PARTIE II

Polymorphisme phasaire des criquets grégarisables et régulation endocrinienne de leur développement et de leur reproduction

La lutte anti-acridienne. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris © 1991, pp. 101-117.

7

Structure des glandes endocrines et chimie des hormones des criquets grégarisables

J. GIRARDIE

Laboratoire de Neuroendocrinologie, URA CNRS 1138, Université de Bordeaux I, Avenue des Facultés, 33405 Talence Cedex, France

L'appareil endocrine du criquet comprend tous les ganglions du système nerveux central et trois glandes céphaliques paires : les corpora cardiaca, les corpora allata et les glandes prothoraciques.

Système nerveux central

Il se compose d'un cerveau dorsal et d'une chaîne nerveuse ventrale. Ce système est semblable chez la larve et l'adulte.

Cerveau (figs. 1 et 2)

Il repose sur le tube digestif et résulte de la fusion de 3 ganglions : le protocérébron (Br1), le deutocérébron (Br2) et le tritocérébron (Br3).

Il est accolé aux lobes optiques (opL) et est relié au premier ganglion de la chaîne nerveuse ventrale (SoeGng) par le collier périœsophagien (Coecon). Le cerveau possède de nombreux nerfs :

- 3 nerfs reliant les 2 ocelles latéraux et l'ocelle médian (0) au protocérébron
- 2 paires de nerfs reliant le protocérébron aux corpora cardiaca (d1 ou NCC I, d2 ou NCC II)

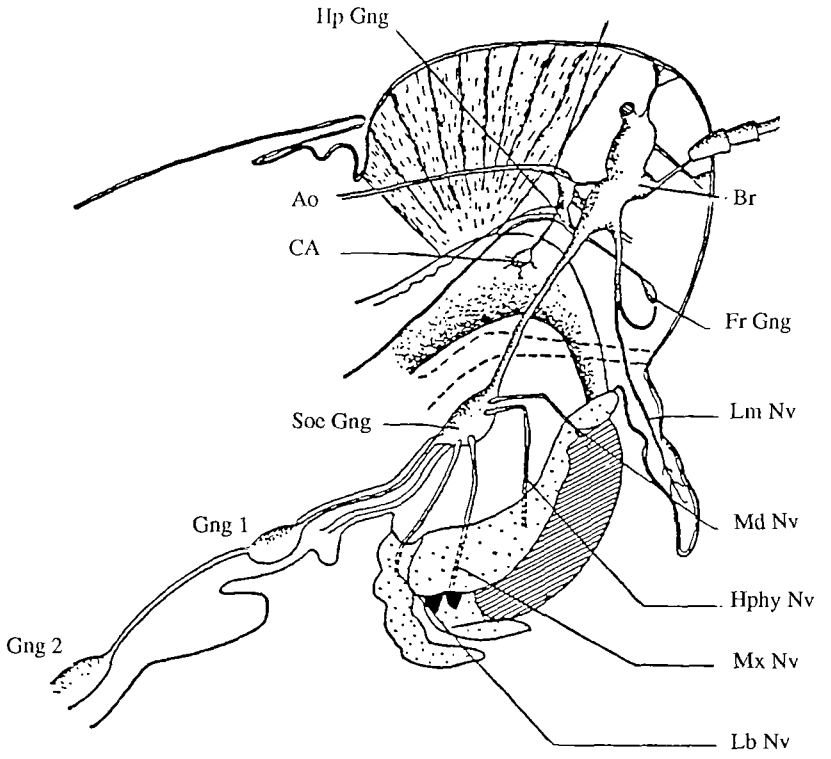


Figure 1. Coupe parasagittale de la tête et du thorax avec le cerveau et le début de la chaîne nerveuse ventrale en place. *(Représentation schématique d'après FO Albrecht 1953).*
Ao = aorte, Br = cerveau, CA = corpora allata, Fr Gng = ganglion frontal, Gng 1 et 2 = ganglions thoraciques 1 et 2, Hp Gng = ganglion hypocérébral, Hphy Nv = nerf hypopharyngial, Lb Nv = nerf labial, Lm Nv = nerf labral, Md Nv = nerf mandibullaire, Mx Nv = nerf maxillaire, Oe Gn = ganglion œsophagien, Soe Gn = ganglion sous-œsophagien.

- 1 paire de nerfs reliant le tritocérébron aux corpora cardiaca (NCC III, fig. 8)
- 1 paire de nerfs antennaires (Ant Nv) relié au deutocérébron
- 1 paire de nerfs labrofrontal (LFNv) reliant le tritocérébron au ganglion frontal (FrGng) et se prolongeant par le nerf labral (LmNv)

Chaîne nerveuse ventrale (figs. 3, 4 et 5)

Elle comprend 9 ganglions reliés par des connectifs.

Le premier ganglion est situé sous l'oesophage d'où son nom de ganglion sous-oesophagien (SoeGng). Il innerve les diverses pièces buccales par 4 paires de nerfs (figs. 1 et 4) : 1 paire de nerfs innervant l'hypopharynx (HphyNv), 1 paire de nerfs mandibulaires

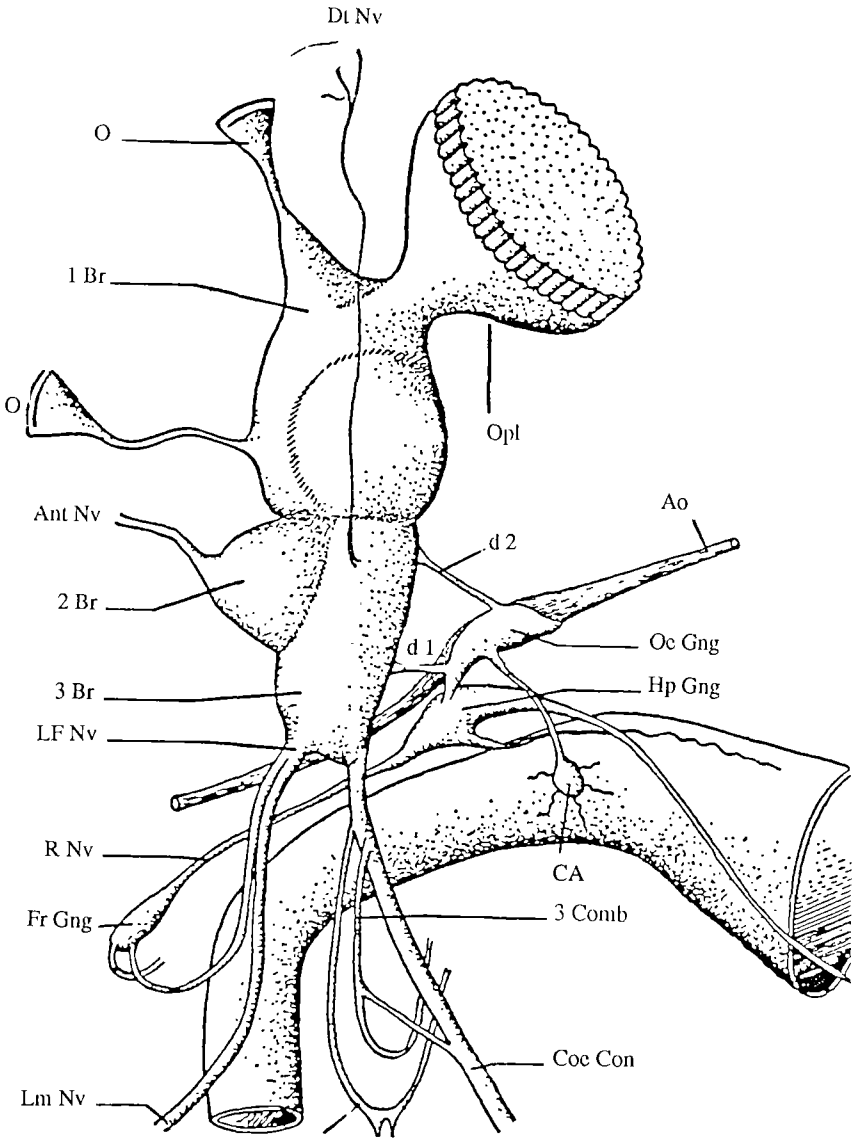


Figure 2. Vue latérale du cerveau *(d'après F.O. Albrecht 1953).*
Ant Nv = nerf antennaire, Ao = aorte, 1 Br = cerveau antérieur, 3 Br = cerveau moyen, 3 Br = cerveau postérieur, CA = corpora allata, Coe Con = connectif périoesophagien, 3 Com a et b = commissures post-œsophagiennes, d 1 et d2 = nerf paracardiaques I et II Dt Nv : nerf dorsal tégumentaire, Fr gng = ganglion frontal, Hp Gng = ganglion hypocérébral, LF Nv = nerf labro-frontal, Lm NV = nerf labral, O = ocelle, Oe Gng = ganglion œsophagien, Op L = lobe optique, R Nv = nerf récurrent.

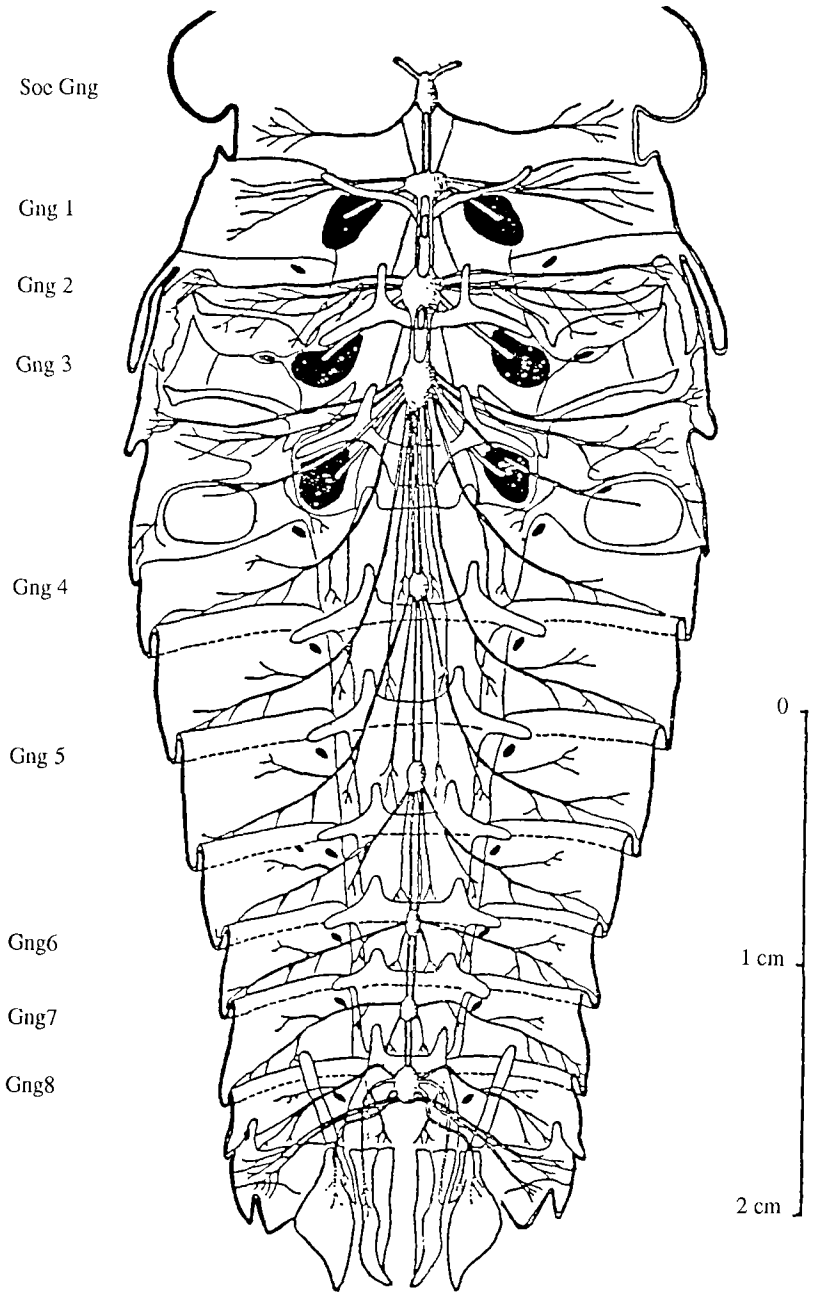


Figure 3. Chaîne nerveuse ventrale en place. *(Représentation d'après F.O. Albrecht, 1953).*
Gng 1, 2 et 3 = 3 ganglions thoraciques, gng 4 à 8 = ganglions abdominaux, Soe Gng = ganglion sous-œsophagien.

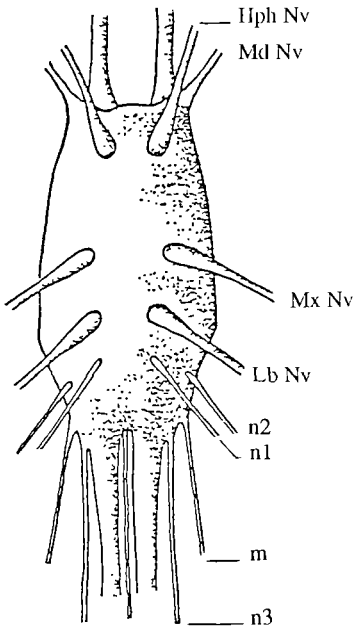


Figure 4. Vue ventrale du ganglion sous-œsophagien avec les nerfs. *(Représentation d'après F.O. Albrecht 1953).*
Hph Nv = nerf hypopharyngien, Md Nv = nerf mandibulaire, Mx Nv : nerf maxillaire, Lb Nv = nerf labial, m = nerf salivaire, n 1, 2 et 3 = nerfs du cou.

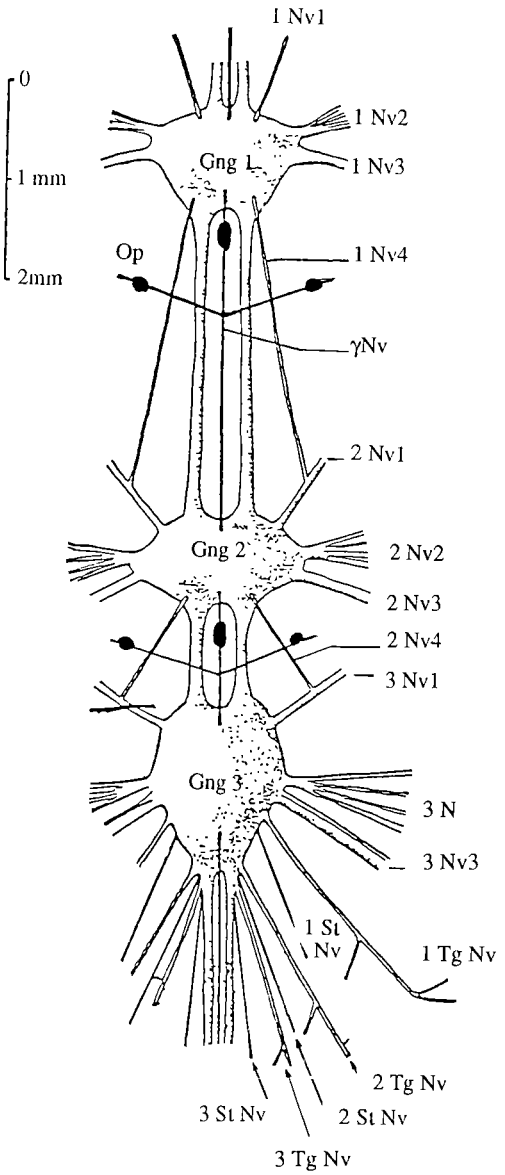


Figure 5. Vue dorsale des ganglions thoraciques. *(Représentation d'après F.O. Albrecht 1953).*
Gng 1 = ganglion protothoracique, Gng 2 = ganglion mésothoracique, Gng 3 = ganglion métathoracique, 1-2-3 Nv 1-2-3 = nerfs somatiques des 3 ganglions thoraciques, OP = organes périsympathiques transverses et médians, 1-2-3 Tg Nv = nerf tergal des trois premiers ganglions abdominaux fusionnés au ganglion métathoracique, 1-2-3 Sr Nv = nerf sternal des trois premiers ganglions abdominaux fusionnés au ganglion métathoracique, vNv = nerf sympathique longitudinal médian.

(MdNv) 1 paire de nerfs maxillaires (MxNv), et 1 paire de nerfs innervant le labre (LbNv). Outre ces nerfs existent 3 paires de nerfs innervant le cou (nl, 2 et 3).

Les 2e, 3e et 4e ganglions occupent chacun 3 segments thoraciques. Ils constituent les ganglions thoraciques (fig. 5). Ils innervent les pattes et les 2 derniers les ailes. Le troisième ganglion thoracique est fusionné avec les trois premiers ganglions abdominaux.

La chaîne se poursuit par 5 ganglions abdominaux dont le dernier est appelé ganglion génital, car il innerve l'appareil génital mâle ou femelle.

De chaque ganglion thoracique ou abdominal partent ventralement des nerfs qui innervent les tergites (dorsaux) et les sternites (ventraux).

Structure du ganglion

Chaque ganglion est entouré d'une enveloppe ou membranes neurales et comprend une zone périphérique renfermant les corps cellulaires des neurones et une zone centrale contenant les prolongements. Les neurones sont généralement de type unipolaire avec un corps cellulaire placé en dérivation et réuni aux prolongements par un pédoncule. De ce fait, il n existe pas de zone de contact dans la zone périphérique. Les corps cellulaires ventraux appartiennent à des neurones d'association et les corps cellulaires dorsaux à des neurones moteurs.

La zone centrale est composée de 2 types de fibres : des fibres en route sans terminaison et des fibres enchevêtrées avec synapses.

Cellules neurosécrétrices

Certains neurones ont une activité sécrétoire de glande et sont appelés cellules neurosécrétrices. Les produits synthétisés sont soit des amines soit des peptides.

Visualisation des produits de neurosécrétion

Produits aminiques : deux techniques anatomiques

- Autofluorescence : les amines biogènes ont la propriété de former un composé fluorescent lorsqu'elles sont fixées par le formol mais ce composé est soluble dans l'eau. L'autofluorescence n'est donc visible que dans un tissu déshydraté. La longueur d'onde de la fluorescence émise diffère selon l'amine : verte pour les catécholamines, jaune pour les indolamines.
- Immunocoloration : les amines sont révélées par des anticorps spécifiquement dirigés contre les amines (généralement couplées à des protéines) et marquées soit par une substance fluorescente soit par des enzymes (révélées par leur substrat).

Produits peptidiques : deux techniques anatomiques

- Colorants signalétiques : les colorants signalétiques sont soit des colorants acides (éosine, azocarmin) qui se fixent sur des produits de neurosécrétion à groupements basiques (type B) soit des colorants basiques (fuchsine paraldéhyde, bleu Victoria) qui se

fixent sur des produits de neurosécrétion à groupements acides obtenus après oxydation (type A)

- Immunocoloration : cette technique utilise de nombreux anticorps dirigés contre des hormones de Vertébrés ou d'Invertébrés.

Topographie des cellules neurosécrétrices

Corps cellulaires aminergiques

Leur distribution est comparable à celle du criquet grégaire ou solitaire.

Cerveau : fig. 6, à droite vue antérieure, à gauche vue plus postérieure.

Il contient quelques corps cellulaires sérotoninergiques (cercles pleins) dans le protocérébron (P) médian et en particulier dans la pars intercerebralis (PI); de plus nombreux corps

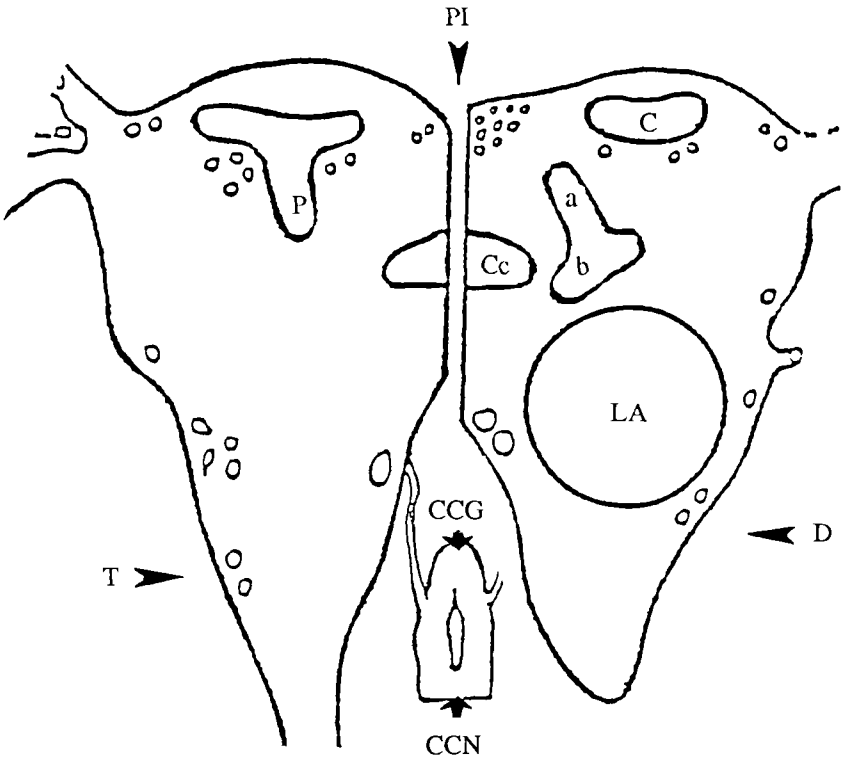


Figure 6. Projections sur coupes transversales du cerveau des corps cellulaires sérotoninergiques (cercles pleins) et dopaminergiques (cercles vides). *(Représentaiton schématique d'après J. Vieillemaringe, 1988).* A droite demi-section antérieure, à gauche demi-section postérieure.
ab = racines des corps pédonculés, c = calice, Cc = corps central CCG = corpora cardiaca glandulaire, CCN = corpora cardiaca nerveux, D = deutocérébron ou cerveau moyen, LA = lobe antennaire, P = protocérébron ou cerveau antérieur, PI = pars intercerebralis, T = tritocérébron ou cerveau postérieur.

cellulaires dopaminergiques (cercles vides) dans le protocérébron médian et aussi latéral sous le calice (C) du corps pédonculé (P), dans le deutocérébron (D) en périphérie du lobe antennaire (LA) et dans le tritocérébron (T).

Chaîne nerveuse ventrale : fig. 7

Tous les ganglions de la chaîne ganglion sous-œsophagien (GSO) les 3 ganglions thoraciques (G Th 1, 2 et 3) et les ganglions abdominaux (G Abd) contiennent des corps cellulaires dopaminergiques (cercles vides). Les corps cellulaires sérotoninergiques (cercles pleins) sont limités aux ganglions thoraciques et à l'avant dernier ganglion abdominal.

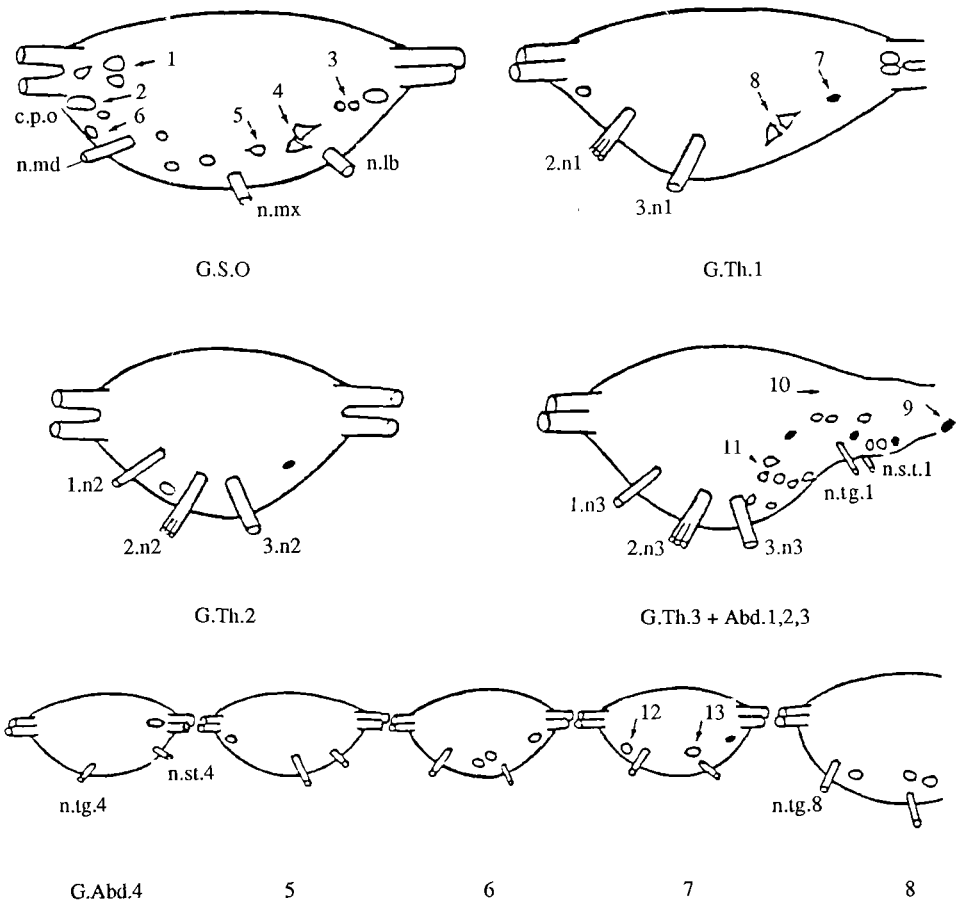


Figure 7. Projections sur coupes sagittales des ganglions de la chaîne nerveuse ventrale des corps cellulaires sérotoninergiques (cercles pleins) et dopaminergiques (cercles vides). *(Représentation schématique d'après J. Vieillemaringe 1988).*

c.p.o = collier périoesophagien, G.S.O = ganglion sous-œsophagien, G.Th.1 = ganglion thoracique 1, G.Th.2 = ganglion thoracique 2, G/Th.3+Abd.1,2,3 = ganglion métathoracique fusionné aux trois premiers ganglions abdominaux, G. Abd. 4,5,6,7 et 8 = ganglions abdominaux 4 à 8, 1,2,3.n = nerf somatiques, n/lb = nerf labial, n.md = nerf mandibulaire, n.mx = nerf maxillaire, n.st. = nerf sternal, n;tg. = nerf tergal.

Corps cellulaires peptidergiques

Ils sont présents dans tout le système nerveux central.
Les cellules de type B (produit de sécrétion à groupements basiques) sont plus répandues que les cellules de type A (produit de sécrétion à groupements acides après oxydation) qui sont limitées à la pars intercerebralis et à 2 péricaryons de type A du ganglion sous-œsophagien.

L'utilisation d'anticorps dirigés contre des hormones de Vertébrés ou d'Invertébrés a permis d'augmenter le nombre et la variété de cellules neurosécrétrices détectées et a amélioré considérablement la visualisation des prolongements. Il est impossible de donner une topographie détaillée de toutes les cellules peptidergiques.
Exemples :

- La distribution des corps cellulaires immunocolorés par un anticorps anti-cholecystokinine est schématisée au niveau du cerveau du ganglion sous-œsophagien (fig. 8) et des ganglions thoraciques (figs. 9 B et C) et abdominaux (fig. 9 D).
- La topographie des prolongements des 2 péricaryons de type A immunocolorés par un anticorps anti-vasopressine dans le ganglion sous-œsophagien qui envahissent tout le système nerveux central est schématisée dans le ganglion sous-oesophagien et le cerveau (fig. 10) et dans un ganglion thoracique (fig. 11).

Cellules à la fois aminergiques et peptidergiques

Malgré des études de colocalisation peu avancées il apparait que des cellules neurosécrétrices peuvent élaborer à la fois une amine et un peptide et même plus d'un peptide.
Exemples :

- Les cellules neurosécrétrices protocérébrales médianes de type Al produisent de la dopamine et la neuroparsine chez le criquet migrateur.
- Les 2 cellules de type A du ganglion sous-œsophagien du criquet pèlerin produisent une substance apparentée immunologiquement à la vasopressine et un peptide présentant des analogies de séquence avec le facteur cardioaccélération des mollusques.

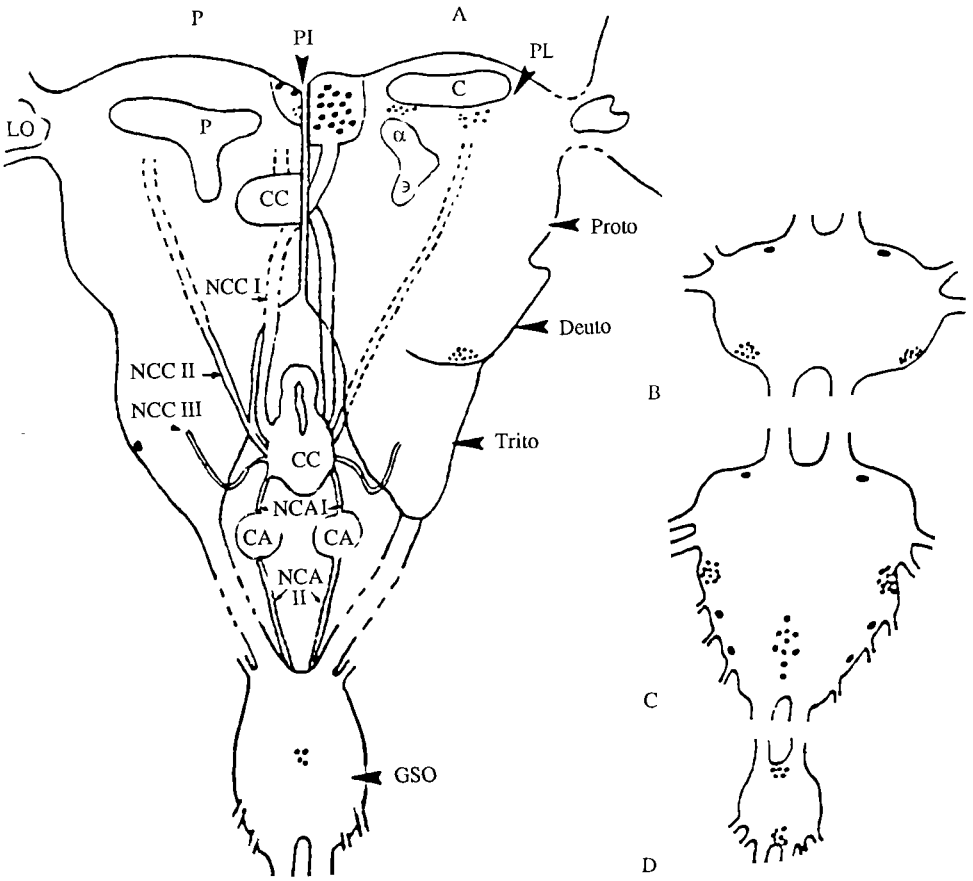
Terminaisons axoniques

Les axones des cellules neurosécrétrices peuvent se terminer:

- dans le neuropile en établissant des contacts synaptiques avec des prolongements d'autres neurones. Exemple : les fibres des cellules dopaminergiques du tritocérébron et du protocérébron médian postérieur pourraient se terminer au niveau du corps central (cc, fig. 6).
- dans les nerfs juste au-dessous des enveloppes et les produits libérés pourront parvenir dans l'hémolymphe. Exemple : les axones des 2 cellules de type A du ganglion sous-oesophagien se terminent dans la partie proximale de chaque nerf du ganglion sous-oesophagien ou des ganglions thoraciques et abdominaux.
- au contact de l'organe cible

Exemple : certains prolongements des cellules peptidergiques de la pars lateralis qui empruntent le nerf paracardiaque externe (N2, NccII) se terminent au voisinage des cellules des corpora allata (CA) (fig. 8).

- en se rassemblant pour former un organe neurohémal directement baigné par l'hémolymphe

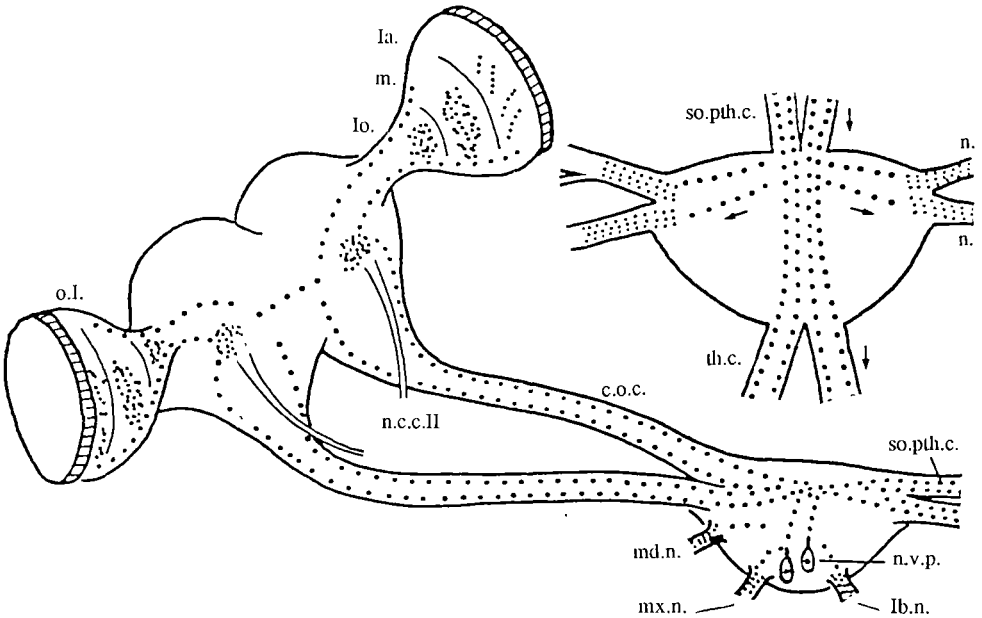


Figures 8 et 9. Projections sur coupes transversales du cerveau et de trois ganglions de la chaîne nerveuse ventrale des corps cellulaires immunocolorés par un anticorps anti-cholécystokinine *(selon M. Tamarelle et al., 1988).*
A = section antérieure, P = section postérieure du cerveau, B = ganglion mésothoracique, C = ganglion métathoracique, D = dernier ganglion abdominal.
C = calince des corps pédonculés, CA = corpora allata, CC = corps central cc = corpora cardiaca, DEUTO = deuto cérébron ou cerveau moyen, GSO = ganglion sous-œsophagien, LO = lobe optique, NCA I = nerf allato-cardiaque NCA II = nerf reliant les corpora allata au ganglion sous-œsophagien, NCC I, II et III = nerfs paracardiaques I, II et III, .P = corps pédonculé, PI = pars intercerebralis, PL = protocérébron latéral, PROTO = protocérébron, TRITO = tritocérébron.

Il existe deux types d'organes neurohémaux :

- *Les corpora cardiaca* (figs. 6 et 8) qui regroupent les extraits axoniques des cellules neurosécrétrices principalement cérébrales,

- *Les organes périsympathiques* (fig. 5) à disposition métamérique sur les nerfs sympathiques médians et transverses qui regroupent des terminaisons axoniques des cellules neurosécrétrices de type B de la chaîne nerveuse ventrale.



Figures 10 et 11. Vue postérieure du cerveau relié au ganglion sous-œsophagien et du ganglion prothoracique isolé. Représentation schématique de la distribution des fibres et des corps cellulaires immunocolorés par un anticorps anti-vasopressine *(d'après C. Rémy et J. Girardie 1980).*
c.o.c. = collier périoesophagien, La. = lamina, Lb.n = nerf labial, Lo. = lobula, m.d.n. = nerf mandibullaire, mx. n. = nerf maxillaire, n.2 et n.3 = nerfs somatiques, n.c.c.II = nerf paracardiaque II, n.v.p. = corps cellulaire immunocoloré, o.&. = lobe optique, so.pth.c. = connectif sous-œsophagien, th.c. = connectif thoracique.

Caractéristiques ultrastructurales des cellules neurosécrétrices (fig. 12)

Les cellules neurosécrétrices se distinguent des neurones conventionnels par un développement important des organites responsables de la synthèse protidique : ribosomes, reticulum endoplasmique rugueux ou ergastoplasme et dictyosomes. Les produits de neurosécrétion sont séquestrés dans des vésicules et peuvent être plus ou moins transparents aux électrons. Les vésicules sont généralement globuleuses, parfois ovoïdes, leur diamètre varie de 100 à 300 nm. Le diamètre des vésicules est inférieur ou égal à 100 nm lorsque le produit de neurosécrétion est unique dans la vésicule et est de nature aminique. Le diamètre des vésicules est supérieur à 100 nm si celles-ci contiennent des peptides.

Glandes endocrines

Corpora cardiaca

Ce sont deux épaississements pyriformes de la paroi aortique allongés dorso-ventralement juste en arrière du cerveau. Les deux corpora cardiaca sont nettement distincts l'un de

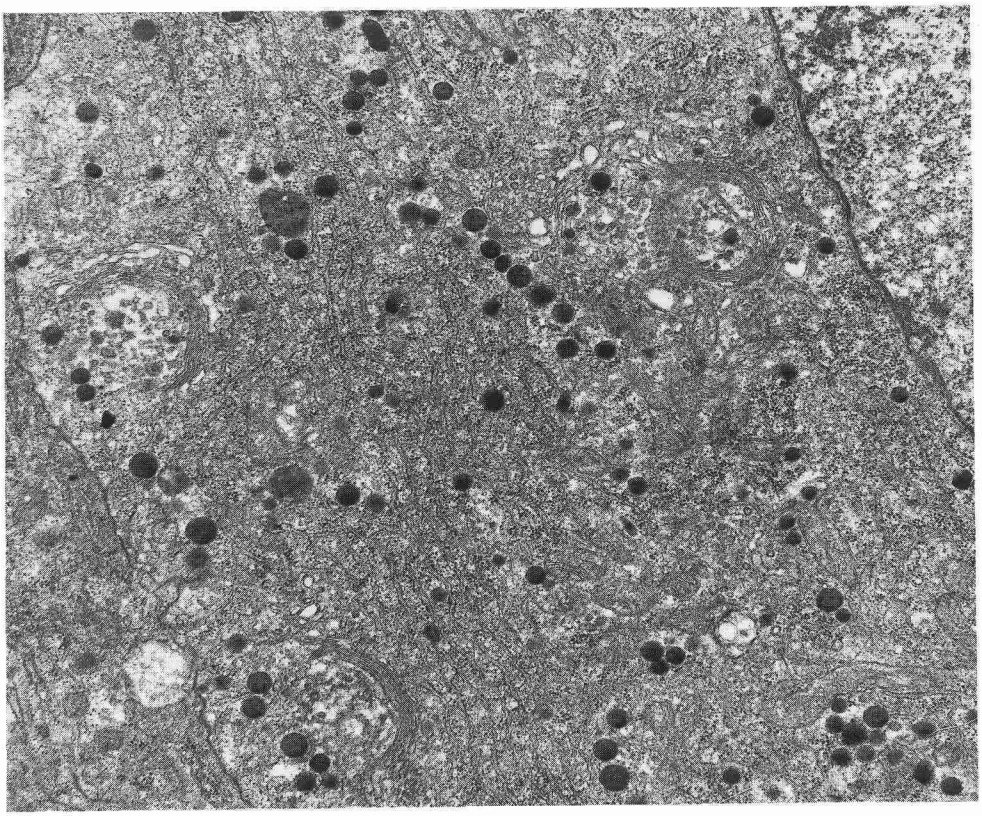


Figure 12. Coupe ultra-fine d'un corps cellulaire neurosécréteur de la pars intercerebralis. Important développement du réticulum rugueux et présence de nombreuses vésicules de neurosécrétion (x 13 000).

l'autre à leur extrémité dorsale, par contre, les extrémités ventrales se rejoignent et constituent le plancher du tube aortique.

Les corpora cardiaca sont constitués de 2 parties distinctes comme l'hypophyse : l'une glandulaire dorsale, l'autre nerveuse ventrale regroupant principalement les extrémités axoniques des cellules neurosécrétrices cérébrales.

Les corpora cardiaca glandulaires sont constitués de cellules assez volumineuses renfermant des vésicules de sécrétion de 300 nm de diamètre (fig. 14). Ces cellules présentent des prolongements ressemblant à des fibres et sont parfois considérées comme des cellules neurosécrétrices.

Entre ces cellules existent des fibres issues des cellules de la pars intercerebralis et des pars lateralis. Certaines de ces fibres renferment de petites vésicules (fig. 14, flèches) et appartiennent à des cellules aminergiques (octopaminergiques).

Corpora allata (figs. 13 et 14)

Ce sont deux petites masses fusiformes chez la larve (fig. 15) plus volumineuses et ellipsoïdales chez l'adulte (fig. 16) formées de cellules homogènes entourées d'une fine tunique conjonctive. Au pôle supérieur aboutit le nerf allato-cardiaque et au pôle inférieur le nerf provenant du ganglion sous-oesophagien (fig. 8). L'activité glandulaire est caractérisée par un développement important du réticulum endoplasmique lisse (fig. 18).

Glandes prothoraciques (fig. 15)

Ce sont deux rubans, présentant des renflements et rétrécissements variés, fixés par leur extrémité dorsale sur la boite crânienne, reposant dans leur partie moyenne sur le tentorium (T) et ventralement sur la mandibule (Md).

Présentes chez les larves, elles disparaissent chez l'adulte grégaire Contrairement aux cellules des corpora allata, les cellules des glandes prothoraciques (appelées aussi glandes ventrales) sont de forme très irrégulière et ont des noyaux de taille extrêmement variable (fig. 20). Les organites cellulaires ne sont pas très caractéristiques d'une production d'hormone lipidique qui est l'ecdysone, car le reticulum endoplasmique est peu développé (fig. 21).

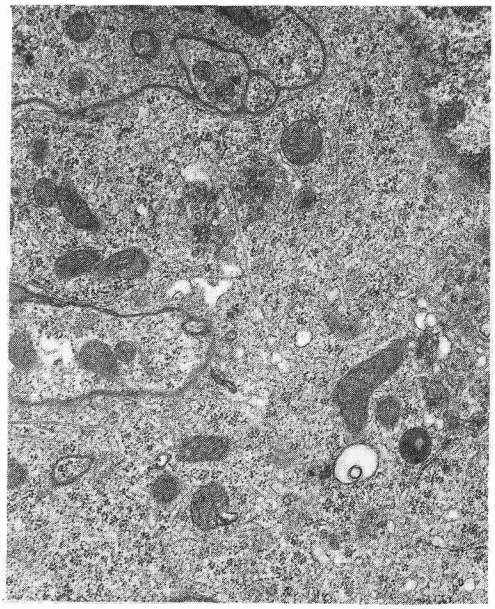


Figure 13. Coupe ultrafine de corpora allata larvaire. Pauvreté en reticulum lisse. (x 10 000).

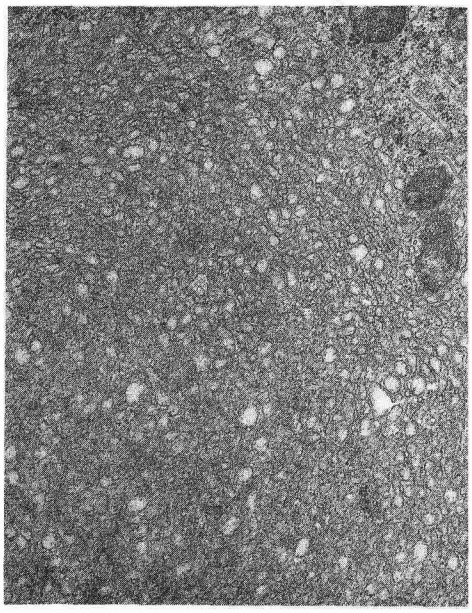


Figure 14. Coupe ultrafine de corpora allata. Adulte en vitellogenèse. Développement considérable du reticulum lisse. (x 10 000).

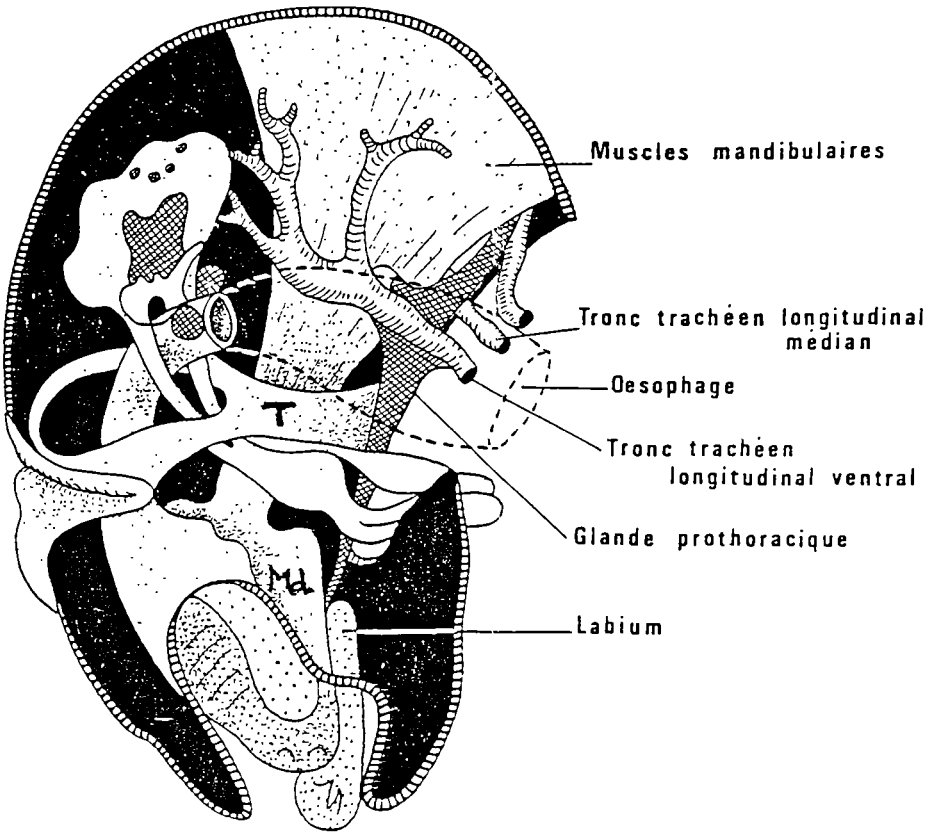


Figure 15. Coupe parasagittale de la tête montrant la position de la glande prothoracique. (*Représentation schématique d'après M. Hirn 1978*). Md = mandibule, T = tentorium.

Chimie des produits de sécrétion

Produits lipidiques

Ecdysone

C'est la première hormone d'insecte caractérisée par Karlson et coll (1965) et Huber et Hoppe (1965).

C'est un stéroïde commun à tous les insectes et même à tous les arthropodes.

Elle est produite par les cellules de la glande prothoracique. Elle contrôle la mue et les phénomènes de morphogenèse.

Hormone juvénile

Hormone caractérisée par Röller et coll. (1967). C'est un sesquiterpène qui existe sous au moins cinq formes selon les insectes. Seule la JH3 (trois radicaux identiques) est présente chez le criquet.

Elle est produite par des cellules de corpora allata. Elle est responsable de l'expression des caractères larvaires, contrôle la pigmentation verte et la maturation sexuelle.

Produits aminiques

L'utilisation de la chromatographie liquide à haute performance et les dosages radioenzymatiques ont permis de confirmer la production de plusieurs amines : dopamine, sérotonine, octopamine et acide «gamma»aminobutyrique (GABA).

Certains de ces amines semblent libérés dans l'hémolymphe et pourraient agir comme des hormones. Leur rôle est encore à l'étude.

Produits peptidiques

Actuellement six produits de neurosécrétion sont chimiquement caractérisés. Leurs séquences permettent de les classer en trois catégories en fonction des analogies qu'elles possèdent avec d'autres hormones de vertébrés ou de groupes d'invertébrés autres que les insectes.

Hormones analogues d'hormones d'Invertébrés

Les hormones adipocinétiques (AKH I et AKH II)

Elles présentent des analogies de séquence avec l'hormone de concentration des pigments rouges des crustacés (RPCH).

L'AKH I est la première hormone peptidique caractérisée chez les insectes :

pGlu-Leu-Asn-Phe-Thr-Pro-Asn-Trp-Gly-Thr NH2

Criquet migrateur	(Stone et coll. 1976)
Criquet pèlerin	(Siegert et coll. 1985)

L'AKH II est différente chez les deux criquets :

Criquet migrateur	pGlu-Leu-Asn-Phe-Ser-Ala-Gly-Trp NH_2
Criquet pèlerin	pGlu-Leu-Asn-Phe-Ser-Thr-Gly-Trp NH_2
	(Siegert et coll. 1985)

Les deux hormones sont produites par les cellules glandulaires des corpora cardiaca. Elles stimulent le métabolisme glucido-lipidique.

Peptide identique au peptide cardioaccélérateur des crustacés

H Pro-Phe-Cys-Asn-Ala-Phe-Thr-Gly-Cys NH2
(Stangier et coll. 1989).

Cette hormone a été isolée du système nerveux central du criquet migrateur. Elle stimule l'intensité et la fréquence des contractions de l'intestin.

Peptide apparenté au tétrapeptide cardioaccélérateur des mollusques (FMRFamide)

H Pro-Asp-Val-Asp-His-Val-Phe-Leu-Arg-Phe NH2
(Robb et coll. 1989).

Cette hormone est produite par les deux cellules de type A du ganglion sous-oesophagien du criquet pèlerin. Elle agit sur le coeur de façon biphasique en le stimulant puis l'inhibant et potentialise les contractions du muscle extenseur du tibia.

Hormones analogues d'hormones de Vertébrés

L'hormone diurétique immunologiquement apparentée à la vasopressine (IDH AVP-like)

C'est un dimère antiparallèle dont le monomère présente de grandes analogies de séquence avec la vasotocine et la vasopressine.

H Cys-Leu-Ile-Thr-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly NH2
NH2 Gly-Arg-Pro-Cys-Asn-Thr-Ile-Leu-Cys H
(Proux et coll. 1987).

Cette hormone est synthétisée par les deux cellules neurosécrétrices de type A du ganglion sous-oesophagien du criquet migrateur. Elle stimule l'excrétion de l'urine par les tubes de Malpighi.

Locustasulfakinine

Elle présente des analogies de séquence avec la gastrine et la cholécystokinine.

SO3H?
pGlu-Leu-Ala-Ser-Asp-Asp-Tyr-Gly-His-Met-Arg-Phe NH_2
(Schoofs et coll. 1989)

Cette hormone a été isolée du cerveau et stimule les contractions de l'intestin.

Neuroparsine

Cette neurohormone ne présente pas d'analogie de séquence avec d'autres hormones séquencées. C'est un dimère dont le monomère comporte 78 acides aminés dont 12 cystéines.

HSer-Cys-Glu-Gly-Ala-Asn-Cys-Val-Val-Asp-Leu-Thr-Arg-Cys-Glu-Tyr-Gly-Asp-Val-Thr-Asp-Phe-Phe-Gly-Arg-Lys-Val-Cys-Ala-Lys-Gly-Pro-Gly-Asp-Lys-Cys-Gly Gly-Pro-Tyr-Glu-Leu-His-Gly-Lys-Cys-Gly-Val-Gly-Met-Asp-Cys-Arg-Cys-Gly-Leu-Cys-Ser-Gly-Cys-Ser-Leu-His-Asn-Leu-Gln-Cys-Phe-Phe-Phe-Glu-Gly-Gly-Leu-Pro-Ser-Ser-CysOH
(Girardie et coll. 1989)

Cette neurohormone est synthétisée par les cellules protocérébrales médianes de type Al. Elle stimule le métabolisme glucidolipidique, la réabsorption de l'eau par le rectum et s'oppose aux effets chromatotrope, juvénilisant et gonadotrope de l'hormone juvénile.

La lutte anti-acridienne. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris © 1991, pp. 119-127.

8

Régulation endocrinienne du développement, de la reproduction et du polymorphisme phasaire.

A. GIRARDIE

Laboratoire de Neuroendocrinologie, URA CNRS 1138, Université de Bordeaux I, Avenue des Facultés, 33405 Talence Cedex, France

Le polymorphisme phasaire des criquets grégarisables présente des différences physiologiques dont certaines suggèrent un déterminisme endocrinien. La phase solitaire se caractérise par une forte teneur en hormone juvénile (JH), par un stade larvaire surnuméraire, par une pigmentation verte, par la pérennité de la glande de mue chez l'adulte, par une vie imaginale plus longue, par une fertilité et un rythme cardiaques élevés. Les grégaires se distinguent par une forte consommation d'oxygène, par des marches et des vols soutenus, par un développement larvaire plus rapide, par une tendance à la diapause imaginale et par une pigmentation sombre.

Système ecdystéroïde

L'ecdysone ou hormone de mue est produite par les glandes de mue (PTG) chez la larve (mues larvaires et imaginales) et par les cellules folliculaires des ovaires chez l'adulte (développement embryonnaire). Les PTG dégénèrent à la fin de la vie larvaire chez les criquets grégaires alors qu'elles se maintiennent toute la vie chez les solitaires.

Synthèse de l'ecdysone

Le cholestérol est le précurseur indispensable de l'ecdysone. L'insecte est incapable de le synthétiser (pas de squalène synthétase) d'où nécessité de l'apporter dans le régime ali-

mentaire. Le cholestérol ingéré et assimilé se lie à une protéine hémolymphatique et c'est ce complexe cholestérol-protéine qui est incorporé par pinocytose par les PTG qui assurent l'ecdysiogenèse.

L'ecdysone est libérée dans l'hémolymphe où elle se transforme en 20-0H-ecdysone sous l'action d'une hydrolase du corps gras, de l'intestin moyen, des tubes de Malpighi et du tégument. Le transport hémolymphatique des ecdystéroïdes est assuré par une protéine porteuse de 280 KD.

La cinétique de l'ecdysone circulante présente 2 pics : un petit pic au début du stade et un grand pic dans la 2e moitié du stade.

Régulation de l'ecdysiogenèse

La production d'ecdysone par les PTG dépend de plusieurs facteurs.

Autonomie des PTG

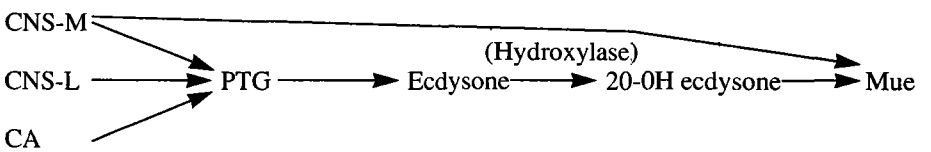
En culture et en l'absence de facteurs prothoracotropes exogènes, les PTG sécrètent de l'ecdysone suggérant une certaine autonomie des glandes de mue.

PTTH cérébrale

Le cerveau, par ses cellules neurosécrétrices médianes (CNS-M) et latérales (CNS-L), produit un (ou des) facteur prothoracotrope (PTTH) qui stimule la sécrétion d'ecdysone par les PTG. De plus, les CNS-M élaborent une neurohormone responsable de l'exuviation (rejet de l'ancienne cuticule). Les types de cellules neurosécrétrices prothoracotropes et d'exuviation ne sont pas encore connus.

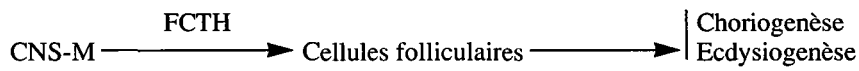
JH

L'ecdysiogenèse des PTG *in vitro* est stimulée par l'addition de JH au milieu de culture. La JH aurait donc une fonction prothoracotrope.



FCTH

Chez la femelle adulte à la fin de la vitellogenèse, les cellules folliculaires élaborent le chorion de nature protéique et de l'ecdysone qui est un stéroïde. Ces biosynthèses folliculaires dépendent d'une neurohormone de la pars intercerebralis, la Follicle Cell Trophic Hormone (FCTH).



Dégradation et inactivation de l'ecdysone

La demi-vie de l'ecdysone est de 1 heure. Sa dégradation et son inactivation se font par oxydation, hydroxylation, isomérisation et conjugaison avec des sulfates ou de l'acide glucoronique ou des sucres. Les produits de conjugaison peuvent représenter des forme de réserve ou de dégradation ou d'inactivation.

Rôles physiologiques

Mue

Le premier pic d'ecdysone circulante est constitué essentiellement d'ecdysone. Il est responsable de la crise mitotique des cellules épidermiques conduisant à l'apolyse (décollement cuticulaire). Le 2e pic, plus important, contient surtout de la 20-0H ecdysone ; il est responsable de la synthèse de la nouvelle cuticule.

La chute d'ecdystéroïdes circulants entre les 2 pics est nécessaire à la mue. L'injection d'ecdysone à cette période empêche la réabsorption du liquide exuvial d'où retard et même suppression de la mue.

Développement embryonnaire

Chez la femelle adulte, l'ecdysone ovarienne passe dans les ovocytes sous forme de conjugués. Dans l'oeuf, les conjugués sont hydrolysés au cours du développement embryonnaire pour redonner de l'ecdysone responsable de la réinitiation méiotique et des mues embryonnaires.

Polymorphisme phasaire

Certains auteurs (Carlisle et Ellis) ont envisagé que les PTG agiraient sur 2 caractères phasaires : pigmentation et activité locomotrice des grégaires. Leurs résultats n'ont pas été confirmés par des injections d'ecdysone.

Le système hormone juvénile

Chez le criquet, l'hormone juvénile est de la JH-3 en C16. Chez la larve et l'adulte, elle est introduite uniquement par les corpora allata (CA). Chez l'embryon, l'enveloppe séreuse est une source de JH.

Chez la larve, elle empêche la métamorphose (action inhibitrice) : à la fin de la vie larvaire, peu à pas de JH circulante d'où mue de métamorphose imaginale. Chez l'adulte, elle stimule la fonction gonadotrope (action stimulatrice de la vitellogenèse et de l'activité des glandes accessoires mâles).

Biosynthèse de la JH

Le précurseur de la JH est l'acétyl CoA provenant du catabolisme des glucides, lipides et protéines. La biosynthèse de la JH est évaluée par un dosage radiochimique qui n'a pas permis de saisir une baisse d'activité des CA au dernier stade larvaire. C'est donc la dégradation de la JH qui doit débarrasser l'hémolymphe de sa JH pour permettre la métamorphose.

Chez la femelle adulte, il y a un petit pic d'activité en relation avec la prévitellogenèse, et un grand pic à la vitellogenèse. Chez le mâle adulte, le profil d'activité est régulier avec un léger pic au moment où apparaissent les accouplements et la formation des spermatophores.

Les CA ont une activité pulsatile et présentent un fonctionnement asymétrique. Le gauche a une activité de biosynthèse différente de celle du droit interdisant de prendre un CA comme témoin de l'autre.

Régulation de la teneur en JH circulante

La teneur hémolymphatique en JH dépend de la biosynthèse de l'hormone, de sa fixation tissulaire, de sa dégradation et de son excrétion.

Contrôle de la biosynthèse de la JH

Les CNS-M et CNS-L du cerveau produisent des facteurs allatostimulateurs et peut-être allatoinhibiteurs qui régulent la biosynthèse de la JH.

L'ovaire contrôlerait les variations d'activité des CA au cours du cycle ovocytaire. En fin de vitellogenèse, l'ovaire élabore un facteur allatoinhibiteur qui fait chuter la biosynthèse de JH au moment de la choriogenèse.

Dégradation de la JH

Chez le criquet migrateur, la JH circulante est associée à une protéine porteuse de 556 KD, la JHBP qui rend l'hormone soluble dans l'hémolymphe, la protège contre les enzymes de dégradation et empêche sa fixation non spécifique sur les tissus.

La demi-vie de la JH hémolymphatique est de deux heures. Sa dégradation est assurée par des estérases conduisant à la JH acide, et par des hydrolases donnant de la JH diol.

Anti-JH

La neuroparsine, neurohormone produite par les CNS-M de type Al, a une fonction anti-JH qui pourrait s'exprimer en augmentant la production des enzymes de dégradation de la JH.

Les précocènes I et II, qui sont des chronèmes simples isolés des plantes du genre *Ageratum*, induisent des métamorphoses anticipées et stérilisent les femelles adultes des insectes hétérométaboles dont le criquet. Les effets des précocènes sont dus à une dégénérescence des CA (allatectomie chimique). La forte activité époxydasique des CA métabolise le précocène en une substance cytotoxique (3,4 époxyprécocène) pour les CA.

On connait tout un ensemble de molécules (fluoromévalonate, compactine, mévinoline, ETP...) qui inhibent la biosynthèse de la JH en se substituant à des substrats naturels de la voie de biosynthèse de l'hormone. La plupart de ces molécules viennent d'être retirées du commerce car elles sont cancérigènes.

Rôles physiologiques de la JH

Hormone du statu quo

Chez le criquet, toute mue qui se prépare avec de la JH sera larvaire; s'il y a peu de JH, la mue donnera un adulte imparfait; sans JH, il y a mue imaginale parfaite.

La JH empêche la programmation des caractères imaginaux en maintenant les caractères larvaires. Elle inhibe les synthèses d'ARNm responsables des caractères imaginaux. C'est l'hormone du *statu quo* qui empêche le développement de nouvelles séquences de synthèse. Elle favorise la répétition des synthèses du stade précédent.

Fonctions gonadotropes

Chez la femelle adulte, la JH est une hormone gonadotrope polytrophique. Elle est responsable de la maturation du corps gras : les adipocytes s'appauvrissent en lipides, deviennent polyploïdes et présentent une intense protéosynthèse dont celle de la vitellogénine (Vg). Elle contrôle l'incorporation de la Vg dans les ovocytes en induisant le développement des microvillosités apicales des cellules folliculaires (accroissement de la surface d'échange), en augmentant les espaces entre les cellules folliculaires et les ovocytes, et en provoquant la capture de la Vg par pinocytose. Elle modifie les propriétés physico-chimiques des membranes intersegmentaires qui deviennent plus souples facilitant ainsi l'allongement abdominal au moment de la ponte.

Chez le mâle, la spermatogenèse est indépendante de la JH. Mais l'hormone induit la production de la phéromone mâle et stimule l'activité des glandes accessoires mâles (production des spermatophores).

Chez la larve du dernier stade, la déficience en JH provoque, d'une part la différenciation des cellules glandulaires épidermiques qui produisent la phéromone gonadotrope mâle chez le criquet migrateur, et d'autre part la programmation de la métamorphose qui correspond à une véritable puberté des deux sexes rendant la sphère génitale sensible aux hormones gonadotropes.

Fonction chromatotrope

La JH induit le verdissement tégumentaire par synthèse des ommochromes épidermiques. C'est la teneur élevée en JH qui produit le verdissement des solitaires.

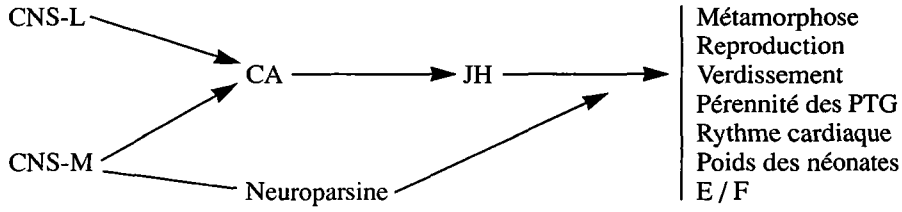
Les grégaires mâles de *Locusta* et des 2 sexes de *Schistocerca* deviennent jaunes à la maturité sexuelle. Ce jaunissement tégumentaire est étroitement lié à la JH : l'allatectomie empêche le jaunissement qui est rétabli par une implantation de CA ou une injection de JH. Par contre, les solitaires ne jaunissent pas, bien que leur teneur en JH soit élevée. Il faut donc admettre que des stimuli exercés par la vie de groupe rendent le tégument apte à jaunir sous l'action de la JH chez les grégaires.

Rythme cardiaque

Le rythme cardiaque est accéléré après implantation de CA ou injection de JH, et diminué par allatectomie. L'hormone aurait donc une fonction myotrope dont on ignore encore le mode d'action.

Polymorphisme phasaire

Certains caractères solitaires sont dus à une teneur en JH circulante plus élevée : persistance des PTG, un stade larvaire supplémentaire, forte fertilité, verdissement, rythme cardiaque élevé, faible poids des néonates, et le rapport E/F (longueur de l'élytre / la longueur du fémur métathoracique) plus faible.



JH et polymorphisme phasaire chez le criquet migrateur

Métabolisme énergétique

Les criquets grégarisables peuvent effectuer de longs vols pendant lesquels ils puisent dans leurs réserves glucidiques et surtout lipidiques l'énergie nécessaire à cette activité musculaire soutenue.

Les sucres sont stockés dans les corps gras sous forme de glycogène (réserve tissulaire) et sont transportés dans le sang sous forme de tréhalose (réserve circulante). Les lipides sont immobilisés dans le corps gras sous forme de triglycérides alors que la forme circulante est représentée par des diglycérides qui constituent le principal combustible pour les muscles du vol en activité soutenue du criquet. La tréhalosémie et la lipémie sont sous le contrôle d'hormones hyper et hypotréhalosémiantes, hyper et hypolipémiantes (figs. 1 et 2).

Hormones hypertréhalosémiantes et hyperlipémiantes

AKH : pGlu-Leu-Asn-Phe-Thr-Pro-Asn-Trp-Gly-ThrNH2 (AKH-I locusta)

L'AKH (hormone adipocinétique), produite par les cellules glandulaires des corpora cardiaca, a une activité hypertréhalosémiante et hyperlipémiante en agissant sur la phosphorylase et la lipase du corps gras via l'AMPc et Ca^{++}. Elle favorise aussi l'utilisation des diglycérides par oxydation des acides gras au niveau des muscles alaires. L'AKH appar-

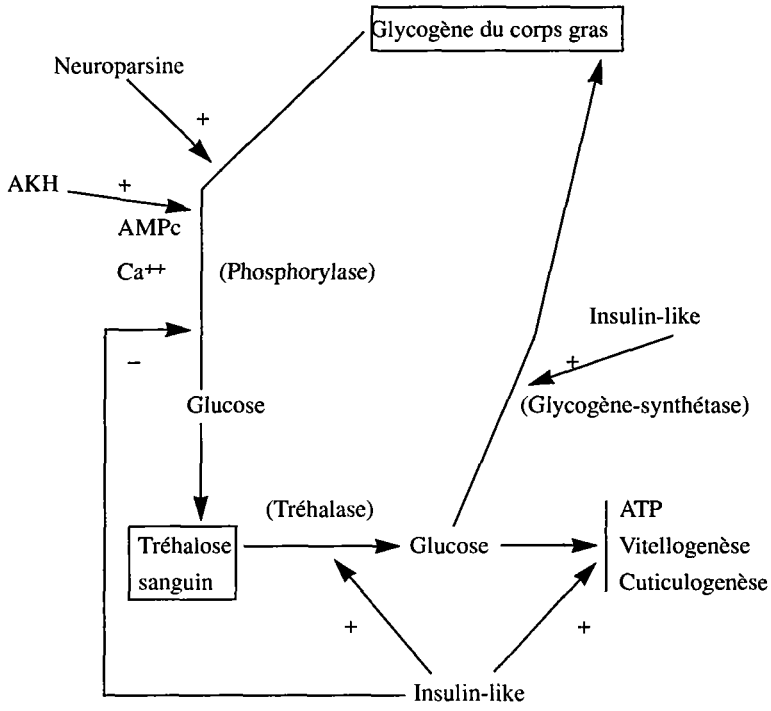


Figure 1. Contrôle endocrine de la tréhalosémie du criquet migrateur

tient à une famille de neuropeptides des arthropodes qui ont des structures très voisines et des fonctions semblables (hypertréhalosémiantes chez le criquet, hypolipémiantes chez la blatte, myotropes chez le phasme et concentration des pigments rouges chez la crevette).

La libération de l'AKH dépend de la tréhalosémie. Au cours du vol ou du jeûne, la baisse du tréhalose circulant stimule des CNS-L octopaminergiques dont les terminaisons situées dans les lobes glandulaires des corpora cardiaca commandent la libération de l'AKH. Chez le criquet au repos, la teneur élevée en tréhalose inhibe les neurones octopaminergiques d'où blocage de la libération de l'AKH.

Neuroparsine

La neuroparsine (neurohormone de la pars intercerebralis) est aussi hypertréhalosémiante et hyperlipémiante chez le criquet. Les effets sont plus rapides, plus fugaces et moins importants que ceux de l'AKH.

Hormones hypotréhalosémiantes et hypolipémiantes

Du matériel apparenté immunologiquement à de l'insuline est produit par la pars intercerebralis et l'intestin du criquet. Le facteur insulino-semblable est hypotréhalosémiant et

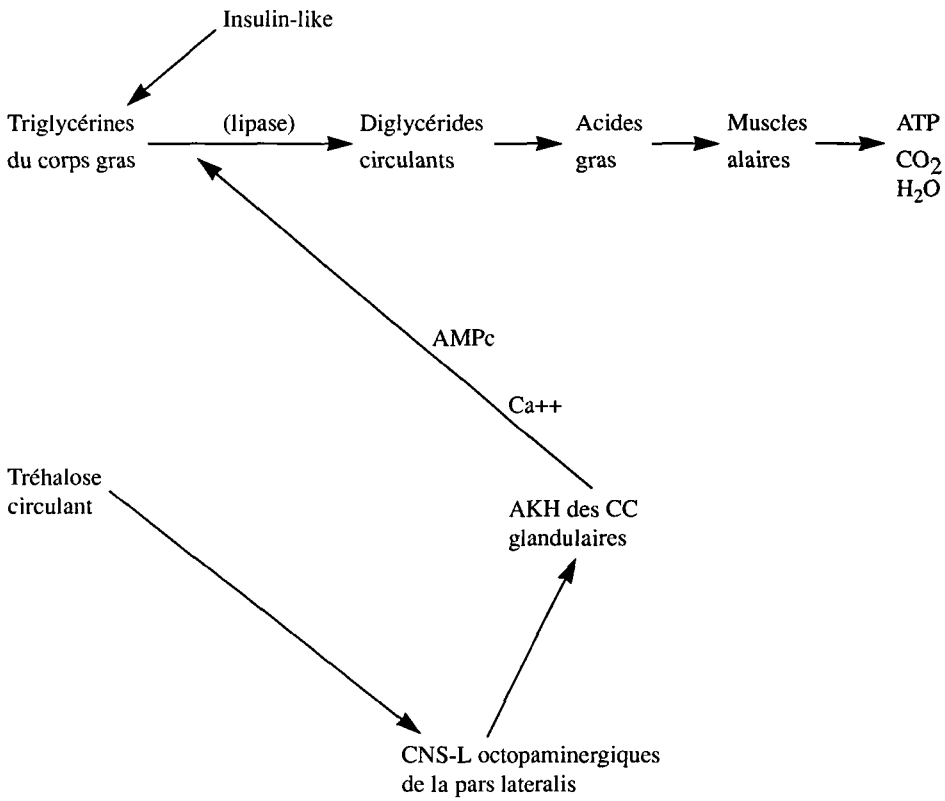


Figure 2. Contrôle endocrine de la lipémie chez le criquet migrateur

hypolipémiant. Il diminue la tréhalosémie du criquet migrateur en favorisant l'utilisation tissulaire du glucose, en stimulant la capture du glucose par les muscles et en augmentant la synthèse du glycogène dans le corps gras. L'effet hypolipémiant s'exprime par une augmentation de la synthèse des triglycérides dans le corps gras.

Neuropeptides myotropes

Les criquets grégaires manifestent une intense activité locomotrice (marches, vols). Les organes de la vie végétative peuvent présenter une mobilité spontanée élevée (notamment celles du coeur et de l'intestin). Les mécanismes contrôlant ces activités font souvent intervenir des neuropeptides.

Proctoline : Hang-Tyr-Leu-Pro-Tro

La proctoline est une pentapeptide (HArg-Tyr-Leu-Pro-TrOH) du système nerveux des insectes qui a un effet myotrope sur le coeur, l'intestin et l'oviducte. Elle agit aussi sur des muscles squelettiques ayant une action comparable à celle de la sérotonine. Ainsi, la proctoline stimule la contraction des muscles extenseurs du tibia du criquet. Elle est plutôt considérée comme neuromodulateur et neurotransmetteur (récepteurs post-synaptiques).

SchistoFLRFamide : Hlro-Asp-Val-Asp-Hio-Val-Phe-Leu-Arg-Phe NH_2

Chez le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria*) un membre de la famille des FMRFamides (peptides cardioaccélérateurs des mollusques) a été isolé, le FLRFamide. *In vitro*, il a une action biphasique sur le coeur du criquet, d'abord cardioaccélérateur puis cardioinhibiteur. Il augmente aussi la contraction des muscles extenseurs du tibia du criquet.

Peptide cardioaccélérateur des crustacés : Hpro-Phe-Cys-Asn-Ala-Phe-Thr-Gly-cys NH_2

Récemment, un neuropeptide myotrope a été isolé et séquencé du système nerveux du criquet migrateur. C'est le peptide cardioaccélérateur des crustacés (CCAP). C'est un autre exemple d'une famille de neuropeptides chez les arthropodes. Chez le criquet, il a une activité myotrope sur l'intestin.

Conclusion

Les effets de groupe, les effets de masse et les facteurs abiotiques seraient les causes primaires du polymorphisme phasaire des criquets grégarisables. Quelques unes de ces informations seraient perçues et intégrées par le système nerveux qui en réponse induirait le développement de certains caractères phasaires. L'action du système nerveux est indirecte en régulant l'activité des glandes endocrines, en particulier celle des CA qui contrôleraient des caractères phasaires. Le cerveau peut aussi agir directement par ses CNS-M qui produisent un facteur assombrissant (peut-être la dopamine) responsable de la pigmentation sombre des grégaires. Cependant, il n'est pas possible d'expliquer tout le polymorphisme phasaire par une simple différence d'activité hormonale entre les deux phases. En effet, de nombreux caractères phasaires comme le rapport longueur du fémur métathoracique/largeur de la tête (F/C), la forme de la carène pronotale, le QR, l'inter-attraction des grégaires semblent échapper à toute régulation endocrinienne.

La lutte anti-acridienne. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris © 1991, pp. 129-134.

9

La régulation hormonale du métabolisme hydrique chez les criquets grégarisables

J. PROUX

Laboratoire de Neuroendocrinologie URA CNRS 1138, Université de Bordeaux I, Avenue des Facultés, 33405 Talence Cedex, France

Les criquets grégarisables comme tous les êtres vivants, ont besoin d'eau pour assurer leurs fonctions biologiques et pour chaque espèce existe un pourcentage d'eau corporelle optimum résultant d'un équilibre toujours instable entre les pertes et les gains.

Chez les criquets, les apports en eau sont principalement assurés par l'alimentation tandis que les pertes se répartissent entre l'excrétion (ou diurèse) et la transpiration. Du fait de leur caractère migrateur, les criquets vont séjourner au cours de leur vie dans des biotopes successifs dont la végétation et les conditions climatiques varient. Cette variabilité va entraîner celle des apports en eau ainsi que des pertes et il faudra qu'un mécanisme régulateur intervienne pour maintenir, autant que se peut, le pourcentage d'eau corporelle optimum, garant d'un bon état physiologique.

L'importance de cette régulation du métabolisme hydrique dépasse le maintien d'une hydratation corporelle quand on considère qu'elle pourrait intervenir sur le polymorphisme.

La transpiration

On entend par transpiration les pertes en eau par les spiracles et à travers la cuticule (respectivement 33% et 66% de la transpiration totale). Bien qu'importante (entre 70 et 260 mg/g/minute selon les criquets), cette perte en eau est indispensable puisque les animaux meurent quand on l'empêche. Elle dépend de la température (stable jusqu'à 50°C, elle

augmente ensuite de façon exponentielle) mais est peu influencée par des modifications de régime alimentaire et donc d'apport en eau (fig. 1).

La diurèse

Principale voie de l'élimination de l'eau corporelle elle est assurée par deux organes : les tubes de Malpighi et le rectum dont les fonctionnements sont modulés par des facteurs hormonaux.

Les organes de la diurèse (fig. 2)

Les tubes de Malpighi excrètent l'urine primaire dans laquelle se concentrent des anions et cations inorganiques : K^+, Na^+, Cl^- ... ou organiques : acide hippurique, sulfones et alcaloïdes. Cette urine se déverse dans le tube digestif entre les intestins moyen et posté-

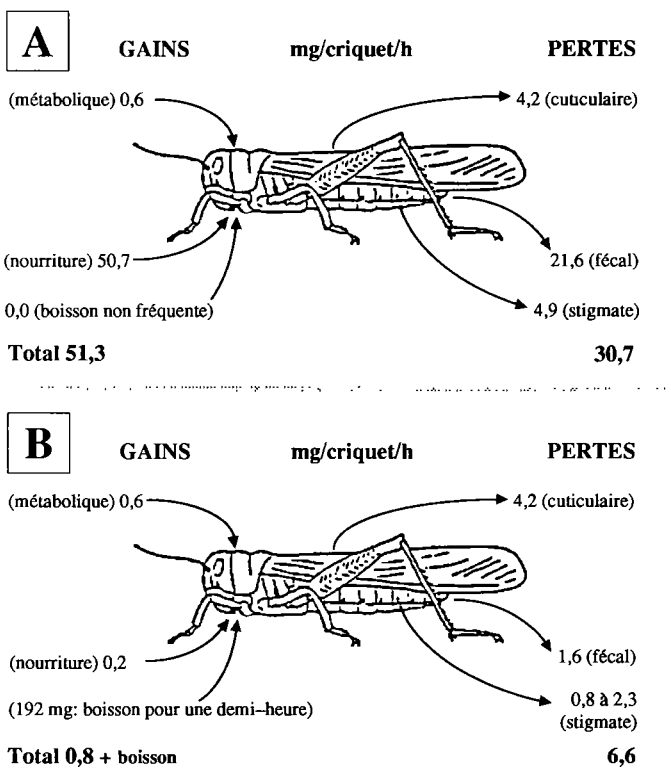


Figure 1. Equilibre hydrique de criquets recevant une nourriture normalement hydratée (A) ou déshydratée (B). (D'aprés J. P. Loveridge, 1975).

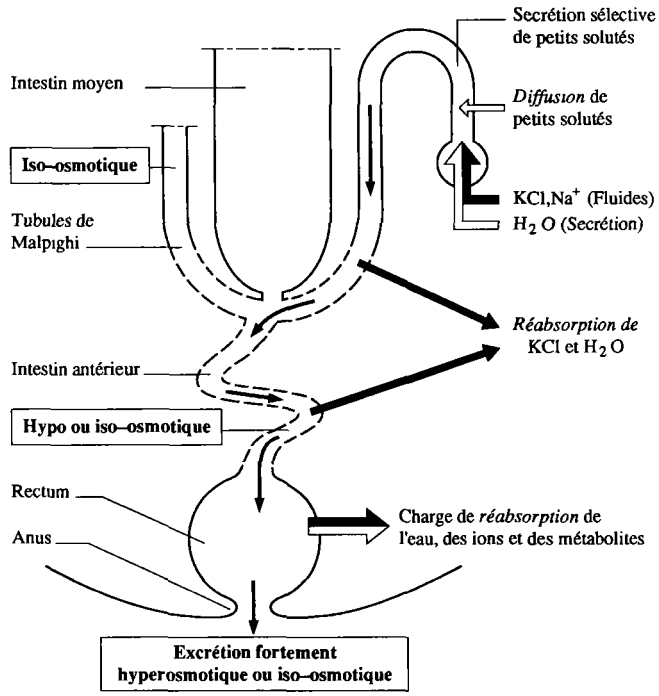


Figure 2. Système excréteur d'insecte avec les principaux transports épithéliaux et les modifications osmotiques urinaires. (D'aprés J. E. Phillips, 1983).

rieur et se mêle aux produits de la digestion. Au niveau du rectum, une partie de l'eau et de certains anions et cations contenus dans les excréments est réabsorbée avant que ceux-ci ne soient évacués à l'extérieur par l'anus.

Les hormones diurétiques et antidiurétiques

Deux types d'hormones agissant sur le métabolisme hydrique des criquets ont été mises en évidence. Des hormones diurétiques (HD) favorisant l'excrétion de l'urine primaire par les tubes de Malpighi et des hormones antidiurétiques (HAD) augmentant la réabsorption d'eau et de certains ions au niveau rectal.

Les hormones diurétiques

L'hormone diurétique cérébrale

Sa présence a été rapportée dans la partie nerveuse des corpora cardiaca, elle serait donc d'origine cérébrale. Elle augmente l'excrétion de tubes de Malpighi isolés ou semi-isolés

(laissés en présence de la chaîne nerveuse ventrale et du tube digestif). Sa nature peptidergique a été évoquée mais son isolement n'a pu, pour le moment, être mené à bien.

L'hormone diurétique apparentée à la vasopressine (AVP) des mammifères

L'AVP-like Insect Diuretic Hormone est un dimère (Dm) synthétisé par deux cellules du ganglion sous-oesophagien (GSO) du criquet migrateur (voir exposé de J. Girardie) et libéré dans l'hémolymphe. Elle est accompagnée de son monomère (Mm) et il est vraisemblable que c'est ce monomère qui est synthétisé puis transformé en dimère selon un processus enzymatique. L'importance quantitative de cette transformation dépend des besoins de l'insecte en hormone diurétique. Quand ces besoins sont grands (hydratation forcée), il y a beaucoup de dimères et peu de monomères, quand ils sont faibles (conditions de sécheresse), la proportion est inversée. La libération de l'hormone diurétique est sous la dépendance de deux facteurs d'origine cérébrale et agissant de façon antagoniste puisque un, issu de la pars intercerebralis (PI), l'inhibe tandis qu'un autre, issu des cellules neurosécrétrices sous-ocellaires médianes (CNS-SOM), la favorise. Une fois libérée l'hormone va être transportée jusqu'aux tubes de Malpighi. Du fait de sa nature protidique, elle ne peut pénétrer dans les cellules et le message qu'elle transporte va être relayé par un second messager : l'AMP cyclique. Le résultat final sera une augmentation de l'excrétion de l'urine primaire. Sa demi-vie est d'environ 20 minutes. Une fois utilisée, l'hormone diurétique sera dégradée selon un processus enzymatique, là aussi. L'ensemble de ces évènements est résumé dans la figure 3.

Cette hormone diurétique ayant été totalement caractérisée, elle est maintenant disponible sous forme synthétique, les résultats obtenus avec ce produit de synthèse sont en tous points comparables à ceux observés avec l'hormone naturelle.

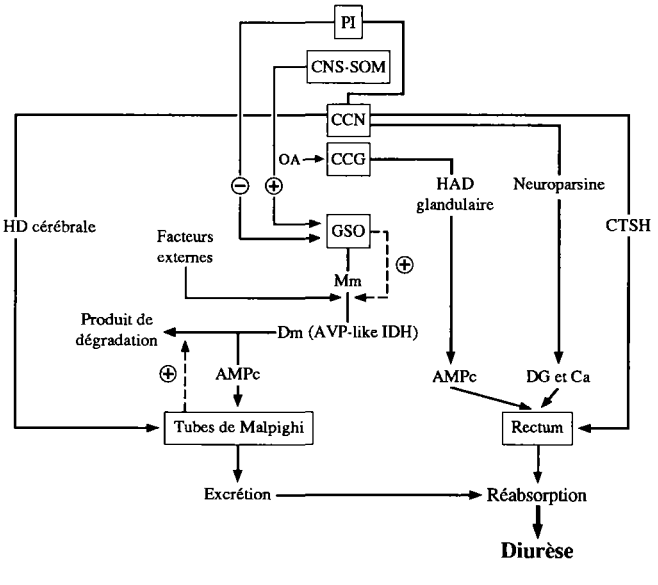


Figure 3. Schéma général de la régulation hormonale de la diurèse chez le criquet migrateur.

Les hormones antidiurétiques

La neuroparsine (NP)

Cette hormone d'origine cérébrale, qui intervient également dans le métabolisme énergétique et le polymorphisme phasaire (voir exposé de A. Girardie), joue un rôle antidiurétique au niveau rectal en favorisant une réabsorption partielle de l'eau du bol alimentaire. Le signal qu'elle génère est transporté à l'intérieur des cellules rectales par deux seconds messagers : le calcium (Ca^{++}) et le diacylglycérol (DG). Il faut noter que l'AMP cyclique n'est pas impliqué.

La "Chloride Transport Stimulating Hormone" (CTSH)

Elle a été mise en évidence chez le criquet pélerin. Elle est également d'origine cérébrale et favorise, au niveau rectal, la réabsorption de chlore et d'eau (celle de chlore étant le transport actif, l'eau suivant de facon passive).

L'hormone antidiurétique

Elle est issue de la partie glandulaire des corpora cardiaca et agit également au niveau rectal en favorisant la réabsorption hydrique. Sa libération, comme celle de l'AKH (voir exposé de A. Girardie), est contrôlée par l'octopamine (OA) des CNS-L du cerveau. En effet :

1) cette hormone est libérée par des extraits de CNS-L ou par de l'octopamine,

2) l'octopamine perd cette capacité de libération quand elle est associée à la phentolamine : un bloquant des récepteurs octopaminergiques.

Ce contrôle de la libération de deux hormones par le même système aminergique est physiologiquement justifié. A la fourniture d'énergie due à l'AKH s'ajouterait une économie d'eau, deux facteurs susceptibles de prolonger la durée du vol.

Comparaison avec l'excrétion chez les vertébrés

Les mêmes principes généraux (production d'une urine primaire iso osmotique transformée en urine définitive par réabsorption sélective d'eau, d'ions et de métabolites) sont applicables aux systèmes excréteurs des vertébrés et des insectes, mais là s'arrête la comparaison.

Le rein de la majorité des vertébrés fonctionne sur un principe de filtration-réabsorption dans lequel la filtration qui produit l'urine primaire est intense, due à la pression sanguine, et peu sélective. Une récupération par réabsorption de nombreux composés utiles est nécessaire mais consomme beaucoup d'énergie. Cette non-sélectivité a un avantage adaptatif puisque lorsqu'un organisme absorbe de nouvelles substances toxiques (et qu'il doit donc éliminer), il peut le faire sans modifier son système excréteur, puisque celui-ci est capable d'éliminer presque n'importe quoi. Cela donne à l'organisme de grandes possibilités d'explorer de nouveaux biotopes.

Le système excréteur des insectes est, lui, basé sur une excrétion tubulaire suivie d'une réabsorption rectale. Le système fonctionne lentement et les solutés excrétés sont en majorité de petite taille. L'avantage de ce système est qu'il consomme peu d'énergie, son inconvénient est la nécessité de développer de nouveaux mécanismes excréteurs chaque

fois que l'animal ingère de nouvelles substances potentiellement dangereuses. Selon toute apparence, les insectes ont surmonté ce problème puisqu'ils sont capables d'excréter des substances toxiques de façon plus efficace que les vertébrés, notamment les alkaloïdes. Ces alkaloïdes étant considérés comme des mesures de protection contre les herbivores, leur grande capacité à les excréter permet aux insectes de coloniser une immense variété de niches écologiques.

La lutte anti-acridienne. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris © 1991, pp. 135-139.

10

Polymorphisme phasaire des criquets migrateurs : déterminismes et différences géographiques

S. FUZEAU-BRAESCH

Université de Paris-sud, Laboratoire de biologie de l'insecte, Bat. 440-443, 91405 Orsay Cedex, France

Après avoir passé en revue les principales composantes objectives du polymorphisme de phase acridien et les moyens de leur mise en évidence, l'exposé portera sur les déterminismes intimes de ces phénomènes pour se terminer sur le problème peu connu des variations géographiques des différences analysées.

L'ensemble repose sur des travaux réalisés à l'Université de Paris-Sud par les chercheurs suivants : Fuzeau-Braesch S., Jullien R., Khouadjia D., Nicolas G., Papin C., Rédouane K.

Le criquet *Locusta migratoria* est notre principal animal d'expérimentation, mais la plupart des résultats peuvent être extrapolés à *Schistocerca gregaria*.

Les moyens de mise en évidence du polymorphisme phasaire

Dans l'exposé de la plus grande partie de ce problème, il sera fait état de criquets grégaires élevés en groupe dense, en cage; de criquets solitaires isolés dès la naissance, et de criquets traités au CO_2 durant une minute par jour que nos recherches ont montré être intermédiaires et fortement solitarisés – tout ceci dans des salles spéciales, le grégarium et le solitarium ventilés et à températures et photopériodes contrôlées.

Morphométrie

La morphométrie est le moyen le plus direct et le plus aisé pour déterminer le statut phasaire d'un criquet. De nos expériences, il ressort que la seule mensuration de 4 paramètres classiques en acridologie (Zolotarevsky) est pratique et suffisante. Ce sont : le fémur (F), l'élytre (E), la capsule céphalique (C) et le pronotum (P).

Des analyses classiques, manuelles, permettent de montrer l'efficacité des rapports E/F; F/C/, et P/C et des combinaisons entre eux ainsi que du dimorphisme sexuel.

Des analyses multivariables sur ordinateur sont réalisables : analyse en composantes principales – analyse factorielle des correspondances – analyse discriminante, permettant de situer la position phasaire et les actions des conditions climatiques.

Comportement

Le comportement est évidemment un élément fondamental de la transformation phasaire.

L'activité locomotrice est analysable par un simple système d'actographie à enregistrement automatique. Les différents états phasaires possèdent un profil général de motilité comparable mais les quantités d'activités sont beaucoup plus fortes chez les animaux grégaires.

La tendance à l'agrégation est l'une des composantes les plus importantes sur le terrain : on l'analyse au laboratoire par observations statistiques d'animaux placés dans une arène dont on dénombre des groupes formés et leur densité. Les criquets grégaires ont une tendance à l'agrégation nettement plus intense, les solitaires s'éloignent davantage l'un de l'autre.

Fécondité

L'importance de la descendance de criquets solitaires ou en bandes migratrices est évidemment un élément à tester.

La littérature acridologique fait état de 3 paramètres : délai de maturation sexuelle – nombre d'œufs par oothèque – poids moyen des larves nouveau-nées. En général, le nombre d'œufs par oothèque est inférieur chez les grégaires par rapport aux solitaires et le poids moyen des larves néonates supérieur. En fait ces résultats intéressants par leur cohérence logique (= feed-back de reproduction, permanence d'une quantité de substance dans les œufs d'une oothèque) ne sont pas confirmés dans tous les travaux, nous avons des souches qui ne suivent pas ces règles. Les phénomènes ne sont pas aussi simples qu'on le croyait.

Des exemples de modifications phasaires fines

La composition des cuticules : étudiés en spectrométrie de masse, les esters aliphatiques des cires cuticulaires ont une composition variable. Plus lourds chez les solitaires avec une majorité de produits en C_{18}, tandis que les grégaires synthétisent en majorité des compo-

sés en C_{16}. De même pour les hydrocarbones : il existe une tendance générale à la synthèse d'hydrocarbones plus condensés chez les solitaires par rapport aux grégaires.

La sensibilité aux insecticides varie avec la phase : les grégaires peuvent être plus sensibles au lindane par exemple, en relation avec leur constitution biochimique (glutathion).

On peut rapporter ces résultats à ceux obtenus chez un grillon élevé soit en groupe, soit en isolement et à qui l'on fait ingérer un élément radioactif (Chrome ^{51}). La «période biologique» au sein du corps entier de l'insecte est nettement affectée : les groupés montrent une période 3 fois plus lente que les isolés, ce qui peut permettre une utilisation plus importante d'éléments introduits dans le métabolisme et prouve une modification des turn-overs. Peu de travaux ont été faits dans ce domaine.

Variabilité des polymorphismes phasaires

Malgré ces descriptions caractéristiques, il ne faut pas voir les modifications phasaires comme fixes et insensibles aux facteurs de l'environnement. En réalité, la vie en groupe ou en isolement déplace les réponses aux autres facteurs, même les plus subtils.

Considérons l'exemple de la pigmentation : elle est bien connue comme caractère phasaire. On rappelle que la livrée globale d'un criquet résulte de la modification de 2 structures contenant les éléments pigmentés : la cuticule et l'hypoderme sous-jacent. L'isolement est généralement associé au verdissement. Mais au laboratoire, par 6 expériences distinctes datées d'époques différentes pendant plusieurs années, soit en isolement, soit en groupement (ou encore en traitement par le CO_2) d'une même souche, nous avons montré la variabilité des réponses respectives se traduisant par des déplacements relatifs des pourcentages d'insectes verts. Le même phénomène de modification relative est mis en évidence aussi par la comparaison de 11 expériences successives en condition grégaire comparée au résultat de 11 traitements au CO_2 pendant les mêmes générations. Des fluctuations s'observent de façon qui paraît aléatoire sans que s'efface la composante phasaire dominante.

La même variabilité des polymorphismes est repérable dans le domaine de la morphogénèse. Il est donc correct d'évoquer la dominante phasaire des modifications en même temps que le déplacement relatif de celles-ci sous l'effet de conditions ambiantes.

Qu'est-ce que le polymorphisme phasaire ?

Sachant bien caractériser les importantes différences morphologiques, comportementales et physiologiques liées à la vie en groupe ou en isolement, il convient d'aborder le problème de l'origine de ces différences.

Il est notoirement connu que l'origine de la différenciation phasaire réside dans la réception de stimuli réciproques entre les individus.

Nos résultats apportent des précisions dans les domaines ci-dessous.

Physiologie sensorielle

Par étude électrorétinographique, on montre que l'œil du grégaire et du solitaire fonctionnent différemment : par exemple, les amplitudes des réponses associées à l'allumage d'une lampe au temps zéro chez des larves grégaires ou solitaires sont distinctes.

Nous avons vu plus haut qu'un traitement au CO_2 pendant une minute d'un groupe de larves pendant toute leur vie empêche en grande partie l'apparition du statut grégaire. Du CO_2 marqué au ^{14}C a été utilisé. La radioactivité décroît en fonction du temps dans différents organes prélevés à l'intérieur d'une population traitée, mais persiste beaucoup plus longtemps et plus intensément pendant plus d'une heure dans le système nerveux central, ce qui permet de concevoir l'importance du traitement du CO_2 au niveau neuro-physiologique malgré sa durée quotidienne courte.

Un criquet traité seul vivant au sein d'un groupe, reste très éloigné du statut grégaire du groupe. Cet animal est coupé sensoriellement de son groupe dont il perçoit beaucoup moins les stimuli. Ces types d'expériences sont les meilleurs que l'on puisse réaliser aujourd'hui pour démontrer le mécanisme sensoriel de l'effet du groupement.

Il ne faut pas oublier en outre, que parmi les stimuli, des substances volatiles en mélange complexe émanent des congénères d'une même espèce et peuvent jouer un rôle notable. Après piégeage d'atmosphères d'enceintes contenant des criquets grégaires, des variations relatives de 4 substances détectées par chromatographie gazeuse - spectrométrie de masse caractérisent les espèces, sous espèces et âges étudiés. Parmi ces 4 substances, 3 sont identifiées : Phénol, Guaiacol et Vératrole.

Neurochimie

Peu de travaux remontent «en amont» l'étude du mécanisme phasaire, à part ceux de physiologie endocrine relatés par notre collègue le Pr Girardie.

Puisque le système nerveux central est capable d'une longue rétention de CO_2 appliqué 1 minute, nous avons étudié le fonctionnement neurochimique du cerveau de criquets grégaires ou solitaires.

La synthèse d'AMP cyclique, caractéristique comme second médiateur du fonctionnement de nombreuses cellules et en particulier des neurones, est différente selon la phase. Par stimulation par le principal neuromédiateur des insectes : l'octopamine, la synthèse de l'AMPc est plus élevée chez le solitaire que chez le grégaire. La quantité d'octopamine elle-même d'ailleurs est plus élevée chez le solitaire alors que la situation est inversée pour un neuromédiateur minoritaire comme la dopamine. C'est donc vraisemblablement toute la neurochimie qui est concernée par la situation phasaire; il reste encore beaucoup à étudier à son sujet.

Génétique

Peu de travaux sur le substrat génétique de la réponse au groupement et à l'isolement. Néanmoins, un travail ancien réalisé sur les modifications par le mode de vie obtenu chez un Grillon montre, par sélection, la possibilité d'interpréter en terme de génome les différentes réponses phasaires.

En conclusion, on peut présenter un schéma général du mécanisme «psychosomatique» des phases et l'intégrer dans les nombreux systèmes d'«effets de groupe» connus, traduisant - chez les criquets avec une évidence particulièrement grande - les actions de stimuli spécifiques interéchangés entre individus congénères observés chez les vertébrés aussi bien que chez les invertébrés.

Différences géographiques

Ce que nous venons de dire à propos de l'aspect génétique de la réponse au groupement et à l'isolement nous a mené à la comparaison des polymorphismes phasaires de plusieurs souches d'origines géographiques bien distinctes.

6 souches de *Locusta* très éloignées les unes des autres ont été utilisées en élevant les animaux selon les deux modes de vie et sous trois régimes thermiques différents. (Sardaigne, Mali, Comores, Australie, Afrique du Sud et Turquie).

L'étude morphométrique (variation de E/F en fonction de F/C, taille soit la somme des 4 paramètres, dimorphisme sexuel), montre l'extrême malléabilité des phénomènes et l'existence de potentiels génétiquement différents, de même que l'analyse de la fertilité.

En conclusion, la question est posée de savoir si une forme de lutte génétique n'est pas possible contre les dévastations acridiennes, en introduisant des génomes de souches moins grégarisables ou moins fertiles dans les aires endémiques grégarigènes d'Afrique.

La lutte anti-acridienne. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris © 1991, pp. 141-147.

11

Les possibilités des hormones d'insectes dans la lutte anti-acridienne

A. DE LOOF

Institut de Zoologie de l'Université, Naamsestraat 59, B-3000 Leuven, Belgique

Introduction

Dans la période 1960-1970, plusieurs chercheurs ont démontré par des expériences de cautérisation de la pars intercerebralis, par allatectomie et par application de l'hormone juvénile synthétique et de l'ecdysone (l'hormone de la mue) que le système endocrinien du criquet migrateur joue un rôle important dans la transition entre la phase solitaire et grégaire, et dans plusieurs autres processus physiologiques. Le cerveau est le centre coordinateur de tout le système endocrinien. On a supposé que les facteurs humoraux, qui sont libérés par le cerveau via les corpora cardiaca, sont de nature peptidique mais la séquence de la plupart de ces facteurs est restée longtemps indéterminée.

Ce n'est que depuis deux/trois années que ça a commencé à changer. L'introduction de nouvelles méthodes de chromatographie et de la réalisation de la séquence de peptides très sensibles ont permis maintenant de déterminer la séquence en acides aminés d'un peptide, dont on a isolé une quantité de quelques centaines de picomoles. Dans une autre ligne de recherche, on a mis en évidence chez le criquet migrateur, comme chez d'autres insectes, la présence de stéroïdes du même type que ceux des vertébrés. Leur origine et leurs fonctions ne sont pas encore déterminées. L'industrie phytopharmaceutique semble s'intéresser au développement de nouveaux produits qui interfèrent avec les fonctions assurées par l'hormone juvénile, ou par les ecdystéroïdes.

La découverte de nouveaux neuropeptides du criquet migrateur

L'hormone juvénile joue un rôle important dans le contrôle de plusieurs fonctions physiologiques comme la mue et la reproduction. Précocène, un produit qui a été extrait de la

plante *Ageratum*, détruit les corps allates chez certaines espèces d'insectes et arrête la synthèse de l'hormone juvénile. A cause de sa toxicité et d'autres raisons, le produit n'a jamais été commercialisé comme insecticide. La régulation de la synthèse de l'hormone juvénile se fait par deux catégories de peptides, les allatotropines et les allatostatines. Elles sont produites dans le cerveau.

Récemment, les allatostatines du cafard *Periplaneta americana* ont été isolées et leur séquence a été réalisée par l'équipe de recherche du Professeur S. Tobe (Canada). De l'allatotropine de *Manduca*, la séquence des acides aminés est aussi connue (Dr Schooley). Chez le criquet migrateur ou d'autres orthoptères (criquets), ces peptides régulateurs n'ont pas encore été isolés. Le test biologique qu'on utilise dans la purification d'un extrait brut, qui contient les allatostatines ou les allatotropines, est le suivant.

On enlève les corps allates et on les met dans un petit réservoir contenant un milieu de culture dans lequel se trouve un précurseur radioactif de l'hormone juvénile.

Après incubation pendant une période fixe, on mesure par radioimmunologie la quantité du précurseur qui a été incorporée dans la fraction contenant l'hormone juvénile.

Ensuite, on détermine s'il y a dans les extraits du cerveau des fractions qui peuvent stimuler ou inhiber la vitesse de synthèse de la JH. Dans le cas de *Periplaneta*, 4 allatostatines ont été isolées. Comme beaucoup d'hormones peptidiques d'insectes qui ont été isolées récemment, les allatostatines appartiennent à une famille. Une autre famille a été isolée par l'équipe du Dr. Feyereisen (Etats-Unis).

Leur structure n'est pas encore publiée. La séquence de l'allatotropine de *Manduca sexta* (Sphingidae) a été déterminée par l'équipe de Sandoz (Dr Schooley). Dr. Bhaskaran (Texas) a trouvé une allatoinhibine, différente des allatostatines mais ce facteur n'est pas encore purifié. Une fois que les peptides sont isolés, on peut commencer à en déterminer les fonctions. On a déjà trouvé que certains de ces peptides ne sont actifs que pendant des périodes très spécifiques du cycle de développement. Cela suggère qu'il y a d'autres facteurs régulateurs qui ne sont pas encore identifiés. Puisque cette école d'hiver a comme but de rechercher les différentes stratégies qui peuvent être utilisées dans la lutte anti-acridienne on peut se demander si ces nouvelles données peuvent aboutir à une nouvelle série d'insecticides qui peut-être interféreraient avec la formation de la phase grégaire du criquet migrateur.

Il est évident que l'usage de ces peptides eux-mêmes comme insecticides n'est pas réalisable. D'abord, la synthèse de peptides en général coûte très cher. Ensuite, ils ne sont pas très stables dans l'environnement et ils ne peuvent probablement pas pénétrer à travers la cuticule des insectes. Quand ils sont ingérés avec la nourriture (végétale) des insectes, ils seront vite hydrolysés dans l'intestin. Puisque ces découvertes n'aboutissent pas dans une application pratique immédiate, leur importance ne serait pas sous-estimée non plus.

En combinaison avec les méthodes récentes pratiquées dans la recherche biotechnologique, il ne sera probablement pas trop difficile de caractériser les récepteurs de ces peptides. Alors les chimistes peuvent essayer de faire des mimétiques non peptidiques de la partie active des peptides concernés. La technologie du baculovirus offre d'autres perspectives fort intéressantes.

Dans notre laboratoire nous essayons d'identifier des neuropeptides qui influencent le fonctionnement du canal alimentaire de *Locusta migratoria*. Nous pensons que la perturbation du comportement alimentaire pourrait être un objectif pour des nouvelles stratégies de lutte anti-acridienne.

L'isolation de peptides d'insectes inconnus n'est pas facile à réaliser. Les peptides ne sont présents qu'en très petites quantités, les cellules productrices sont petites et peu nom-

breuses. Dans la plupart des cas on ne sait rien de leur(s) fonction(s) ce qui implique qu'on ne dispose pas des tests biologiques qui sont nécessaires pour suivre leur isolation par chromatographie. Jusqu'à présent, nous avons suivi une méthodologie alternative : notamment celle de l'endocrinologie comparée. Mes collaborateurs ont d'abord fait une recherche systématique concernant les similarités entre le système endocrinien des insectes et celui des vertébrés. Au début, nos collègues physiologistes étaient assez sceptiques à propos de cette manière de penser et de réaliser nos objectifs parce qu'on était plus ou moins convaincu qu'il n'y avait pas de similarités entre les arthropodes et les vertébrés. Le contraire s'est révélé être juste.

Nous avons d'abord utilisé des méthodes immunocytochimiques pour voir si dans les tissus d'insectes, il y a des épitopes qui sont reconnus par des anticorps, dirigés contre toute une série de neuropeptides des vertébrés. Les différentes étapes de cette méthode sont les suivantes. On fixe le système nerveux central d'un insecte (dans notre cas du criquet migrateur) selon les techniques histologigues habituelles. L'enrobage se fait en paraffine. On fait des coupes de 5-7 μm d'épaisseur. Après déparaffinage et réhydratation, on commence par incuber les coupes avec un antisérum, préparé dans un lapin, contre une hormone neuropeptidique d'un vertébré, par exemple l'insuline ou la gastrine. A présent, le nombre de neuropeptides, isolés à partir du système nerveux des vertébrés est assez grand. S'il y a dans les coupes du cerveau d'insecte des épitopes qui sont reconnus par l'antisérum, les anticorps se fixeront sur ces épitopes. Cette réaction n'est pas visible au microscope parce qu'on utilise des réactifs incolores. Il faut pratiquer une stratégie qui permettra de visualiser précisément l'endroit ou les anticorps se sont fixés. Après rinçage des coupes on les traite avec une solution qui contient un deuxième antisérum, qui est préparé dans une chèvre et qui est dirigé contre les immunoglobulines du lapin.

Cette deuxième réaction n'entraîne pas non plus une coloration. Ensuite on ajoute le complexe péroxidase-antipéroxidase. Celui-ci contient un antisérum, suscité dans un lapin, contre l'enzyme péroxidase (la phosphatase alkaline est une autre possibilité). Ce complexe se fixe sur les anticorps chèvre-anti lapin (deuxième étape). Ainsi on a fixé une enzyme sur l'endroit ou se trouvait l'épitope qu'on recherchait. Dans une dernière étape on ajoute un substrat qui peut être métabolisé par la péroxidase en un substrat coloré et insoluble, comme par exemple la diaminobenzidine ou le α-chloronaphtol. Finalement on observe une coloration spécifique dans le cytoplasme de certaines cellules neurosécrétrices. Cette technique très sensible permet de visualiser les cellules réactives. Les résultats obtenus par cette méthode sont assez spectaculaires. Jusqu'à présent mes collaborateurs ont trouvé qu'au moins 70 antiséra différents, tous dirigés contre de différents épitopes/hormones réagissent avec des épitopes présents dans des cellules neurosécrétrices très spécifiques. Colocalisation est rare. Une sélection de ces résultats est représentée dans le Tableau I. Cette méthode peut être appliquée sur n'importe quel tissu. Quand nous avons analysé des coupes de l'intestin, nous avons vu que l'intestin, et surtout la partie médiane ou intestin moyen, renferme un grand nombre de cellules immunoréactives. Certaines de ces cellules semblent avoir des projections envers la lumière et donnent l'impression d'y libérer leur sécrétion. D'autres influencent probablement des cellules voisines ou libèrent leur sécrétion dans l'hémolymphe. En tout cas, c'est remarquable que la plupart des antiséra qui donnent une réaction immunopositive dans le cerveau, réagissent aussi avec des cellules spécifiques de l'intestin. Il semble donc qu'on retrouve chez les insectes une situation qui ressemble beaucoup à celle des vertébrés, notamment qu'il existe aussi un système endocrinien gastro-intestinal. Ce système contient un grand

Tableau I. Localisation immunocytochimique de substances apparentées aux peptides à fonction hormonale chez les vertébrées. Tous les résultats ont été obtenus dans notre Laboratoire.

	Pa			Lm		Sb
	NS	IC	IF	NS	IC	NS
CRF (corticotropin releasing factor)	+	+	+	0	0	0
ACTH (corticotropin) sequence 01-24	+	+	+	+	+	+
sequence 11-24	+	+	+	+	+	+
met-ENK (methionine-enkephalin)	+	+	+	+	+	+
leu-ENK (leucine-enkephalin)	+	+	+	+	0	+
β-END (β-endorphin)	+	+	+	+	0	+
γ-END (γ-endorphin)	-	0	0	-	0	+
α-MSH (α-melanocyte stimulating hormone)	+	+	-	+	+	+
β-MSH (β-melanocyte stimulating hormone)	0	0	0	+	0	+
γ_3-MSH (γ_3-melanocyte stimulating hormone)	+	0	0	-	0	-
GnRH (gonadotropin releasing hormone)	+	+	-	+	0	+
hFSH (follicle stimulating hormone)	+	-	-	+	0	+
hLH (luteinizing hormone) monoclonal antibody	+	0	0	0	0	0
polyclonal antiserum	+	-	-	+	0	+
VT (vasotocin)	+	0	0	+	0	0
AVP (arginine vasopressin)	+	+	+	+	0	+
OT (oxytocin)	+	?	?	+	0	+
IT (isotocin)	?	0	0	0	0	0
NPI (neurophysin I)	+	+	+	+	0	+
NPII (neurophysin II)	+	?	?	?	0	0
SP (Substance P) monoclonal antibody	+	0	0	0	0	0
polyclonal antiserum	+	+	+	0	0	0
BB (Bombesin)/GRP (gastrin releasing peptide)	+	0	0	-	0	0
Gastrin	+	+	+	+	0	0
CCK (cholecystokinin)	+	+	+	0	0	+
VIP (vasoactive intestinal polypeptide)	+	0	0	0	0	0
PHI (peptide histidine isoleucine)	+	0	0	+	0	-
NPY (neuropeptide tyrosine)	-	0	0	0	0	0
bPP (pancreatic polypeptide)	+	+	+	+	0	+
IGF I (insulin-like growth factor) monoclonal antibody	+	0	0	0	0	0
INS (insulin)	+	+	+	+	+	+
SRIF (somatostatin)	+	0	0	+	0	-
hGRF (growth hormone releasing factor)	+	0	0	+	0	+
hGH (growth hormone)	+	-	+	+	0	+
bGH	+	0	0	+	0	-
fGH	+	0	0	0	0	0
hPRL (prolactin)	+	?	+	+	0	+
fP RL	+	0	0	0	0	0
NT (neurotensin)	+	-	-	0	0	0
PTH (parathormone)	?	0	0	0	0	0
CGRP (calcitonin gene related peptide)	+	0	0	0	0	0
ANF (atrial natriuretic factor (a cardiodilatin sequence))	+	0	0	0	0	0
TSH (thyroid stimulating hormone)	-	0	0	0	0	0
TRH (thyrotropin releasing hormone)	-	0	0	0	0	0
FMRFa (phenylalanine-methionine-arginine-phenylalanine-amide)	+	+	+	+	0	+
AKH (adipokinetic hormone)	+	0	0	+	0	0
PTTH (Bombyx 4K prothoracicotropic hormone) monoclonal antibody	+	0	0	0	0	0

Pa, Periplaneta americana; Lm, Locusta migratoria; Sb, Sarcophaga bullata; NS, nervous system; IC, intestinal cells (paraneuron-type); IF, intestine innervating nerve fibres; h, human; b, bovine; f, fish (salmonid); + positive immunohistochemical reaction; –, not immunocytochemically detected; ?, weak (doubtful) immunostaining; 0, not tested.

nombre de cellules. Beaucoup «d'hormones» connues pour être typiques au cerveau sont aussi présentes dans l'intestin et vice versa.

L'immunocytochimie est une très bonne technique pour obtenir une idée de la complexité du système endocrinien et surtout de la nature approximative de certains épitopes, qui sont présents dans certains types de cellules. Cette méthode ne permet pas d'identifier avec certitude la molécule immunoréactive. Cela doit se faire par des méthodes chimiques et/ou physiques.

Mes collaborateurs ont disséqué 10 000 cerveaux de criquets migrateurs pour en isoler les neuropeptides de poids moléculaire bas. La purification se fait par chromatographie sous haute pression (Tableau II).

Pour suivre les différentes étapes, on a besoin d'un test biologique. Nous avons fait ce test dans une autre espèce d'insecte dans lequel on a testé l'action des différentes fractions de neuropeptides de *Locusta* sur la contractilité de l'intestin postérieur du cafard *Leucophaea maderae*. Nous avons choisi ce système à cause de plusieurs raisons. L'intestin postérieur de ce cafard semble avoir des récepteurs pour un grand nombre de neuropeptides et de neurotransmetteurs, qui sont reconnus non seulement par ses propres ligands mais aussi par des peptides provenant d'autres espèces d'insectes.

Deuxièmement : l'isolation a été réalisée par une de nos collaboratrices, Dr L. Schoofs, au Texas, où la culture de criquets migrateurs est défendu. Troisièmement : l'intestin postérieur de *Locusta* montre un modèle de contractions très irrégulières, ce qui fait que ce système n'est pas un bon système de test. Par contre, la partie antérieure de l'intestin s'est manifestée, après l'isolation, comme beaucoup plus sensible aux hormones peptidiques que la partie postérieure. Nous étions assez surpris quand il est apparu que nos extraits du cerveau de *Locusta* contenaient un grand nombre de peptides qui agissent sur la motilité de l'intestin postérieur de *Leucophaea*, notamment 45. Chez *Leucophaea* lui-même, le Dr M. Holman (Texas) n'a trouvé que 13. De ces 45, 33 ont une action stimulante tandis que 12 inhibent la motilité. Jusqu'à présent, on a déterminé la séquence en acides aminés de 11 fractions. Cinq appartiennent à la famille des leukokinines, 2 à la famille des gastrines cholécystokinine et 4 à une nouvelle famille de tachykinines. Le premier peptide à action inhibitrice ne ressemble à aucun autre peptide déjà isolé.

Une question fort intéressante est : comment peut-on expliquer qu'une multitude de fractions différentes peuvent agir sur l'intestin postérieur. En tout cas, des récepteurs doivent être présents dans cet organe. Il nous semble probable que beaucoup de peptides que nous avons trouvé avec ce type de bioassay, peuvent avoir d'autres fonctions dans l'organisme mais qui restent inconnues jusqu'à présent.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons commencé la préparation d'anticorps contre les peptides synthétiques.

L'immunocytochimie est en cours. Comme on pouvait le prévoir, on trouve des cellules immunoréactives dans le cerveau. Nous étions assez surpris quand l'immunocytochimie démontrait qu'il y a aussi pas mal de cellules immunoréactives dans l'intestin. On peut suggérer qu'un certain nombre de ces peptides ont ici une autre fonction, par exemple la régulation du transport à travers l'épithélium de l'intestin ou de la motilité.

Ces données peuvent-elles aboutir à des applications pratiques ? Peut-être, mais certainement pas à court terme.

Quand la séquence d'un peptide est connue, on peut commencer à isoler le gêne codant pour ce peptide. Avec les méthodes qui sont maintenant disponibles, il devient possible d'introduire ces gênes dans des plantes de culture, qui peuvent être attaquées par des insectes. Nous pensons que les peptides, qui semblent être libérés dans la lumière de

Tableau II. Méthode.

Dissection de 10 000 cerveaux/corpora cardiaca/ganglia subœsophagiens
Extraction dans une solution de méthanol/eau/acide acétique (90/9/1)
Prépurification sur des colonnes «SEP-PAK»
High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

1) μ-Bondapak Phenyl ——SEP-PAK——→ bio-étalonnage
2) Microsorb C_1 ——SEP-PAK——→ bio-étalonnage
3) Supelco C_8 ——SEP-PAK——→ bio-étalonnage
4) Waters protein-PAK 1125 ——SEP-PAK——→ bio-étalonnage

Analyse des acides aminés
Dégradation enzymatique du peptide (aminopeptidase M)
Bio-étalonnage
Si nécessaire, élimination du pGLU (pyroglutamine-aminopeptidase)
Détermination de la séquence des acides aminés
Synthèse des peptides

l'intestin, pourraient être fort intéressants dans ce contexte. Les criquets migrateurs se nourrissent avec une multitude d'espèces de plantes, ce qui pose un problème. Une autre stratégie qui peut être envisagée, et qui est en cours de développement extrêmement rapide, est l'usage de baculovirus génétiquement modifiés. Ces virus se multiplient uniquement dans des espèces d'insectes très spécifiques. Ils ne peuvent pas attaquer des vertébrés et ils sont assez stables dans l'environnement. Les baculovirus les mieux étudiés sont ceux qui attaquent le ver à soie *Bombyx mori* et le Noctuide, *Spodoptera littoralis.* Des cultures de cellules stabilisées sont disponibles. On peut transformer ces baculovirus d'une telle manière (avec des méthodes de la biotechnologie) qu'on peut introduire des gènes étrangers après la séquence promotrice des protéines du manteau du virus. Cette méthode est déjà appliquée dans la biotechnologie pour la production en masse de certaines protéines (eg l'interféron). Elle a déjà été essayée par des entomologistes, qui ont introduit le gène, codant pour l'estérase de l'hormone juvénile (Dr Bruce Hammock). Après infection des chenilles de *Manduca*, le gène était exprimé. Le résultat était que le taux d'hormone juvénile était fortement diminué. Malheureusement, les larves, bien qu'elles aient une croissance retardée, ne meurent pas. On sait que la technique est possible, mais il faut encore trouver des gènes intéressants, par exemple ceux de toxines ou d'hormones peptidiques.

Dans une autre ligne de recherche nous avons démontré qu'un grand nombre de stéroïdes, connus pour être typiques des vertébrés, sont aussi présents dans l'hémolymphe et plusieurs tissus d'insectes. Avec la méthode de chromatographie gazeuse en combinaison de spectrométrie de masse, nous avons trouvé onze de ces stéroïdes. Les stéroïdes, dont on trouve systématiquement une grande concentration dans les tissus sont la progestérone et la prégnénolone. Il est difficile de trouver l'origine et les fonctions de ces stéroïdes. Nous avons l'impression que les stéroïdes qui sont importants pour la physiologie des insectes

pourraient se trouver parmi les dizaines de stéroïdes inconnus qui sont présents mais dont personne n'a pas encore essayé d'en déterminer la structure chimique.

Dans la dernière partie de ma conférence, je voudrais parler quelques instants de nouveaux produits chimiques qui ont été récemment synthétisés par une importante compagnie phytopharmaceutique suisse. Leurs chimistes ont repris la synthèse des mimétiques de l'hormone juvénile et ils ont trouvé des produits qui ont une activité 10 000 fois plus élevée que celle de la JH III ou de la méthoprène (Galleria bioassay). On va tester ces produits dans notre laboratoire sur *Locusta* mais nous n'avons pas encore de résultats. En Suisse on a aussi synthétisé une série de produits dont on suppose qu'ils ont un effet anti-ecdystéroïde. Nous avons déjà quelques résultats. Au moins deux produits ont un effet inhibiteur sur la mue des nymphes. Il est encore trop tôt pour conclure que cet effet est dû à la suppression de l'action de l'ecdysone.

Conclusions

Les conclusions générales sont :

- En ce moment on fait des progrès énorme dans le domaine de l'identification d'un grand nombre de peptides, provenant du système nerveux central et/ou de l'intestin. Ces peptides ne peuvent pas être utilisés tels que dans la lutte anti-acridienne. L'étude des récepteurs contribuera probablement à designer des produits chimiques de nature non peptidique, qui pourraient bloquer ces récepteurs.
- La technologie de baculovirus a dépassé le stade d'expérimentation primaire. La combinaison de promoteurs efficaces et de "bons" gènes, codants pour des toxines ou des hormones peptidiques, va probablement aboutir au développement de nouvelles stratégies de lutte biologique, qui n'auront pas le désavantage de la pollution de l'environnement.
- On a recommencé la recherche sur la synthèse des produits à action antihormonale et les premiers résultats sont encourageants.