

Développement cyclique du réticulum endoplasmique agranulaire dans les glandes thoraciques (glandes ecdysiales) de *Rhodnius prolixus* Stål (Insecte: Hétéroptère) aux deux derniers stades larvaires

Cyclic development of the agranular endoplasmic reticulum in thoracic glands (ecdysial glands) of *Rhodnius prolixus* Stål (Insecta: Heteroptera) during the two last larval instars

R. Gras et J. Beaulaton¹

Equipe de Cytophysiologie des Insectes, Groupe de Zoologie, Université de Clermont II, Ensemble scientifique des Cézeaux, B.P. 45, F-63170 Aubière (France), 19 juin 1978

Summary. Ultrastructural study of the thoracic glands of *Rhodnius prolixus* at the 2 last larval instars demonstrates the cyclic differentiation of meshed networks of agranular endoplasmic reticulum. At the time of abdomen apolysis the ecdysial cells are compartmentalized into a peripheral array of agranular reticulum with sparsely mitochondria. The close association of agranular reticulum and mitochondria is interpreted as indicative of functional coupling in relation with steroid like ecdysone synthesis.

On sait que la plupart des glandes ecdysiales d'insectes étudiées jusqu'ici ne présentent pas tous les caractères ultrastructuraux des cellules stéroïdogènes différenciées des vertébrés. En effet, le réticulum endoplasmique agranulaire, caractéristique de ce type cellulaire, n'a été décelé sans ambiguïté dans ces glandes que chez un très petit nombre d'espèces de diptères^{2,3} et lépidoptères^{4,5} où il apparaît généralement sous une forme discrète et assez fugace. En revanche, cet organite montre un développement considérable dans les cénoocytes de tous les insectes examinés⁶⁻¹³. Aussi, dans ce contexte, il nous a paru intéressant de suivre l'évolution du réticulum endoplasmique agranulaire dans les glandes thoraciques de *Rhodnius prolixus*, hétéroptère particulièrement utilisé^{14,15} dans les études physiologiques désormais classiques¹⁶.

Matériel et méthodes. Les glandes thoraciques sont prélevées toutes les 24 h après le repas de sang au cours des 4^e (L IV: 14 jours) et 5^e (L V: 21 jours) âges larvaires. Les pièces sont fixées avec un mélange glutaraldéhyde-parafomaldéhyde dans un tampon phosphate Sörensen 0,15 M, pH 7,2, additionné de saccharose, selon les techniques développées antérieurement¹⁷. Elles sont ensuite lavées, puis postfixées au tétr oxyde d'osmium dans le même tampon et incluses en Epon. Les coupes ultrafines sont soumises à la double coloration à l'acétate d'uranyl et au citrate de plomb.

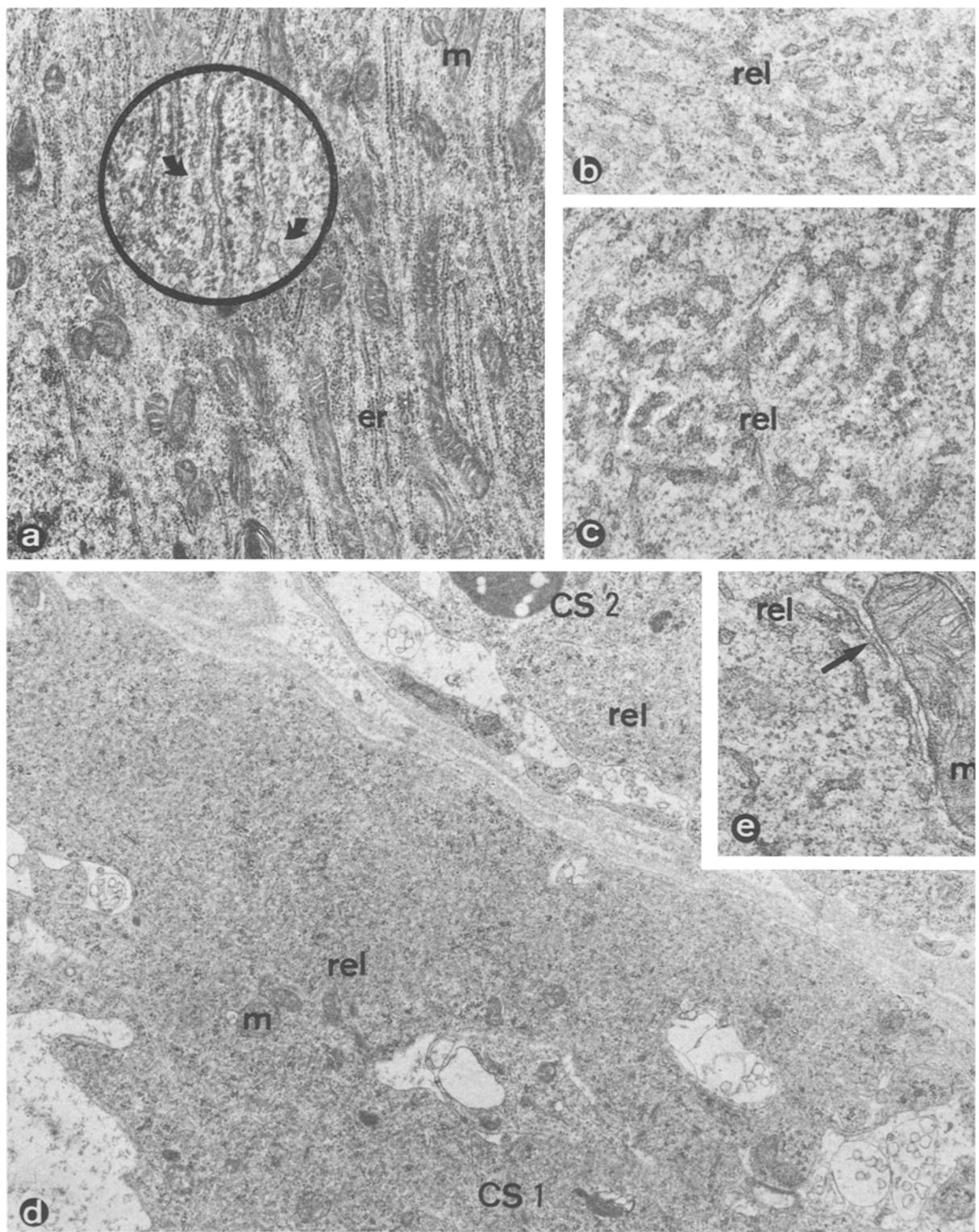
Résultats. Les glandes thoraciques examinées à des intervalles réguliers de 24 h après le repas de sang au cours des L IV et L V montrent que les cellules sécrétrices subissent des transformations séquentielles importantes qui affectent, non seulement le rapport nucléocytoplasmique et l'ergastoplasmé, mais aussi des organites de la stéroïdogenèse¹⁸. Dans la première moitié de chaque intermue le volume du cytoplasme s'accroît jusqu'à la période critique (7-9 jours au L IV et 10-12 jours au L V). Avant cette période le cytoplasme est occupé essentiellement par des saccules ergastoplasmiques allongés, souvent disposés parallèlement les uns aux autres (figure, a), des ribosomes et polysomes libres, de petits dictyosomes et de nombreuses mitochondries à matrice opaque. Vers le milieu de l'intermue, les saccules ergastoplasmiques subissent une dégranulation (figure, a, encart) et un allongement qui aboutit à la formation par anastomoses d'un vaste réseau de réticulum endoplasmique agranulaire. On assiste alors à un processus de compartimentation du cytoplasme qui tend à une accumulation massive de cet organite dans la région la plus périphérique (figure, d). Ces compartiments riches en réticulum endoplasmique agranulaire sont formés d'un réseau enchevêtré, souvent serré, dans lequel les tubules ou les tubulosaccules renferment un matériel d'opacité modérée aux électrons (figure, b et c). Dans les mailles de ce réseau

irrégulier s'insinuent çà et là des mitochondries et des ribosomes. Lorsque des mitochondries pénètrent dans ce réseau on remarque une fréquente juxtaposition de leur enveloppe avec celle des tubules du réticulum agranulaire (figure, e).

Le développement de cet organite n'apparaît pas rigoureusement synchrone d'une cellule à l'autre. Néanmoins, il n'est pas très fugace puisqu'il a été régulièrement observé dans de nombreuses cellules pendant au moins 3 jours dans chaque intermue considérée.

Discussion et conclusions. Les glandes thoraciques de *Rhodnius*, comme toutes les glandes ecdysiales d'insectes étudiées jusqu'ici^{3,4,19-23}, manifestent des activités cycliques au cours de chaque stade larvaire. En effet, nous avons montré qu'au cours de la première moitié de l'intermue les organites de la protéosynthèse subissent un développement important. Cette activité constatée également dans les glandes homologues de divers insectes^{3,21-27} paraît en rapport avec l'élaboration des protéines de structure nécessaires à la croissance cellulaire, des enzymes comme celles de la synthèse et de la dégradation^{13,28} des ecdystéroïdes et probablement aussi des protéines de transport des stéroïdes, comme on l'a déjà suggéré²⁹.

Cependant, les glandes thoraciques de *Rhodnius* se distinguent de la plupart des glandes ecdysiales par la formation massive et transitoire du réticulum endoplasmique agranulaire. Son aspect ultrastructural peut être comparé à celui décrit dans les glandes ecdysiales du Crustacé *Libinia emarginata*³⁰ et les glandes mandibulaires de *Carcinus maenas*³¹. Or, on admet généralement que cet organite joue un rôle essentiel dans la stéroïdogenèse des vertébrés^{32,33} car il renferme une partie des enzymes de la biosynthèse des stéroïdes. Certains auteurs estiment aussi que l'accumulation de réticulum agranulaire serait en rapport avec le stockage de cholestérol³². Si l'on excepte l'étape de la synthèse du cholestérol qui n'est pas effectuée par les insectes, on peut admettre, compte tenu des données expérimentales récemment obtenues *in vitro* sur le rôle des glandes ecdysiales dans la production de l' α -ecdysone^{34,35}, que le réticulum agranulaire mis en évidence chez *Rhodnius* au milieu de l'intermue intervient directement dans l'élaboration de cette hormone. Il convient de noter à l'appui de cette interprétation que la phase de développement maximum de cet organite coïncide avec les périodes de libération des ecdystéroïdes (α et β ecdysones) récemment décelées chez *Rhodnius*³⁶ aux L IV et L V et chez un réduviide voisin, *Panstrongylus megistus*³⁷, par une méthode radio-immunologique très sensible. Elle se superpose aussi avec les périodes critiques cérébrales définies par Wigglesworth¹⁴ chez *Rhodnius* et avec le début de l'apolyse au niveau de la plus grande partie des segments abdominaux (9-10 jours au L V)³⁸. Cette corrélation est d'autant



a Zone périnucléaire d'une cellule ecdysiale au milieu de l'intermue. 4^e stade larvaire (9^e jour). Noter l'abondance de saccules ergastoplasmiques longs et disposés parallèlement entre eux (er). m: Mitochondries. G-F; U-Pb; $\times 20000$. A un plus fort grossissement (cercle: $\times 56000$): observer le morcellement et la dégranulation progressive de certains saccules (flèches). Abréviations utilisées dans les figures: F: paraformaldéhyde, G: glutaraldéhyde, Pb: citrate de plomb, U: acétate d'uranylique. *b* Aspect du réticulum endoplasmique agranulaire. 4^e stade larvaire (9^e jour). Les tubules et les vésicules ont un contenu d'opacité supérieure à celle du hyaloplasme. G-F; U-Pb; $\times 42000$. *c* Autre aspect du réticulum endoplasmique agranulaire (rel). Même stade et même jour que *b*. Les tubules sont en continuité et dessinent un réseau opaque. G-F; U-Pb; $\times 42000$. *d* Portions de 2 cellules sécrétrices (CS 1 et CS 2) au 4^e stade larvaire (9^e jour) montrant le développement important du réticulum endoplasmique lisse (rel) à la périphérie de ces cellules. Les vésicules et les tubules enchevêtrés de ce réticulum déterminent de vastes plages dans lesquelles s'insinuent quelques mitochondries (m). G-F; U-Pb; $\times 32000$. *e* Relation du réticulum à l'enveloppe d'une mitochondrie (m) possédant des crêtes ampullaires. G-F; U-Pb; $\times 42000$.

plus intéressante à remarquer que l'apolyse est normalement déclenchée par l'ecdysone.

D'autre part, les relations étroites du réticulum agranulaire avec les mitochondries (figure, e) tendent à montrer, comme c'est aussi le cas dans les glandes ecdisiales de lépidoptères^{4,5}, qu'un couplage fonctionnel est réalisé entre ces 2 organites essentiels de la stéroïdogenèse. La localisation du réticulum agranulaire à la périphérie des cellules suggère qu'il joue aussi un rôle dans le transport et la libération des produits élaborés.

En définitive, la démonstration morphologique du développement cyclique du réticulum agranulaire qui est la manifestation la plus marquante du processus de mue tend à confirmer le rôle de ces glandes dans la synthèse et la libération d'ecdysone sous une forme probablement couplée à des protéines.

- 1 Les auteurs tiennent à remercier le Dr J.-M. Pinet (I.N.A., Paris) pour l'envoi de la souche de *Rhodnius* utilisée dans nos élevages.
- 2 R.C. King, S.K. Aggarwal et D. Bodenstein, Z. Zellforsch. 73, 272 (1966).
- 3 W.S. Herman, Int. Rev. Cytol. 22, 269 (1967).
- 4 J. Beaulaton, J. Cell Biol. 39, 501 (1968).
- 5 M. Locke, Mem. Soc. Endocr. 18, 285 (1970).
- 6 J. Beaulaton, observations non publiées.
- 7 M. Locke, Tissue Cell 1, 103 (1969).
- 8 W. Gnatzky, Z. Zellforsch. 110, 401 (1970).
- 9 P. Cassier et M.A. Fain-Maurel, C. r. Acad. Sci. 269D, 1979 (1969).
- 10 P. Cassier et M.A. Fain-Maurel, Arch. Anat. microsc. Morph. exp. 61, 357 (1972).
- 11 F. Romer, Cell Tissue Res. 151, 27 (1974).

- 12 F. Romer, Z. Morph. Tiere 80, 1 (1975).
- 13 A. Dorn et F. Romer, Cell Tissue Res. 171, 331 (1976).
- 14 V.B. Wigglesworth, J. exp. Biol. 29, 561 (1952).
- 15 V.B. Wigglesworth, J. exp. Biol. 32, 485 (1955).
- 16 V.B. Wigglesworth, Insect Hormones, p. 1. Oliver and Boyd, Edinburgh 1970.
- 17 R. Gras et J. Beaulaton, Cytobiologie (soumis à l'éditeur).
- 18 R. Gras et J. Beaulaton, J. microsc. Biol. Cell 26, 15a (1976).
- 19 J. Beaulaton, J. Microsc. 7, 673 (1968).
- 20 J. Beaulaton, J. Microsc. 7, 895 (1968).
- 21 M.A. Fain-Maurel et P. Cassier, Arch. Zool. exp. gén. 109, 445 (1968).
- 22 F. Romer, Z. Zellforsch. 122, 425 (1971).
- 23 P. Cassier et M.A. Fain-Maurel, Arch. Zool. exp. gén. 112, 457 (1971).
- 24 J. Beaulaton, J. Ultrastruct. Res. 23, 516 (1968).
- 25 L. Joly, P. Joly et A. Porte, C. r. Acad. Sci. 269D, 917 (1969).
- 26 C. Hintze-Podufal, J. Zool. 164, 425 (1971).
- 27 A. Maleville, Thèse Doct. Univ. Sci. Techn. Languedoc, Montpellier, p. 1 (1978).
- 28 J.A. Hoffmann et J. Koolman, J. Insect Physiol. 20, 1593 (1974).
- 29 J.A. Hoffmann et P. Joly, C. r. Acad. Sci. 275D, 1665 (1972).
- 30 G.W. Hinsch et H. Al Hajj, J. Morph. 145, 179 (1975).
- 31 F. Bazin, C. r. Acad. Sci. 282D, 739 (1976).
- 32 D.W. Fawcett, J.A. Long et A.L. Jones, Recent Prog. Horm. Res. 25, 315 (1969).
- 33 S. Idelman, Int. Rev. Cytol. 27, 181 (1970).
- 34 H. Chino, in: Invertebrate Tissue Culture, Research Applications, p. 103. Academic Press, New York 1976.
- 35 E.P. Marks, in: Invertebrate Tissue Culture, Research Applications, p. 117. Academic Press, New York 1976.
- 36 J.C. Bachr, P. Porcheron et F. Dray, C. r. Acad. Sci. 287 D, 523 (1978).
- 37 A. Furtado, P. Porcheron et F. Dray, C. r. Acad. Sci. 283D, 1077 (1976).
- 38 V.B. Wigglesworth, J. Ent. (A) 47, 141 (1973).

Effects of 9.4 GHz microwave exposure on meiosis in mice¹

Ewa Manikowska, J.M. Luciani, B. Servantie, P. Czerski, Jeanine Obrenovitch and A. Stahl

Department of Genetics, National Research Institute of Mother and Child, Kasprzaka 17A, 01-211 Warsaw (Poland), Laboratoire d'Histologie et Embriologie II, Faculté de Médecine, Université d'Aix-Marseille II, F-13385 Marseille Cédex 4 (France), and EASSM-CERB, Hôpital Sainte-Anne, F-83800 Toulon-Naval (France), 3 July 1978

Summary. Exposure to 9.4 GHz pulsed microwaves at low power densities for 1 h/day during 2 weeks induces in adult male Balb/c mice disturbances in meiosis, consisting in an increase of translocations and the appearance of cells with several chromosome pair remaining univalents at MI.

The rapidly expanding industrial, scientific, medical and home uses of numerous devices producing nonionizing radiation (NIR) lead to a steady increase of the amount of NIR in man's environment and cause concern because of potential health hazards². Biological effects of microwave exposure were the subject of numerous investigations³. It was shown that exposure to 5–40 MHz waves induces

chromosomal aberrations and mitotic abnormalities in somatic cells^{4–7}. As far as we are aware, effects of microwave exposure on meiosis have not been investigated. The aim of the present work is to verify whether repeated microwave exposures from a typical radar source will interfere with meiosis, because of grave implications of such phenomena.

Results of analysis of metaphase I

Group	Total number of metaphases analyzed	Number of translocations (metaphases with quadri- or hexavalents)	Number of metaphases with univalents	Number of metaphases with number of bivalents		
				N < 20	N = 20	N > 20
Controls	175	3	2	53	116	6
0.1 mW/cm ²	92	6*	14*	26	61	5
0.5 mW/cm ²	104	3	10*	37	60	7
1.0 mW/cm ²	120	10*	9*	51	63	6
10.0 mW/cm ²	112	9*	34*	36	72	4

* Significant in comparison to controls at 0.001 level (χ^2 test).