

74.

Reçu le 13 février 1962.

CONTRIBUTION A LA BIOCHIMIE DU VER A SOIE
XXV. — VARIATIONS DE LA CONCENTRATION
DE LA TYROSINE DE L'HÉMOLYMPHE
AU COURS DU DÉVELOPPEMENT DE *BOMBYX MORI* L.

PAR

Gh. DUCHÂTEAU-BOSSON, Ch. JEUNIAUX ET M. FLORKIN
(Institut Léon Fredericq, Biochimie; Université de Liège)

(1 figure)

Introduction

Chez les Insectes, les variations de concentration de la tyrosine au niveau de l'hémolymphe n'ont été étudiées que dans le cas de certains Diptères Cyclorraphes, caractérisés par la formation d'un puparium au début de la nymphose. DENNELL (1947) a montré, chez *Sarcophaga falculata* PAND., que la teneur en tyrosine du sang augmente fortement peu avant la mue nymphale, et diminue ensuite pendant la formation du puparium. FRAENKEL et RUDALL (1947) ont confirmé ces observations chez *Calliphora erythrocephala* MEIGEN. Chez *Calliphora augur* (F.), HACKMAN (1956) a observé une teneur élevée en tyrosine vers la fin du stade larvaire; celle-ci diminue de moitié chez les prénymphe (« prepupal stage ») et remonte légèrement après la nymphose.

Ces variations peuvent être mises en rapport avec les processus de tannage et de mélanisation qui accompagnent la formation du puparium, deux des formes du métabolisme de la tyrosine chez les Insectes.

Dans le mémoire XXIV (FUKUDA, DUCHÂTEAU-BOSSON et FLORKIN, 1961) de cette série consacrée à *Bombyx mori* L., nous avons admis que chez les animaux abondamment nourris, la tyrosine est synthétisée, au niveau des tissus, à partir de la phénylalanine d'origine alimentaire. La tyrosine est libérée dans l'hémolymphe, au cours du 5^e âge larvaire, et est utilisée par les glandes séricigènes pour l'élaboration de la soie. La phénylalanine, en effet, n'est pratiquement pas absorbée par les glandes

séricigènes à partir de l'hémolymphe (DUCHÂTEAU-BOSSON, JEUNIAUX et FLORKIN, 1961). Au contraire, selon FUKUDA, KIRIMURA, MATUDA et SUZUKI (1955), les glandes prélèvent des quantités appréciables de tyrosine dans le sang, ce qui est confirmé par nos résultats.

L'étude des variations de la teneur de l'hémolymphe en tyrosine au cours du développement n'avait pas été réalisée, jusqu'à présent, chez le ver à soie. Le présent travail est consacré à cette étude au cours de la période allant du 4^e âge larvaire à l'éclosion de l'adulte.

Méthodes

Les observations ont porté sur un élevage d'avril-mai 1961, abondamment alimenté. Les méthodes d'élevage de *Bombyx mori* L. et la technique opératoire utilisée pour la glandectomie ont été décrites dans le premier mémoire de cette série (JEUNIAUX et FLORKIN, 1958). L'hémolymphe, obtenue par section d'une fausse patte, a été recueillie dans un tube à centrifuger maintenu dans la glace et contenant 1 ml. de paraffine liquide. On centrifuge aussitôt, sous paraffine, pendant cinq minutes, à la vitesse de 10.000 tours/minute et on décante le plasma dans un tube refroidi dans la glace. Le plasma est resté d'un beau jaune du fait de son maintien à basse température et à l'abri de l'oxygène, deux facteurs évitant la formation de mélanine à partir de la tyrosine en présence de la tyrosinase du sang. On prépare aussitôt un filtrat tungstique 1/10, c'est-à-dire qu'à 1 volume de plasma, on ajoute 7 volumes d'eau distillée puis 1 volume de solution de tungstate de soude à 5 % et enfin, lentement, et en agitant, 1 volume d'acide sulfurique 1/3 N. Après trente minutes, on filtre sur SS 602 eh. Le filtrat, qui est limpide, est utilisé pour le dosage de la tyrosine par la méthode microbiologique de DUNN, CAMIEN, MURPHY et REINER (1949). On a également dosé la tyrosine dans les cuticules de 40 nymphes prélevées 5 jours après la mue nymphale et soigneusement nettoyées, de même que dans les exuvies laissées après leur éclosion par 38 papillons du même élevage. Les cuticules et exuvies ont été pesées à l'état frais, séchées à l'étude à 104° C. jusqu'à poids constant. Elles ont été hydrolysées pendant 6 heures à 120° en présence de HCl 6 N. L'hydrolysate filtré et neutralisé a été utilisé pour le dosage microbiologique de la tyrosine.

Résultats

Les résultats, présentés en figure 1, montrent une augmentation considérable de la teneur en tyrosine au cours du 4^e âge larvaire, suivie d'une chute pendant toute l'intermue.

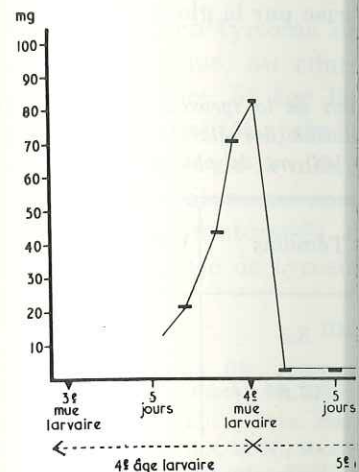


FIG. 1. — Variations de la teneur en tyrosine dans l'hémolymphe.

sang reste très basse. A la suite de la mue nymphale, la teneur en tyrosine chute de 10^e ou 11^e jour du développement. La teneur en tyrosine dans l'hémolymphe n'a pas été dosée.

Les diminutions de concentration de tyrosine aux mues (4^e mue larvaire) sont dues à la notion de l'utilisation de la tyrosine pour la formation de la nouvelle cuticule.

Pendant le 5^e âge, la teneur en tyrosine dans l'hémolymphe est très basse. La tyrosine provenant de la dégradation de la tyrosine synthétisée à partir de la tyrosine plasmale est incorporée dans les cuticules.

Résultats et Discussion

Les résultats, présentés dans la figure 1, montrent une augmentation considérable de la teneur en tyrosine à la fin du 4^e âge larvaire, suivie d'une chute très rapide après la 4^e mue. Pendant toute l'intermue du 5^e âge, la teneur en tyrosine du

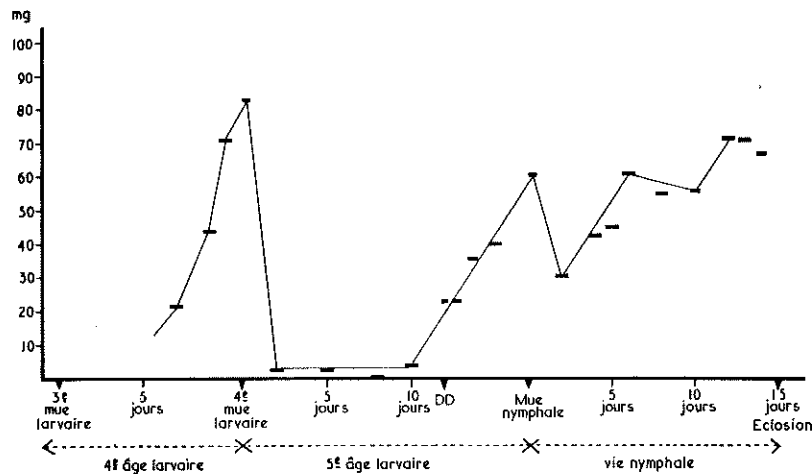


FIG. 1. — Variations de concentration de la tyrosine libre dans l'hémolymphe de *Bombyx mori* L.

sang reste très basse. A partir de la fin de la période d'alimentation (10^e ou 11^e jour du 5^e âge), on enregistre une augmentation de la teneur en tyrosine, qui se poursuit jusqu'à la mue nymphale. A la suite de la mue nymphale, se produit une nouvelle chute de concentration, suivie d'une nouvelle augmentation jusqu'à la mue imaginale. La teneur en tyrosine de l'hémolymphe n'a pas été dosée après la mue imaginale.

Les diminutions de concentration en tyrosine qui font suite aux mues (4^e mue larvaire et mue nymphale) cadrent avec la notion de l'utilisation de la tyrosine pour le tannage et la mélanisation de la nouvelle cuticule.

Pendant le 5^e âge, la teneur en tyrosine du sang est très faible. La tyrosine provenant de sources alimentaires est vraisemblablement incorporée dans les tissus; de la tyrosine y est également synthétisée à partir de la phénylalanine. L'augmentation régulière de la tyrosine plasmatique à partir du 10^e ou 11^e jour du

5^e âge (fin de la période d'alimentation) doit être attribuée à une fourniture à l'hémolymphe à partir des tissus. Le tableau I montre que les vers à soie privés de leurs glandes séricigènes (« glandectomisés ») ont une teneur en tyrosine plasmatique plus élevée que les témoins. D'autre part, cette valeur augmente encore pendant le filage. Ces résultats indiquent que, chez les vers à soie normaux, la tyrosine est prise par la glande séricigène à partir de l'hémolymphe.

TABLEAU I. — Variations de concentration de la tyrosine dans l'hémolymphe de vers à soie glandectomisés (ablation des glandes séricigènes : le 3^e jour du 4^e âge), en mg/100 ml de plasma.

Age	Témoins	Glandectomisés
10 jours après le 4 ^e mue	3.5	17.5
36-48 h après la dernière défécation (DD)	17.8	26.7

L'augmentation de la tyrosine au cours de la vie nymphale relève probablement à la fois de la lyse tissulaire et de la résorption par l'épiderme de la tyrosine libérée par la dégradation de la cuticule nymphale, sous l'action des enzymes protéolytiques du liquide exuvial. Cette dernière explication est confirmée par le fait, illustré par les valeurs du tableau II, que les exuvies

TABLEAU II. — Tyrosine totale dans 40 cuticules nymphales et 40 exuvies nymphales de *Bombyx mori* (lot homogène)

Age des cuticules	Nombre	Poids sec en g	N total, % poids sec	Tyrosine g % poids sec	Tyrosine totale, mg pour 40 individus
5 jours après mue nymphale	40	0.7878	10.97	3.88	30.57
Eclosion imaginaire (exuvies) .	38	0.3720	9.69	2.76	10.81 (1)

(1) Valeur calculée pour 40 individus.

nymphales, rejetées après au total moins de tyrosine par 40 individus, prélevés de la vie nymphale.

La teneur en tyrosine dans chaque intermue, au cours de la 4^e âge larvaire, 5^e âge nymphale, est rapidement aussitôt après la mue larvaire et de la mue nymphale.

La comparaison, au cours de la vie nymphale, des animaux glandectomisés et des témoins confirme la prise de tyrosine par la glande séricigène.

DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh., JEUNIAUX, Gh. et FLORKIN, M. — *Ann. Entomol. nat. Physiol. Bioch.*, **69**, 48.

DENNELL, R. (1947). — *Proc. Entomol. Soc. Lond.*, **46**, 10.

DUNN, M. S., CAMIEN, M. N., MATHIAS, L. — *Univ. of California Publ. Entomol.*, **10**, 1.

FRAENKEL, G. et RUDALL, K. I. — *Ann. Entomol. Soc. Lond.*, **46**, 10.

FUKUDA, T., DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh. et JEUNIAUX, Gh. — *Physiol. Bioch.*, **69**, 701.

FUKUDA, T., KIRIMURA, J., MATSUDA, M. — *Ann. Entomol. Soc. Lond.*, **42**, 341.

HACKMAN, R. H. (1956). — *Ann. Entomol. Soc. Lond.*, **49**, 1.

JEUNIAUX, Gh. et FLORKIN, M. — *Ann. Entomol. Soc. Lond.*, **49**, 1.

doit être attribuée à
s tissus. Le tableau I
rs glandes séricigènes
sine plasmatique plus
ette valeur augmente
liquent que, chez les
ar la glande séricigène

la tyrosine dans l'hémo-
des glandes séricigènes :
l de plasma.

ns	Glandectomisés
	17.5
	26.7

s de la vie nymphale
sulaire et de la résorp-
par la dégradation de
zymes protéolytiques
ion est confirmée par
u II, que les exuvies

nymphales et 40 exuvies
homogène)

Tyrosine g % poids sec	Tyrosine totale, mg pour 40 individus
3.88	30.57
2.76	10.81 (1)

nymphales, rejetées après l'éclosion de 40 individus, contiennent au total moins de tyrosine que les cuticules nymphales de 40 individus, prélevés dans le même élevage, le 5^e jour de la vie nymphale.

Résumé

La teneur en tyrosine de l'hémolymphe s'accroît à la fin de chaque intermue, au cours du développement du ver à soie (4^e âge larvaire, 5^e âge larvaire, vie nymphale). Elle diminue rapidement aussitôt après l'exuviation, dans les cas de la dernière mue larvaire et de la mue nymphale.

La comparaison, au cours du 5^e âge, de la tyrosinémie des animaux glandectomisés et de celle des animaux normaux confirme la prise de tyrosine par la glande séricigène.

BIBLIOGRAPHIE

- DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh., JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1961). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **69**, 485.
- DENNELL, R. (1947). — *Proc. Roy. Soc. (B.)*, **134**, 79.
- DUNN, M. S., CAMIEN, M. N., MALIN, R. B., MURPHY, E. A. et REINER, P. J. (1949). — *Univ. of California Publ. in Physiol.*, **3**, 293.
- FRAENKEL, G. et RUDALL, K. M. (1947). — *Proc. Roy. Soc. (B.)*, **134**, 111.
- FUKUDA, T., DUCHÂTEAU-BOSSON, Gh. et FLORKIN, M. (1961). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **69**, 701.
- FUKUDA, T., KIRIMURA, J., MATUDA, M. et SUSUKI, T. (1955). — *J. of Bioch. (Jap.)*, **42**, 341.
- HACKMAN, R. H. (1956). — *Austral. J. Biol. Sci.*, **9**, 400.
- JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1958). — *Arch. internat. Physiol. Bioch.*, **66**, 552.