

INCIDENCE DE LA NEUROSECRETION SUR L'EURYHALINITE DE *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* LMK

Variation de la teneur en eau

par P. LUBET et J.P. PUJOL

On connaît encore mal les rapports qui peuvent exister chez les invertébrés entre les neuro-hormones et le métabolisme de l'eau. Si la question a été abordée chez les insectes (PFLUGFELDER, 1937; ALTMANN, 1956; NUNEZ, 1956; NAYAR, 1957; RAABE, 1959) la littérature est pauvre en ce qui concerne les invertébrés marins.

Dans un mémoire remarquable sur les médiateurs du système nerveux de *Asterias (Marthasterias) glacialis* (Échinodermes), UNGER (1962) a mis en évidence des variations de l'activité neurosécrétoire des cellules bipolaires en fonction de la pression osmotique. Par chromatographie, l'auteur a isolé à partir de ces cellules neurosécrétoires un éluat qui, injecté à l'animal, provoque l'apparition d'images histologiques caractéristiques : chez les individus préalablement adaptés à un milieu hypertonique (cellules neurosécrétoires bourrées de granules), l'éluat entraîne une disparition presque totale du neurosécrétat, alors qu'injectée à des animaux de milieu hypotonique (cellules possédant peu de substance), la substance active fait apparaître une accumulation importante de neurosécrétat. La grande spécificité d'action et l'absence d'autre effet physiologique de cet éluat amènent l'auteur à penser qu'il représente vraiment le principe actif du neurosécrétat.

Chez les crustacés, CARLISLE (1956) a montré que l'absorption d'eau qui accompagne la mue est sous la dépendance d'une hormone sécrétée par la glande du sinus.

En ce qui concerne les mollusques, des recherches intéressantes de LEVER et de son école (LEVER et JOOSSE, 1961; LEVER, JANSEN et DE VLEEGER, 1961) chez un gastéropode d'eau douce *Lymnaea stagnalis*, ont mis en évidence des modifications de l'activité neurosécrétoire des ganglions cérébraux d'individus placés dans des milieux hypo-osmotiques (addition d'eau distillée) ou hyper-osmotiques (chlorure de sodium 0,5 p. 100). L'ablation des ganglions pleuraux entraîne une augmentation de volume des animaux par pénétration d'eau alors qu'une injection d'extrait de ces mêmes ganglions à des animaux pleurectomisés abaisse le poids de façon inverse.

Dans le même ordre d'idée, nous avons entrepris l'étude de l'influence des ganglions cérébroïdes sur les réactions d'un Lamellibranche marin *Mytilus galloprovincialis* LMK aux variations de salinité.

Beaucoup d'animaux marins sont adaptés aux changements de salinité grâce à différents mécanismes physiologiques : l'expérience a montré que la moule possède un mécanisme de régulation isosmotique intracellulaire (DUCHATEAU et FLORKIN, 1962). L'adaptation de *Mytilus edulis* à l'eau de mer diluée (POTTS, 1958) provoque une diminution de la composante amino-acide et de la taurine des muscles adducteurs évitant aux cellules une hydratation excessive. En même temps que la sortie d'acides aminés hors de la cellule, se produit un départ de sodium et de chlore alors que le potassium et les composés phosphorés sont conservés.

Chez *Rangia cuneata* (bivalve d'eau saumâtre) ALLEN (1959) observe lui aussi une variation de la teneur en amino-acide lorsque la salinité varie. Le passage de 3 p. 1000 à 25 p. 1000 provoque en effet une élévation de la quantité d'azote aminé total et en particulier de l'alanine.

LANGE (1963) confirme ces données chez *Mytilus edulis* en mettant en évidence sur des individus issus de stations soumises à des salinités variées, une relation linéaire entre la quantité totale d'acides aminés et la salinité.

Récemment des recherches intéressantes ont été effectuées par FLOKIN *et al.* (1963) sur les muscles adducteurs de *Mytilus edulis* adaptée à l'eau saumâtre. Ces auteurs montrent que le sodium, le chlore, le glycofolle, la glycofolle-bétaïne et la taurine jouent un rôle prépondérant dans l'ajustement.

N°	Poids frais	Poids sec	Poids d'eau	Teneur en p. 100 du poids frais
Salinité normale				
1	13.241	1.982	11.259	85.03
2	11.980	1.817	10.163	84.83
3	11.686	1.564	10.122	86.61
4	11.999	1.461	10.538	87.82
5	11.726	1.571	10.151	86.56
6	10.563	1.330	9.233	87.42
7	8.359	1.791	7.168	85.45
8	9.844	1.149	8.695	88.32
9	9.584	1.082	8.502	88.60
Moyenne : 86.26 ± 0.48				
Salinité 50 p. 100				
1	12.273	1.359	10.914	88.92
2	17.458	1.812	15.646	89.62
3	15.071	1.188	13.883	92.11
4	13.015	1.382	11.633	89.38
5	13.910	2.318	11.592	83.33
6	12.617	1.946	11.671	92.58
7	11.112	1.074	10.038	90.33
8	13.750	1.444	12.306	89.50
9	15.318	1.529	13.789	90.02
10	14.623	1.140	13.483	92.21
Moyenne : 89.80 ± 0.54				

Moules normales.

Observations histologiques.

Dans une note préliminaire (LUBET et PUJOL, 1963) nous avons décrit les modifications apparues au niveau des cellules neurosécrétrices des ganglions cérébroïdes des individus soumis à des salinités supérieures ou inférieures à la normale. En milieu hypo-osmotique se produit une vidange des cellules neurosécrétrices qui ne présentent alors que quelques grains colorables par la fuschine paraldéhyde de Gabe. Dans certains cas favorables on peut suivre le produit de neurosécrétion très loin à l'intérieur de l'axone. Un milieu hyper-osmotique entraîne au contraire une accumulation très marquée de substance à l'intérieur des éléments neurosécréteurs, lesquels deviennent particulièrement fuschsinophiles.

Nous avons alors émis l'hypothèse que le mécanisme isosmotique et en particulier les échanges d'eau pourraient être sous la dépendance d'un facteur émis par les cellules neurosécrétrices. Il était intéressant de voir si l'absence des ganglions cérébroïdes perturbait le degré d'hydratation des animaux.

Ablation des ganglions cérébroïdes.

A partir d'une population homogène de moules (65 à 75 mm de longueur) nous avons réalisé trois lots d'individus :

- les « *témoins normaux* », représentés par les moules normales;
 les « *témoins traumatisés* », sur lesquels on pratique une fenêtre ventrale rectangulaire dans la coquille au niveau des ganglions cérébroïdes. On prend bien soin de ne pas léser le manteau au cours de cette opération;
 les « *animaux opérés* », dont les ganglions cérébroïdes, facilement accessibles sous une mince pellicule de tissu conjonctif, sont extirpés à l'aide de pinces fines.

N°	Poids frais	Poids sec	Poids d'eau	Teneur en p. 100 du poids frais
Salinité normale				
1	9.463	1.295	8.168	86.32
2	9.207	1.152	8.055	87.49
3	9.819	1.221	8.598	87.57
4	8.991	1.165	7.826	87.05
5	9.497	1.386	8.111	85.41
6	9.135	1.170	7.965	87.20
7	10.140	1.134	8.906	87.83
8	9.382	1.664	7.718	87.27
9	11.519	1.476	10.043	87.19
10	9.513	1.243	8.270	86.93
Moyenne : 87.02 ± 0.23				
Salinité 50 p. 100				
1	8.391	0.561	7.830	93.32
2	9.765	0.950	8.815	92.25
3	9.294	0.797	8.497	91.43
4	11.555	0.892	10.663	92.28
5	10.335	0.763	9.572	92.63
6	9.782	0.725	9.057	92.59
7	11.643	0.858	10.795	92.72
8	8.936	0.702	8.234	92.15
9	9.799	0.791	9.008	91.92
10	11.678	0.891	10.787	92.29
Moyenne : 92.18 ± 0.18				

Moules traumatisées.

L'ensemble des animaux est immédiatement reparqué dans le biotope d'origine. Les animaux y demeurent jusqu'à ce que la coquille soit régénérée complètement et que la fenêtre soit obturée (2 à 3 mois). Les moules sont alors récupérées et utilisées pour les expériences.

Les animaux ont été adaptés à l'eau de mer 50 p. 100 de façon progressive :

24 h dans un mélange à 75 p. 100 d'eau de mer (25 p. 100 d'eau désionisée) (30 p. 1000)
 24 h — — — 60 p. 100 — — (40 p. 100 — —) (22,8 p. 1000)
 48 h — — — 50 p. 100 — — (50 p. 100 — —) (19 p. 1000)

La teneur en eau a été déterminée par la perte de poids des individus placés à l'étuve à 105°C pendant 48 h.

A la salinité normale les degrés d'hydratation dans les trois lots sont assez voisins (différence non significative). Signalons toutefois que dans les jours qui suivent l'ablation des ganglions cérébroïdes, et non plus comme c'est le cas ici au bout de deux mois (car les aplysies meurent très rapidement), VICENTE (1963) constate une perte de poids chez l'Aplysie.

Quoiqu'il en soit, chez la moule, on peut penser que l'équilibre avec le milieu se réalise chez tous les animaux à la salinité normale au bout d'un certain temps et ceci même en l'absence des ganglions cérébroïdes.

Par contre, lors de l'adaptation au milieu dilué, des différences vont se manifester dans le degré d'hydratation des animaux. On constate que les moules normales ont une teneur en eau de 89,80 p. 100 \pm 0,54 au lieu de 86,26 p. 100 \pm 0,48 à la salinité 100 p. 100. La variation est du même ordre de grandeur que celle mise en évidence par PORRS (1958) dans le muscle adducteur rapide (75,0 \pm 0,6 à la salinité normale et 78,1 \pm 0,6 à la salinité 50 p. 100).

N°	Poids frais	Poids sec	Poids d'eau	Teneur en p. 100 du poids frais
Salinité normale				
1	5.930	0.636	5.294	89.27
2	13.592	1.916	11.676	85.90
3	13.724	1.807	11.917	86.83
4	12.329	1.446	10.883	88.23
5	12.079	1.584	10.495	86.88
6	13.586	1.174	11.412	83.99
7	11.966	1.511	10.455	87.37
8	11.207	1.112	10.095	90.06
9	12.313	1.618	10.695	86.85
10	13.445	2.140	11.305	84.08
Moyenne : 85.94 \pm 0.73				
Salinité 50 p. 100				
1	12.368	0.598	11.770	95.17
2	11.457	0.893	10.564	95.21
3	13.301	0.529	12.772	96.03
4	12.765	0.576	12.189	95.49
5	11.132	0.489	10.643	95.61
6	13.758	0.716	13.042	94.73
7	11.499	0.521	10.978	95.47
8	11.374	0.537	10.837	95.28
9	10.532	0.494	10.038	95.31
10	11.485	0.517	10.968	95.50
Moyenne : 95.38 \pm 0.11				

Moules opérées.

Les témoins traumatisés présentent à la salinité 50 p. 100 un degré d'hydratation légèrement supérieur à celui des moules normales : 92,18 \pm 0,18.

Il est intéressant de constater que les moules opérées ont une teneur en eau très élevée : 95,38 p. 100 \pm 0,11. Le test de Student-Fischer montre que la différence entre les témoins normaux et les témoins traumatisés est significative.

Ces résultats semblent suggérer qu'en l'absence des ganglions cérébroïdes l'euryhalinité de *Mytilus galloprovincialis* se trouve considérablement altérée. On doit conclure qu'un principe actif est émis par les cellules neurosécrétrices permettant à la moule de résister aux variations de salinité.

Discussion.

Les images histologiques observées s'expliquent de la façon suivante : l'adaptation au milieu hypotonique provoque une vidange axonale du neurosécrétat alors qu'une adaptation au milieu hypertonique entraîne une accumulation de la substance, vraisemblablement en empêchant le phénomène d'évacuation. Nos résultats sont analogues à ceux de UNGER (1962).

Mais il faudra élucider plusieurs problèmes, car il est difficile d'aller plus avant dans l'interprétation des variations d'activité des cellules neurosécrétrices avec les moyens d'investigation courants. Il serait intéressant, notamment, de savoir si l'accumulation du neurosécrétat dans la cellule lors d'une adaptation au milieu hypertonique retentit sur l'activité synthétique de la cellule, car l'aspect des cellules neurosécrétrices résulte en définitive de leur activité synthétique et du phénomène de décharge axonale.

L'observation comparative des témoins et des animaux soumis à l'hypertonie nous permet seulement de penser que l'activité synthétique est maintenue sinon accrue, dans les premières heures tout au moins, puisque le cytoplasme est plus chargé chez les animaux traités. Il se pourrait qu'ensuite, comme l'ont décrit SCHARRER et BROWN (1962) chez *Lumbriculus terrestris*, l'accumulation devenant excessive, provoquerait la destruction de l'ergatoplasme et du même coup la source de protéine-mère du neurosécrétat.

La question se pose ensuite de savoir quel est le mécanisme qui déclenche ou bloque la vidange des cellules neurosécrétrices. On suppose, actuellement, que l'excitation des axones pourrait provoquer la libération de la neurosécrétion (MORITA et coll., 1961; BENNET et FOX, 1962). VAN DER KLOOT (1961) pense que la décharge de l'hormone cérébrale chez *Rhodnius* se ferait sous l'action d'influx nerveux : l'hormone serait déchargée quand les terminaisons des cellules neurosécrétrices sont atteintes par un influx nerveux.

Dans le cas présent, on pourrait penser que la variation de concentration ionique du milieu, par son action sur les potentiels de membrane, représente le stimulus axonal de la vidange ou du stockage suivant le sens de la variation. On sait que les propriétés bio-électriques des fibres nerveuses dépendent de la concentration ionique externe. En général des concentrations élevées en potassium dans le milieu extérieur entraînent une dépolarisation des membranes (HODGKIN, 1947; HUXLEY et STAMPLFI, 1951) alors qu'un abaissement de la concentration en sodium réduit les potentiels d'action et conduit au blocage de la conduction (HODGKIN et KATZ, 1949; HODKIN, 1951).

Mais on sait que la température extérieure agit aussi sur les propriétés des fibres nerveuses en modifiant la répartition des ions. L'augmentation de la température provoque en particulier une sortie de potassium hors de la fibre et une entrée de sodium. Or, à ce propos, il est très intéressant de rapprocher nos travaux de ceux de RAO (1961 et 1962) sur l'acclimation de divers poïkilothermes et en particulier *Lamellidens marginalis* (moule d'eau douce) aux variations thermiques. Un abaissement de température entraîne en effet chez cet animal une augmentation de la neurosécrétion, comme on peut l'observer histologiquement, alors qu'une élévation de la température produit l'effet inverse. Donc, du point de vue de la neurosécrétion, une diminution de température provoquerait les mêmes effets qu'une hypertonie alors qu'une élévation de température provoquerait les mêmes effets qu'une hypotonie. (Il est d'ailleurs curieux de remarquer que la similitude des deux types d'adaptation se retrouve dans d'autres domaines : on peut en effet constater que l'élévation de la température et la diminution de la salinité s'accompagnent toutes deux d'une augmentation des acides aminés du sang.)

Il est permis de penser que dans les deux cas les modifications de la répartition des ions au niveau des fibres nerveuses peuvent être à l'origine de la libération ou du stockage du neurosécrétat. Par le mécanisme de décharge neurosécrétoire, comme par d'autres aspects déjà étudiés, les phénomènes d'osmorégulation et les réactifs à la température seraient deux problèmes très liés.

Conclusion.

Nos expériences suggèrent que les échanges d'eau survenant lors de l'adaptation de *Mytilus galloprovincialis* aux variations de salinité sont considérablement modifiés en l'absence des ganglions cérébroïdes. Un facteur (ou plusieurs) émis par les cellules neurosécrétrices tient sous sa dépendance le degré d'hydratation des animaux. Cette hormone jouerait un rôle particulièrement important lors d'un abaissement de salinité.

BIBLIOGRAPHIE

- ALLEN (K.), 1957. — *Am. Zoologist.*, **1** : 253-261.
ALTMANN (G.), 1956. — Insectes sociaux. — **3** : 33-40.
BENNET (M.V.L.) et FOX (S.), 1962. — *Gen. Comp. Endocrinol.*, **2** : 77-95.
BRICTEUX-GREGOIRE (S.), DUCHATEAU-BOSSON (Gh.), JEUNIAUX (Ch.) et FLORKIN (M.), 1964. —
Arch. int. Physiol., **72** : 116-123.
DUCHATEAU (Gh.) et FLORKIN (M.), 1956. — *J. Physiol.*, **48** : 520.
HODGKIN (A.L.), 1947. — *J. Physiol.*, **106** : 319-340.
— 1951. — *Biol. Rev.*, **26** : 339-409.
HODGKIN (A.L.) et KATZ (B.), 1949. — *J. Physiol.*, **108** : 37-77.
HUXLEY (A.F.) et STAMPFLI (R.), 1951. — *J. Physiol.*, **112** : 496-508.
LANGE (R.), 1963. — *Comp. Biochem. Physiol.*, **10** : 173-179.
LEVER (J.), JANSSEN (J.) et VLIETGER (T.A., DE), 1961. — *Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch.*, Amsterdam,
64C (4) : 531-542.
LEVER (J.) et JOOSSE (J.), 1961. — *Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch.*, Amsterdam, **64 C** (5) : 630-639.
LUBET (P.) et PUJOL (J.P.), 1963. — *C.R. Acad. Sci., Paris*, **257** : 4032-4034.
MORITA (H.), ISHIBASHI (T.) et YAMASHITA (S.), 1961. — *Nature*, **191** : 183.
NAYAR (K.K.), 1957. — *Current Science* (India), **26** : 25.
NUÑEZ (J.A.), 1956. — *Zeitschr. vergl. Physiol.*, **38** : 341-354.
PFLUGFELDER (O.), 1937. — *Zeitschr. wiss. Zool.*, **149** : 477-512.
POTTS (W.T.W.), 1958. — *J. Exp. Biol.*, **35** : 749-764.
RAABE (M.), 1959. — *Bull. Soc. Zool. France*, **84** : 272-316.
RAO (K.P.) et RAMACHANDRA, 1961. — *J. Exp. Biol.*, **38** : 29-34.
RAO (K.P.), 1962. — *Science*, **137** : 682-683.
SCHARRER (E.) et BROWN (S.), 1962. — *Gen. Comp. Endocrinol.*, **2** (1-3).
UNGER (H.), 1962. — *Zool. Jahrb. Abt. Allgen. Zool. Physiol. Tiere*, **69** : 481.
VAN DER KLOOT (W.G.), 1961. — *Am. Zoologist.*, **1** (3-9).
VICENTE (N.), 1963. — *C.R. Acad. Sci.*, **256** : 2928-2930.
-