

Reçu le 10 mars 1970.

MODIFICATIONS DE LA COMPOSANTE CATIONIQUE INORGANIQUE DE L'HÉMOLYMPHE AU COURS DU DÉVELOPPEMENT ET DES MÉTAMORPHOSES DE QUELQUES LÉPIDOPTÈRES (1)

PAR

M. NAOUMOFF ET Ch. JEUNIAUX

(Université de Liège, Institut Léon Fredericq, Laboratoire de Biochimie, et Institut Ed. Van Beneden, Laboratoire de Morphologie, Systématique et Ecologie animales)

L'étude comparée de la composition inorganique de l'hémolymphe des Insectes a permis de souligner l'intérêt que présente le « patron cationique » de l'hémolymphe dans le cadre de considérations d'ordre taxinomique (DUCHÂTEAU *et al.*, 1953; SUTCLIFFE, 1963; FLORKIN et JEUNIAUX, 1964). FLORKIN et JEUNIAUX (1963 et 1964) ont néanmoins souligné le danger de généralisations trop hâtives, consistant notamment à comparer les résultats obtenus pour un stade de développement dans un groupe systématique donné à ceux obtenus pour un autre stade de développement dans un autre groupe. Ces mêmes auteurs ont en effet montré l'existence de « métamorphoses » au niveau de la composante inorganique du sang de deux espèces d'Hyménoptères.

Nous nous proposons, dans le présent travail, d'étendre ces observations à quelques représentants de l'ordre des Lépidoptères.

MATÉRIEL

Nos recherches ont porté sur les espèces suivantes : *Bombyx mori* L., *Barathra (Mamestra) brassicae* (L.) et *Euproctis chrysorrhæa* Hb. (*nec* L.).

(1) En hommage au Professeur Marcel FLORKIN, à l'occasion de son 70^e anniversaire.

a) *Bombyx mori* L.

Les vers à soie appartenaient à la race européenne « Alpes » à cocons jaunes; l'élevage a été conduit *ab ovo* à la température de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$. Le repérage des âges physiologiques a été réalisé au moyen des critères exposés ailleurs par l'un de nous (JEUNIAUX et FLORKIN, 1958).

Le sang des chenilles a été prélevé par section d'une fausse patte abdominale; le dosage des cations a porté sur des échantillons d'hémolymphe fournis par un ou plusieurs (jusque 26) individus (cf. tableau I). Le sang des chrysalides a été recueilli après incision du tergite mésothoracique. Le sang des adultes a été prélevé sur des individus (mâles ou femelles, indistinctement) fraîchement éclos (1 à 5 heures après l'éclosion), au niveau du sinus dorsal, facilement accessible grâce à une incision entre la tête et le pronotum; les phanères étaient préalablement arrachées au moyen d'un pinceau à soies raides. Dans tous les cas, le sang était d'un jaune vif et ne se coagulait pas.

b) *Barathra (Mamestra) brassicae* (L.).

Quatre lots, constitués chacun de 3 chenilles à la fin du dernier âge larvaire, ont permis la récolte de 0.06 à 0.25 ml d'une hémolymphe vert clair, ne se coagulant pas. Un autre lot, appartenant à la même population récoltée dans la nature, comprenait 30 individus; ceux-ci ont été élevés (nourriture : feuilles de choux; température : $18-20^{\circ}\text{C}$) jusqu'à l'éclosion des adultes. 27 papillons (sexes mélangés) ont fournis 0.11 ml d'une hémolymphe de couleur jaune, ne se coagulant pas.

c) *Euproctis chryorrhoea* Hb.

Les chenilles ont été récoltées dans la nature (âge indéterminé; probablement début du dernier âge larvaire); 9 individus ont fourni 0.25 ml d'hémolymphe verdâtre, ne se coagulant pas.

D'autres chenilles, appartenant à la même population, ont été élevées en serre (nourriture : feuilles de *Prunus* spp.) à $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, jusqu'à l'éclosion des adultes. 52 papillons ont fourni 0.17 ml de sang jaune, ne se coagulant pas.

L'hémolymphe (ci-dessus), au moment du dosage (4 500 rev/mi et dilué par de l'eau) au moment du dosage.

Le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium a été dosé par spectrophotométrie de flamme. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux I et II.

des différents cations (BRIGGS *et al.*, 1953). Ces résultats sont aux variations évolutives.

L'ion Cl^- a été dosé par précipitation d'argent (BRIGGS,

1. — Variation de la concentration de l'hémolymphe de *Bombyx mori*

Les résultats présentés ci-dessus conduisent à la conclusion suivante :

a) au cours de la vie larvaire, la concentration des 4 principaux cations (Na, K, Ca, Mg) est généralement égale. Cette concentration diminue sensiblement au cours de la vie larvaire (« montée en chrysalide »).

b) Tout au long de la vie larvaire, la concentration relative (indice) de ces cations est constante. La concentration absolue des cations enregistrées sont influencées par les variations de la concentration absolue de l'hémolymphe. Ces variations ne sont pas liées à la nymphose; elles sont dues à des variations individuelles des concentrations individuelles des cations aux différents âges larvaires (indiquées ci-dessus) et sont légèrement par la suite.

MÉTHODES

L'hémolymphe a été recueillie au niveau d'une blessure (voir ci-dessus), au moyen de micropipettes capillaires. Après centrifugation (4 500 rev/min), le liquide surnageant a été décanté, mesuré, et dilué par de l'eau bidistillée. Il a été gardé à -10°C jusqu'au moment du dosage.

Le sodium, le potassium et le calcium ont été dosés par spectrophotométrie de flamme au moyen d'un appareil Eppendorf. Le magnésium a été mesuré par la méthode de BRIGGS (1924). Les résultats obtenus sont exprimés en mEq/litre d'hémolymphe. Dans les tableaux I et II, on considère également les proportions relatives des différents cations, en % de leur somme (« indices ») (DUCHÂTEAU *et al.*, 1953). Ce procédé permet de pallier les inconvénients dûs aux variations éventuelles du volume du sang.

L'ion Cl^{-} a été dosé par titration potentiométrique au nitrate d'argent (BRIGGS, 1952).

RÉSULTATS

1. — *Variation de la composante cationique au cours du développement de Bombyx mori.*

Les résultats présentés dans le tableau I permettent de tirer les conclusions suivantes :

a) au cours de la vie larvaire, la somme des concentrations des 4 principaux cations inorganiques subit des variations, mais demeure généralement égale ou supérieure à 150 mEq/l. A la fin du 5^e âge larvaire (« montée »), la concentration totale en cations inorganiques diminue sensiblement et tombe à 93 mEq/l chez l'adulte.

b) Tout au long du développement larvaire, la concentration relative (indice) en Na est constante et très basse (0.9 à 2.6 %). La concentration relative en K est peu stable, mais les variations enregistrées sont irrégulières; l'indice est compris entre 22 et 40 %. Ces variations ne peuvent être mises en rapport avec la mue, le filage ou la nymphose; elles semblent plutôt refléter l'existence de variations individuelles. La teneur en Ca est faible pendant les premiers âges larvaires (indice inférieur à 10 % jusqu'au 4^e âge); elle augmente légèrement par la suite.

TABLEAU I. Composante cationique inorganique de l'hémolymphe de *Bombyx mori* L. au cours du développement larvaire et des métamorphoses

Stade	Age	Nombre d'exemplaires	mEq/l plasma				Σ des cations	Indices (en % de la somme des cations)			
			Na	K	Ca	Mg		Na	K	Ca	Mg
2 ^e âge larvaire	1 jour avant 2 ^e mue	26	3.5	48.3	11.0	111.8	174.6	2	27.7	6.3	64.1
3 ^e âge larvaire	4 jours après 2 ^e mue	13	2.3	31.1	14.8	149.1	197.3	1.2	15.8	7.5	75.6
4 ^e âge larvaire	3 jours après 3 ^e mue	4	2.5	67.1	8.4	92.4	170.4	1.5	39.4	4.9	54.2
	4 jours après 3 ^e mue	3	2.3	81.5	12.0	101.5	197.4	1.2	41.3	6.1	51.4
	7 jours après 3 ^e mue	3	1.8	62.6	20.8	102.4	187.6	1	33.4	18.8	54.6
5 ^e âge larvaire	1 jour avant 4 ^e mue (stade du triangle)	3	2.8	55.2	31.2	122.2	211.4	1.3	26.1	14.8	57.8
	3 jours après 4 ^e mue	1	1.2	44	23.5	100.7	169.4	1.5	25.9	13.3	59.4
	6 jours après 4 ^e mue	1	2.2	40	15.2	72.9	130.3	1.7	30.7	11.7	55.9
	8 jours après 4 ^e mue	1	3.4	46	21.2	86.9	157.6	2.2	29.2	13.5	51.2
	Montée avant D. D. ^a	1	1.2	42.6	16.0	78.9	138.7	0.9	30.7	11.5	56.9
Nymphe	D'but filage (1 jour après D. D.)	1	3.7	31.1	21.7	84.3	140.7	2.6	22.1	15.4	59.9
	2 jours après D. D.	2	4.7	31.7	24.8	86.9	148.1	3.2	21.4	16.8	58.7
Adulte	11 jours après D. D.	3	3.6	54.4	15.9	56.6	130.0	2.8	41.8	11.9	43.5
	Quelques heures après l'éclosion	8	7.7	33.1	12	40.3	93.17	8.3	35.6	12.9	43.2
	Non précisé ^b	? ^b	14.3	36.1	14.5	44.6	109.5	13.0	32.9	13.2	40.7 ^b

^a D. D. : dernière défécation, purge liquide au début de la "montée" et de la période de filage (cf. JEUNIAUX et FLORKIN, 1958).

^b D'après BIALASZEWICZ et LANDAU, 1938.

c) La con-
premiers stad-
de la somme
larvaire. Elle

d) L'hémol-
teneur plus élé-
concordent a-
(1938).

2. — Compos-
adultes.

Le tableau I
de l'hémolymp-
de Lépidoptère

Chez les des-
très basse; la t-
par de petites
teneur en ions
que dans celle c

Dans le cas
l'hémolymphe
de chenilles ét-
chenilles de Lé-
élevée en Mg
(4.9-6.5 %). L'
des larves par la
basse (33.7 %)
(14.7 %). La t-

Dans le cas
et adultes sont
la teneur de l'hé-
chez l'adulte qu-

1. On sait qu-
tréhalosémie et
cours du dévelo-

Nymph	2 jours après D. D. 11 jours après D. D.	2	4.7	31.7	24.8	86.9	148.1	3.2	21.4	16.8	58.7
		3	3.6	54.4	15.9	56.6	130.0	2.8	41.8	11.9	43.5
Adulte	Quelques heures après l'éclosion Non précisé b	8	7.7	33.1	12	40.3	93.17	8.3	35.6	12.9	43.2
		?b	14.3	36.1	14.5	44.6	109.5	13.0	32.9	13.2	40.7b

a D. D. : dernière défécation, purge liquide au début de la "montée" et de la période de filage (cf. JEUNIAUX et FLORKIN, 1958).
 b D'après BIALASZEWICZ et LANDAU, 1938.

c) La concentration relative en Mg est très élevée dans les premiers stades, puis se stabilise autour d'une valeur égale à 55 % de la somme des cations pendant toute la suite du développement larvaire. Elle diminue nettement au cours de la vie nymphale.

d) L'hémolymphe des adultes diffère de celle des larves par la teneur plus élevée en Na et la teneur plus basse en Mg. Nos valeurs concordent avec celles obtenues par BIALASZEWICZ et LANDAU (1938).

2. — Composante cationique de l'hémolymphe des larves et des adultes.

Le tableau II compare les composantes cationiques inorganiques de l'hémolymphe chez les larves et les adultes de deux autres espèces de Lépidoptères.

Chez les deux espèces étudiées, la concentration en ion Cl⁻ est très basse; la balance cationique est manifestement assurée surtout par de petites molécules organiques. On remarque toutefois que la teneur en ions Cl⁻ est plus élevée dans l'hémolymphe des adultes que dans celle des larves.

Dans le cas de *Barathra brassicae*, la composante cationique de l'hémolymphe est pratiquement identique pour chacun des 3 lots de chenilles étudiées. Elle se caractérise, comme chez les autres chenilles de Lépidoptères (DUCHÂTEAU *et al.*, 1953) par une teneur élevée en Mg (indice : 62-64 %), et une teneur très basse en Na (4.9-6.5 %). L'hémolymphe des adultes diffère nettement de celle des larves par la concentration relative en Mg, qui est deux fois plus basse (33.7 %) et par celle en Na, qui est deux à trois fois plus élevée (14.7 %). La teneur en K est également plus élevée chez l'adulte.

Dans le cas d'*Euproctis chrysorrhaea*, les différences entre larves et adultes sont moins évidentes en ce qui concerne l'ion Na, mais la teneur de l'hémolymphe en Mg est, ici aussi, nettement plus basse chez l'adulte que chez la larve.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

1. On sait que la composante amino-acide de l'hémolymphe, la tréhalosémie et la glycémie, par exemple, varient fortement au cours du développement du ver à soie (cf. : FLORKIN et JEUNIAUX,

TABLEAU II. Composition inorganique de l'hémolymphe des chenilles et des adultes de deux espèces de Lépidoptères.

Espèces	Stade	mEq/l plasma				Somme des cations	Cl	Indices (% de la somme des cations)				
		Na	K	Ca	Mg			Na	K	Ca	Mg	Cl
<i>Barathra brassicae</i> (L.)	Larve	6.6	24.4	19.3	86.2	136.5	25	4.9	17.9	14.1	63.2	18.3
	Larve	8.3	25.2	20	97.9	151.3	24.8	5.5	16.6	13.2	64.6	16.4
	Larve	10.1	29.9	19	98.6	157.6	24.8	6.4	19	12.1	62.6	15.8
	Adulte	15.6	43.9	10.8	38.7	106	28.7	14.7	41.4	10.3	33.7	27.1
<i>Euproctis chryorrhoea</i> Hb.	Larve	17.9	44.5	20.6	87.9	170.9	—	10.5	26	12.1	51.4	8.4
	Larve	21.8	14.3	18.4	91.2	145.7	12.3	15	9.4	12.6	62.7	8.4
	Adulte	18.6	31.6	9.6	47	106.9	24.7	17.4	29.6	9	43.9	23.1

a D'après DUCHÂTEAU et al., 1953.

1964). Au contraire cations inorganique modifications relative l'indice de Ca et dim premiers âges larva cationique des chen ment stable au cours

Il semble donc just un âge quelconque suffisamment repré l'hémolymphe de ce

2. La plupart des que du sang des In résultats obtenus p Lépidoptères sont e une faible teneur en l'anion Cl⁻ ne partic

Nos résultats conf hémolymphe d'un ty exhibé par les Palé important (indice : 8

Les rares données des Lépidoptères ad RINGTON et TENNEY même patron cation espèce donnée.

Les résultats du l'hémolymphe des a des larves : dans les de Mg est plus bas ch que de l'hémolymphe spécialisé que celui

La composante ca tout au moins pour niements au cours e les Hyménoptères, d *germanica* (FLORKIN que, au point de vue le stade larvaire d

1964). Au contraire, les concentrations relatives des principaux cations inorganiques de l'hémolymphe ne présentent que des modifications relativement peu importantes (augmentation de l'indice de Ca et diminution légère de l'indice de Mg au cours des premiers âges larvaires) ou irrégulières (potassium). Le patron cationique des chenilles peut donc être considéré comme relativement stable au cours des différents âges du développement larvaire.

Il semble donc justifié de considérer que les résultats obtenus pour un âge quelconque d'un stade de développement déterminé sont suffisamment représentatifs du type de patron cationique de l'hémolymphe de ce stade ontogénique, pour une espèce donnée.

2. La plupart des auteurs qui ont étudié la composition cationique du sang des Insectes ont conclu, sur la base des nombreux résultats obtenus pour les chenilles et les chrysalides, que les Lépidoptères sont caractérisés par une hémolymphe présentant une faible teneur en Na, une haute teneur en Mg, et dans laquelle l'anion Cl^- ne participe que médiocrement à la balance cationique.

Nos résultats confirment ces vues; ces caractères sont ceux d'une hémolymphe d'un type très spécialisé, très différent du type primitif exhibé par les Paléoptères par exemple, où Na est le seul cation important (indice : 85 %).

Les rares données disponibles jusqu'ici concernant l'hémolymphe des Lépidoptères adultes (BIALASZEWICZ et LANDAU, 1938; CARINGTON et TENNEY, 1959) semblaient indiquer l'existence d'un même patron cationique pour les divers stades ontogéniques d'une espèce donnée.

Les résultats du présent travail montrent, au contraire, que l'hémolymphe des adultes des trois espèces étudiées diffère de celle des larves : dans les trois cas, l'indice de Na est plus élevé et celui de Mg est plus bas chez l'adulte que chez la larve. Le patron cationique de l'hémolymphe des adultes correspond donc à un type moins spécialisé que celui des larves.

La composante cationique de l'hémolymphe des Lépidoptères est, tout au moins pour les espèces étudiées jusqu'ici, l'objet de remaniements au cours des métamorphoses, comme c'est le cas, chez les Hyménoptères, de l'abeille *Apis mellifica* et de la guêpe *Vespula germanica* (FLORKIN et JEUNIAUX, 1963). On peut donc considérer que, au point de vue de la composante inorganique de l'hémolymphe, le stade larvaire de ces Lépidoptères et de ces Hyménoptères

présente des caractères de spécialisation plus poussés que le stade adulte, et correspond bien à un « détour adaptatif » plutôt qu'à un stade ontogénique récapitulatif de la phylogénie.

Remarquons enfin que les observations du présent travail ne sont pas en désaccord avec les vues émises par HOYLE (1954), selon lesquelles une hémolymphe riche en potassium et en magnésium favoriserait la vie sédentaire des Insectes phytophages au sein d'un milieu garantissant un ravitaillement alimentaire abondant. Ce mode de vie, qui est bien celui des larves de la plupart des Lépidoptères, n'est pas celui des adultes, plus actifs et moins sédentaires.

RÉSUMÉ

La composante cationique de l'hémolymphe de *Bombyx mori* L. reste relativement constante pendant le développement larvaire jusqu'à la mue nymphale. On peut donc admettre qu'il existe un « patron » cationique inorganique caractéristique du stade larvaire.

Ce patron cationique se modifie nettement au cours des métamorphoses. Le stade adulte est caractérisé par une hémolymphe plus riche en sodium et moins riche en magnésium que celle du stade larvaire.

Des différences analogues ont été observées entre les larves et les adultes de deux autres espèces de Lépidoptères : *Barathra brassicae* (L.) et *Euproctis chrysothraea* Hb. Le patron cationique de l'hémolymphe des adultes est, dans les trois cas étudiés, d'un type moins spécialisé que celui des larves.

SUMMARY

The concentration and the relative proportions of Na, K, Ca and Mg in the hemolymph of *Bombyx mori* L. remain at a relatively constant level during the larval development through the pupation. This observation is consistent with the concept of a «cationic pattern» characterizing the larval instar of a given species.

This hemolymph cationic pattern is modified at the time of metamorphosis. The adult hemolymph is characterized by a higher Na index and a lower Mg index than the larval one. Similar differences between larvae and adults have been pointed out in two

other species of *L. chrysothraea* Hb. pattern of adults of larvae.

BIALASZEWICZ, K. et L.
BRIGGS, A. P. (1924).
BRIGGS, A. P. (1952).
CARRINGTON, C. B. et
DUCHÂTEAU, G., FLO
 Biochim., 61, 518.
FLORKIN, M. et JEUNIAUX
FLORKIN, M. et JEUNIAUX
 M. ROCKSTEIN), A
HOYLE, G. (1954). — J
JEUNIAUX, Ch. et FLO
SUTCLIFFE, D. W. (196

oussés que le stade
otatif » plutôt qu'à un
énie.

du présent travail ne
es par HOYLE (1954),
tassium et en magné-
ctes phytophages au
alimentaire abondant.
es de la plupart des
plus actifs et moins

de *Bombyx mori* L.,
veloppement larvaire
mettre qu'il existe un
que du stade larvaire.
au cours des métamor-
ne hémolymph plus
m que celle du stade

s entre les larves et les
es : *Barathra brassicae*
cationique de l'hémo-
diés, d'un type moins

rtions of Na, K, Ca
remain at a relatively
through the pupation.
concept of a «cationic
a given species.

ified at the time of
racterized by a higher
val one. Similar diffe-
n pointed out in two

other species of Lepidoptera : *Barathra brassicae* (L.) and *Euproctis chrysorrhaea* Hb. In those three species, the hemolymph cationic pattern of adults corresponds to a less specialized type than that of larvae.

BIBLIOGRAPHIE

- BIALASZEWICZ, K. et LANDAU, C. (1938). — *Acta Biol. Exptl*, **12**, 307.
BRIGGS, A. P. (1924). — *J. Biol. Chem.*, **59**, 255.
BRIGGS, A. P. (1952). — *Bioch. J.*, **52**, 502.
CARRINGTON, C. B. et TENNEY, S. M. (1959). — *J. Insect Physiol.*, **3**, 402.
DUCHÂTEAU, G., FLORKIN, M. et LECLERCO, J. (1953). — *Arch. internat. Physiol. Biochim.*, **61**, 518.
FLORKIN, M. et JEUNIAUX, Ch. (1963). — *Life Sci.*, **2**, 982.
FLORKIN, M. et JEUNIAUX, Ch. (1964). — Dans *Physiology of Insecta* (publié par M. ROCKSTEIN), Academic Press, New York, vol. 3, 109-152.
HOYLE, G. (1954). — *J. Exptl Biol.*, **31**, 260.
JEUNIAUX, Ch. et FLORKIN, M. (1958). — *Arch. internat. Physiol. Biochim.*, **66**, 552.
SUTCLIFFE, D. W. (1963). — *Comp. Biochem. Physiol.*, **9**, 121.