

Reçu le 28 octobre 1959.

CONTRIBUTIONS A LA BIOCHIMIE DU VER A SOIE  
 XIV. — VARIATIONS DE CONCENTRATION  
 DES CATÉCHOLAMINES  
 AU COURS DE LA MUE NYMPHALE

PAR

A. DRESSE, Ch. JEUNIAUX et M. FLORKIN  
 (Institut Léon Fredericq, Biochimie; Université de Liège)

### Introduction

La présence de quantités relativement importantes de catécholamines chez divers Insectes a été montrée par ÖSTLUND (1954). La dopamine constitue la fraction la plus importante, tandis que le taux d'adrénaline est généralement très faible (10 à 50 fois plus faible que celui de noradrénaline). Le rôle joué par l'adrénaline et par la noradrénaline chez les Insectes est totalement inconnu.

ÖSTLUND a constaté, chez la larve de *Tenebrio molitor*, que la noradrénaline est beaucoup moins abondante dans la région antérieure (tête + thorax) que dans l'abdomen, tandis que les proportions d'adrénaline varient dans le sens contraire. L'adrénaline représente 75 à 95 % de la somme de ces deux catécholamines dans la partie antérieure, tandis que, dans la partie postérieure, elle ne représente que 9 % de cette somme. Cette observation pourrait suggérer, à titre d'hypothèse de travail, que l'adrénaline est principalement synthétisée au niveau des ganglions cérébroïdes ou d'un autre tissu endocrinien, tel que la glande prothoracique, situé dans la région antérieure du corps.

Nous avons étudié les variations de concentration de l'adrénaline (A) et de la noradrénaline (NA) au cours de la mue nymphale de *Bombyx mori* L., en séparant les portions antérieures (tête + thorax) des portions postérieures (abdomens). Cette période du développement du ver à soie a été choisie pour deux raisons : d'abord parce que le début des métamorphoses est une période

de mise en jeu de facteurs de contamination dues à la présence d'extraits totaux (1). Les vers sont élevés après la « dernière défécation » pendant la vie larvaire et vidant

Les vers à soie, de race « Grand Noir » (25° C., 75 % d'humidité relative) sont élevés sur des feuilles de mûrier. A l'éclosion, les vers qui cessent de s'alimenter sont sacrifiés ce qui permet de repérer les stades (en abrégé DD) (pour détails voir ÖSTLUND et FLORKIN, 1958).

Les stades étudiés sont ceux de la vie nymphale. Chaque individu est sacrifié par section abdominale ; dans le cas contraire, les intestins sont extirpés et éliminés. Les extraits sont homogénéisés dans le tampon postérieur de chaque individu dans des récipients tarés congelés. La pesée de chaque individu est faite sur un individu d'un même lot frais.

Dans le cas des chrysalides, les deux parties ne se réalisent pas (5 minutes à -15° C.) également au niveau du thorax.

Un lot de prénymphe est sacrifié au système nerveux (ganglions) et chaîne nerveuse ventrale.

(1) Il a été constaté, pour la première fois, que la présence de pigments catécholamines.

(2) Les œufs nous ont été fournis par M. Rouslan, à Alès (Gard, France).

Regu le 28 octobre 1959.

BIOCHIMIE DU VER A SOIE  
 CONCENTRATION  
 AMINES  
 NYPHALE

et M. FLORKIN  
 ; Université de Liège)

ent importantes de catécho-  
 ontrée par ÖSTLUND (1954).  
 plus importante, tandis que  
 nt très faible (10 à 50 fois  
 e). Le rôle joué par l'adré-  
 les Insectes est totalement

erve de *Tenebrio molitor*,  
 moins abondante dans la  
 ue dans l'abdomen, tandis  
 ent dans le sens contraire.  
 de la somme de ces deux  
 ieure, tandis que, dans la  
 que 9 % de cette somme.  
 r, à titre d'hypothèse de  
 ment synthétisée au niveau  
 autre tissu endocrinien, tel  
 ans la région antérieure du

concentration de l'adréna-  
 u cours de la mue nymphale  
 ortions antérieures (tête +  
 abdomens). Cette période du  
 choisie pour deux raisons :  
 amorphoses est une période

de mise en jeu de facteurs endocriniens, ensuite pour éviter des contaminations dues à la présence de débris alimentaires dans les extraits totaux (1). Les trois stades étudiés se situent en effet après la « dernière défécation » (DD), purge survenant à la fin de la vie larvaire et vidant le tube digestif de tout son contenu.

Méthodes

I. — MATÉRIEL

Les vers à soie, de race européenne « Alpes » (2) sont élevés en serre (25° C., 75 % d'humidité relative) bien aérée, et nourris de feuilles de mûrier. A la fin du 5<sup>e</sup> âge larvaire, les chenilles qui cessent de s'alimenter sont isolées dans des cornets de papier, ce qui permet de repérer et de dater la « dernière défécation » (en abrégé DD) (pour détails complémentaires, voir JEUNIAUX et FLORKIN, 1958).

Les stades étudiés sont compris entre la DD et le début de la vie nymphale. Chaque lot est constitué de 30 à 40 individus. Chaque individu est sectionné au niveau du premier segment abdominal ; dans le cas des chenilles, les glandes séricigènes sont extirpées et éliminées (leur présence ne permet pas une bonne homogénéisation des tissus). La partie antérieure et la partie postérieure de chaque individu sont recueillies sans délai dans des récipients tarés contenant un volume connu d'alcool acidifié glacé. La pesée de chaque récipient, après dissection de tous les individus d'un même lot, permet de connaître le poids de tissus frais.

Dans le cas des chrysalides, une section nette du corps en deux parties ne se réalise facilement qu'après congélation préalable (5 minutes à -15° C.) ; on sectionne au moyen d'un scalpel, également au niveau du premier segment abdominal.

Un lot de prénymphe a été utilisé pour l'étude séparée du système nerveux (ganglions cérébroïdes, collier périœsophagien et chaîne nerveuse ventrale) et des lissus non nerveux.

(1) Il a été constaté, pour des extraits totaux de Phasmes (*Dirippus morosus*), que la présence de pigments chlorophylliens pouvait entraver le dosage des catécholamines.

(2) Les œufs nous ont été gracieusement fournis par l'établissement séricicole Roustan, à Alès (Gard, France).

## 2. -- MÉTHODES POUR L'EXTRACTION ET LE DOSAGE DES CATÉCHOLAMINES

L'extraction par l'éthanol donne, dans le cas présent, de meilleurs résultats que celle par adsorption sélective sur alumine.

Les différents échantillons sont recueillis dans de l'éthanol acidifié (1 volume de HCl 6 N pour 100 volumes d'éthanol). Après une station de 24 à 36 heures à 0° C., on broie au mixer, puis on centrifuge. Le liquide surnageant est évaporé presque complètement sous pression réduite d'azote et à la température de 40° C. Le résidu est repris par une petite quantité d'eau acidifiée et, après centrifugation, évaporé à sec dans un Freeze-Dryer. Ce résidu sec est mis en solution dans un volume exact de 5 ml. d'eau bidistillée additionnée d'acide ascorbique.

Les dosages sont effectués par la méthode de EULER et FLODING (1955) : oxydation des amines par  $K_3Fe(CN)_6$  en adrénochrome et noradrénochrome, puis transformation en lutines correspondantes par NaOH 5 N. La fluorescence des lutines est mesurée au photofluorimètre de Zeiss.

### Résultats

Le tableau I présente les valeurs d'adrénaline et de noradrénaline obtenues pour les extraits de parties antérieures et postérieures de 3 lots de chenilles, prénymphes et nymphes. Un lot n° IV, consistant en un seul échantillon (parties antérieures et postérieures non séparées) de prénymphes âgées de 60 à 80 heures après la DD, dont le système nerveux a été extirpé, a donné les valeurs suivantes : adrénaline : 0.002  $\mu\text{g./g.}$  de tissus frais ; noradrénaline : 0.013  $\mu\text{g./g.}$  de tissus frais.

Il n'a pas été possible d'appliquer la méthode d'EULER et FLODING au dosage des catécholamines dans l'extrait de tissus nerveux correspondant à ce lot n° IV. L'oxydation de ces amines par le ferricyanure est inhibée, probablement à cause de l'interférence d'autres substances réductrices présentes dans cet extrait. En effet, de l'adrénaline ajoutée à une partie de l'extrait de tissus nerveux n'a pas donné l'apparition de la fluorescence caractéristique après traitement par le ferricyanure puis par la soude. L'apparition d'une coloration rose après augmentation

TABLEAU I. — Adrénaline

Lot n°	Stade
I	Chenilles <sup>(1)</sup> , 28 à 40 h. après DD <sup>(2)</sup> , soit 56 à 68 h. avant mue nymphale . . . . .
II	Prénymphes, 76 à 90 h. après DD <sup>(2)</sup> , soit 6 à 20 h. avant mue nymphale . . . . .
III	Nymphes, 30 à 40 h. après mue nymphale

<sup>(1)</sup> Les glandes séricigènes ont été extirpées.

<sup>(2)</sup> Abréviations : A : adrénaline ; N : noradrénaline.

<sup>(3)</sup> En  $\mu\text{g./g.}$  de tissus frais.

du pH et augmentation suggère la présence de qu

1) La haute teneur en adrénaline est confirmée pour le Ve stade (la prédominance de la noradrénaline dans les extraits du tableau I, on peut calculer la teneur en adrénaline séricigènes exclues) en comparant ces valeurs à celles obtenues pour les nymphes d'Insectes (tabl

TABLEAU I. — Adrénaline et Noradrénaline au cours de la mue nymphale chez le ver à soie

Lot n°	Stade	parties antérieures (tête + thorax)			Parties postérieures (abdomen)		
		Poids frais	Amines, μg./g. (3)		Poids frais	Amines, μg./g. (3)	
			A (2)	NA (2)		A (2)	NA (2)
I	Chenilles (1), 28 à 40 h. après DD (2), soit 56 à 68 h. avant mue nymphale . . . . .	10.6 g.	0.002	0.038	18.3 g.	0.001	0.027
II	Prénymphes, 76 à 90 h. après DD (2), soit 6 à 20 h. avant mue nymphale . . . . .	14.3 g.	0.003	0.061	33.15 g.	0.006	0.046
III	Nymphes, 30 à 40 h. après mue nymphale	9.7 g.	0.010	0.026	26.95 g.	0.005	0.006

(1) Les glandes séricigènes ont été éliminées.

(2) Abréviations : A : adrénaline ; NA : noradrénaline ; DD : dernière défécation.

(3) En μg./g. de tissus frais.

du pH et augmentation de la concentration en ferricyanure suggère la présence de quantités importantes de catécholamines.

### Discussion

1) La haute teneur en catécholamines des broyats d'Insectes est confirmée pour le Ver à soie, de même que la forte prédominance de la noradrénaline sur l'adrénaline. D'après les valeurs du tableau I, on peut calculer la teneur des tissus totaux (glandes séricigènes exclues) en noradrénaline et adrénaline, et les comparer à celles obtenues par ÖSTLUND pour d'autres larves et nymphes d'Insectes (tableau II).

TABLEAU II. — Adrénaline et Noradrénaline chez divers Insectes

Espèce	Stade	µg./g. de tissus frais	
		Adrénaline	Noradrénaline
<i>Bombyx mori</i>	Chenilles, 28 à 40 h. après DD	0.0013	0.0310
	Prénymphes, 76 à 90 h. après DD	0.0051	0.0505
	Prénymphes, 60 à 80 h. après DD, après ablation des tissus nerveux	0.0020	0.0130
	Nymphes, 30 à 40 h. après mue nymphale	0.0063	0.0116
<i>Vanessa urticae</i> (1)	Chenilles	0.010	0.19
<i>Musca domestica</i> (1)	Larves	0.010	0.10
<i>Apis mellifica</i> (1) (ouvrières)	Larves	0.010	0.30
	Nymphes immatures	0.049	0.045
	Nymphes matures	0.22	0.026
<i>Tenebrio molitor</i> (1)	Larves	0.021	1.3
		0.061	2.2

(1) ÖSTLUND, 1954.

2) On constate (dans la mesure où l'on peut comparer des résultats obtenus par des méthodes aussi dissemblables que celles utilisées par ÖSTLUND et par nous-mêmes) que les teneurs en A et NA chez *Bombyx mori* sont de loin inférieures à celles obtenues pour les larves ou nymphes des autres Insectes. Toutefois, il se vérifie que, pour tous les stades larvaires ou prénymphaux de *B. mori* et des autres Insectes, la teneur en NA est 10 à 30 fois plus élevée que la teneur en A. Par contre, au cours de la mue nymphale et au début du stade nymphal, les concentrations

des deux catécholamines augmentant pendant « concentration de NA prénymphes à 1.8 e valeurs proches de cel 30 chez la larve et 0.9

3) L'examen du ta la concentration en l'antérieure que dans plus marquée chez le observation ne conc pour les larves de *T* 10 à 20 fois plus élev portion antérieure.

4) Les portions ant montrent des variatio en catécholamines. La et A de façon identi animaux étudiés.

5) Le lot n° IV, c 80 heures après la DD aussi complètement q prénymphes âgées de tissus nerveux ont été de concentration en de ces substances au catécholamines dans réalisé, mais les obs ne sont pas en désacc tration à ce niveau.

Chez les chenilles d après la dernière déf quantités non néglig cette dernière substan ces deux amines.

## Adré- naline chez divers Insectes

	µg./g. de tissus frais	
	Adrénaline	Noradrénaline
après		
90 h.	0.0013	0.0310
80 h.	0.0051	0.0505
blation	0.0020	0.0130
a. après	0.0063	0.0116
	0.010	0.19
	0.010	0.10
es	0.010	0.30
	0.049	0.045
	0.22	0.026
	0.021	1.3
	0.061	2.2

où l'on peut comparer des aussi dissemblables que celles (mêmes) que les teneurs en A inférieures à celles obtenues autres Insectes. Toutefois, es larvaires ou prénympaux teneur en NA est 10 à 30 fois r contre, au cours de la mue nympgal, les concentrations

des deux catécholamines tendent à devenir égales, celle de A augmentant pendant que celle de NA diminue. Le rapport « concentration de NA/concentration de A » passe de 9.9 chez les prénympes à 1.8 chez la jeune nymphe de *Bombyx mori*, valeurs proches de celles obtenues par ÖSTLUND pour les abeilles : 30 chez la larve et 0.92 chez la nymphe immature.

3) L'examen du tableau I montre que, par g. de tissus frais, la concentration en NA est un peu plus élevée dans la portion antérieure que dans la portion postérieure. Cette différence est plus marquée chez les nymphes âgées de 30 à 40 heures. Cette observation ne concorde pas avec celle de ÖSTLUND (1954) pour les larves de *Tenebrio molitor*, où la teneur en NA serait 10 à 20 fois plus élevée dans la portion postérieure que dans la portion antérieure.

4) Les portions antérieure et postérieure, étudiées séparément, montrent des variations à peu près parallèles de la concentration en catécholamines. La mue nympale affecte donc les taux de NA et A de façon identique dans les deux portions du corps des animaux étudiés.

5) Le lot n° IV, consistant en prénympes âgées de 60 à 80 heures après la DD, mais dont on a extirpé le système nerveux aussi complètement que possible, peut être comparé au lot n° II, prénympes âgées de 76 à 96 heures après la DD, et dont les tissus nerveux ont été laissés en place (tableau II). La différence de concentration en A et NA est en faveur d'une localisation de ces substances au niveau des tissus nerveux. Le dosage des catécholamines dans l'extrait de tissus nerveux n'a pu être réalisé, mais les observations faites à l'occasion d'un essai ne sont pas en désaccord avec l'hypothèse d'une forte concentration à ce niveau.

### Conclusions

Chez les chenilles de *Bombyx mori*, à la fin de 5<sup>e</sup> âge larvaire, après la dernière défécation, on peut mettre en évidence des quantités non négligeables de noradrénaline et d'adrénaline, cette dernière substance représentant 4 à 5 % de la somme de ces deux amines.

Contrairement à ce qui a été décrit pour *Tenebrio molitor*, il y a peu de différences entre les taux de noradrénaline de la région antérieure et de la région postérieure du corps.

D'importantes variations de concentration en noradrénaline accompagnent la mue nymphale : la teneur en noradrénaline est maximum quelques heures avant la nymphose, et diminue fortement après celle-ci. Ces variations de concentration se déroulent à peu près parallèlement dans les régions antérieure et postérieure du corps.

Les résultats obtenus ne sont pas en désaccord avec l'hypothèse d'une localisation de l'adrénaline et de la noradrénaline au niveau des tissus nerveux.

#### BIBLIOGRAPHIE

- EULER, U. S. von (1956). — *Noradrenaline. Chemistry, physiology, pharmacology and clinical aspects*, Thomas, Springfield.
- EULER, U. S. von and FLODING, I. (1955). — *Acta Physiol. Scandinav.*, **33**, supplementum 118, 45.
- JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1958). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **66**, 552.
- ÖSTLUND, E. (1954). — *Acta physiol. Scandinav.*, **31**, supplementum 112.

## EXCERPTA

Les EXCERPTA M  
extensif d'extraits de  
immense de la médecine  
20 sections qui font  
formant une docume

### PHYSIOLOGY, I

Environ 1

ABST

Part

Publicat

Nous désirons vous rap  
pose pour la traduction  
Nous vous prions de no  
recevrez un relevé du pri

### EXCE

Kalverstraat 111,  
AMSTERDAM (Holland)