d'après THIÉRY⁹.

Résultats. Dans les cellules sécrétrices paragoniales deux types de grains de sécrétion peuvent être distingués: le type A à matrice périphérique de densité modérée et le type B caractérisé par une importante matrice périphérique claire.

La méthode de PATAg utilisée pour la mise en évidence des polysaccharides montre que les grains à microtubules de type A manifestent une nette réactivité après 72 h de traitement à la thiocarbohydrazide (TCH) (Figures 1 et 2). Par contre, avec une brève incubation de 24 h par la TCH (Figure 3), seule la matrice centrale des grains est marquée d'un faible dépôt d'argent. Si l'on prolonge le traitement à la TCH (48 h) on constate dans les grains de type A un marquage électif mais faible du réseau micro-

fibrillaire de la matrice périphérique, ainsi que du matériel matriciel central et des microtubules. Le maximum de réactivité des trois constituants des grains est atteint après 72 h de traitement à la TCH.

Cependant, les préparations de contrôle oxydées à l'eau oxygénée en remplacement de l'acide périodique révèlent la présence d'un net dépôt d'argent localisé au niveau des microtubules et d'un léger marquage de la matrice centrale. Dans les autres préparations témoins (acide périodique-protéinate d'argent) les grains se sont montrés entièrement dépourvus de dépôt d'argent.

Discussion et conclusion. Les résultats obtenus avec la réaction de PATAg confirment au niveau ultrastructural les données de la cytochimie classique montrant que les grains à microtubules renferment un composant polysaccharidique vraisemblablement lié à des protéines. En effet, la réactivité des grains au test de PATAg concorde étroitement avec celle du PAS et révèle que la réaction faussement positive des microtubules exclut à leur niveau l'existence d'un composant glucidique ou glycoprotéique cytochimiquement décelable. Par contre, le

¹ H. E. HINTON, *J. med. Entomol.* 11, 19 (1974).

² A. BAIRATI, *J. Microsc.* 5, 265 (1966).

³ A. BAIRATI, *Monit. Zool.* 2, 105 (1968).

⁴ M. E. PEROTTI, *VIIe Congr. Int. Microsc. Electron. Grenoble* (Ed. P. FAVARD, (1970), vol. 3, p. 213).

⁵ M. E. PEROTTI, *J. submicrosc. Cytol.* 3, 255 (1971).

⁶ M. E. PEROTTI, *Boll. Zool.* 39, 249 (1972).

⁷ P. S. CHEN et C. DIEM, *J. Insect Physiol.* 7, 289 (1961).

⁸ A. S. FOX, C. G. MEAD et I. L. MUNYON, *Science* 129, 1489 (1959).

⁹ J. P. THIÉRY, *J. Microsc.* 6, 987 (1967).