

salinité du milieu constitue un stimulus pour les cellules médianes. L'activité cellulaire et la libération du produit de neurosécrétion sont stimulés dans les milieux peu concentrés et inhibés dans les milieux plus concentrés. La perception des stimuli de nature osmotique pourrait être assurée par les «organes récepteurs de la cavité»<sup>10</sup>, voisins des cellules médianes. Le produit pourrait agir sur l'excrétion de sels<sup>11</sup> et favoriser leur rétention dans le milieu interne. Le fait que l'*Artemia* soit un «régulateur» hypo-osmotique laisse supposer qu'il tire son origine d'une espèce adaptée primitivement à l'eau douce<sup>12</sup>. L'existence d'une régulation hormonale assurant en milieu dilué, la rétention de sels dans le milieu interne pourrait dès lors

être un reflet de cette origine. Ceci serait en accord avec les observations de KAMEMOTO et TULLIS<sup>13</sup> qui constatent la présence d'un facteur neuroendocrinien augmentant l'influx de sodium dans le milieu interne de Crustacés d'eau douce et l'absence de ce facteur chez des espèces marines.

<sup>10</sup> R. ELOFSSON et P. S. LAKE, Z. Zellforsch. 121, 319 (1971).

<sup>11</sup> D. E. COPELAND, Protoplasma 63, 363 (1967).

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

<sup>13</sup> F. I. KAMEMOTO et R. E. TULLIS, Gen. comp. Endocr. suppl. 3, 299 (1972).

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

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

J. BEAULATON et C. PERRIN-WALDEMER

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

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

Au cours des dernières années on a montré que les glandes accessoires mâles des Insectes ont des fonctions diverses et importantes<sup>1</sup>. Chez *Drosophila*, les études ultrastructurales des cellules sécrétrices paragoniales<sup>2-6</sup> entreprises depuis la découverte du peptide sexuel libéré par ces glandes<sup>7,8</sup> ont révélé qu'elles élaborent de volumineux grains de sécrétion à microtubules («corps filamenteux»<sup>2</sup>) dans lesquels, seules des protéines ont été décelées jusque-là par la technique d'extraction enzymatique sur coupes ultrafines<sup>4,5</sup>.

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

**Matériel et méthodes.** Les glandes sont prélevées sur des mâles de souche sauvage au cours des 15 premiers jours de la vie imaginaire et fixées dans le glutaraldéhyde à 2% dans le tampon cacodylate pH 7,4. Après postfixation au tétr oxyde d'osmium, les pièces ont été déshydratées et incluses en Epon. Les coupes ultrafines ont été traitées, soit par l'acétate d'uranyle et le citrate de plomb, soit par la technique à l'acide périodique-thiocarbohydrazide-protéinate d'argent (PATAg) d'après THIÉRY<sup>9</sup>.

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

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

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

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

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

<sup>1</sup> H. E. HINTON, J. med. Entom. 11, 19 (1974).

<sup>2</sup> A. BAIRATI, J. Microsc. 5, 265 (1966).

<sup>3</sup> A. BAIRATI, Monit. Zool. 2, 105 (1968).

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

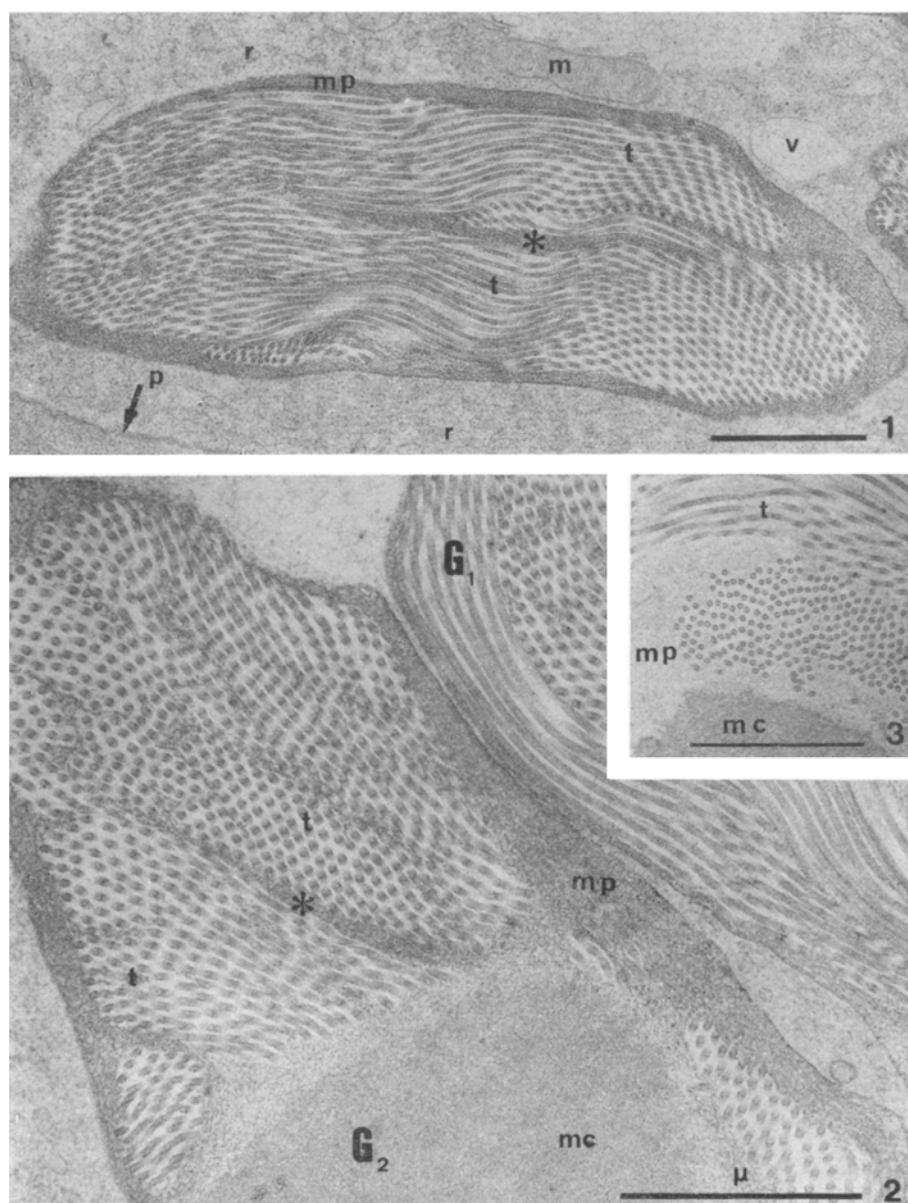
<sup>5</sup> M. E. PEROTTI, J. submicrosc. Cytol. 3, 255 (1971).

<sup>6</sup> M. E. PEROTTI, Boll. Zool. 39, 249 (1972).

<sup>7</sup> P. S. CHEN et C. DIEM, J. Insect Physiol. 7, 289 (1961).

<sup>8</sup> A. S. FOX, C. G. MEAD et I. L. MUNYON, Science 129, 1489 (1959).

<sup>9</sup> J. P. THIÉRY, J. Microsc. 6, 987 (1967).



G, grain de sécrétion à microtubules; m, mitochondrie; mc, matrice centrale; mp, matrice périphérique; p, plasmalemmme; r, ergastoplasmme; t, microtubules; v, vacuole.

Fig. 1 et 2. Traitement à la TCH: 72 h.

Fig. 1. Grain de sécrétion à microtubules (type A) en section tangentielle. Observer le marquage régulier de la matrice périphérique (mp) qui s'insinue entre les faisceaux de microtubules (\*) également réactifs.  $\times 26\,500$ .

Fig. 2. Portions de grains à microtubules (type A) en section équatoriale avec matrice périphérique (mp) et microtubules (t) fortement marqués par les dépôts d'argent. Noter que la matrice centrale (mc) apparaît plus faiblement réactive.  $\times 42\,400$ .

Fig. 3. Traitement à la TCH: 24 h. Portion de grain de sécrétion à microtubules (type B) montrant un très faible marquage de la matrice périphérique.  $\times 30\,000$ .

traitement prolongé à la TCH (72 h) nécessaire pour obtenir une réactivité maximum indique, selon THIÉRY<sup>9</sup>, la présence de groupes  $\alpha$ -glycols peu accessibles comme ceux des glycoprotéines<sup>10</sup>. Ces faits conduisent à admettre que le matériel matriciel périphérique et central des grains de sécrétion de type A est de nature glycoprotéique. Toutefois, la légère réactivité de la matrice centrale après le traitement de contrôle à l'eau oxygénée tend à montrer que ce matériel renferme également des groupes aldéhydiques réactionnels ou qu'il est le siège d'un phénomène d'adsorption limitée de la TCH.

Quant à la signification fonctionnelle de cette sécrétion dont les trois constituants des grains se retrouvent plus ou moins modifiés dans la lumière glandulaire on peut distinguer: d'une part, les matrices périphérique et centrale constituées de microfibrilles glycoprotéiques vraisemblablement responsables de la viscosité du liquide séminal et d'autre part, les microtubules dont l'ultrastructure subit des modifications avant la dispersion des faisceaux dans la lumière<sup>5</sup>. On sait, en effet, qu'après la

copulation, les microtubules paragoniaux persistent en étroite association avec les spermatozoïdes dans les voies génitales femelles<sup>3</sup>. Ces faits incitent à penser que des microtubules pourraient avoir une ou plusieurs fonctions dans la reproduction de cet Insecte: rôle conducteur passif des spermatozoïdes en relation avec un guidage directionnel au sein des conduits génitaux femelles<sup>11</sup>; rôle protecteur des spermatozoïdes supplémentaire à l'absence de spermatophore chez les Diptères; enfin rôle de stockage de matériel protéique ultérieurement utilisé dans la nutrition de la femelle comme le suggèrent diverses observations<sup>1</sup>.

<sup>10</sup> L. OVTRACHT et J. P. THIÉRY, J. Microsc. 75, 135 (1972).

<sup>11</sup> C. F. BARDELE, Cytobiology 7, 442 (1973).