

## ABSTRACTS

### COMPARATIVE CYTOLOGY

Organized in memoriam of Prof. Dr. J. NAISSE (U.L.B.)  
and Prof. Dr. A. BAUCHAU (F.U.N.D.P.)  
(Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix,  
Namur, 16 December 1989)

#### HOMMAGE A MADEMOISELLE NAISSE \*

Si je prends la parole aujourd'hui, c'est avant tout pour *remercier* Jacqueline Naisse de tout ce qu'elle nous a apporté, à nous ses élèves — étudiants, mémorants, doctorants. Ils furent nombreux en effet, tous ceux qui comme moi, ont eu la chance de la connaître, de la cotoyer, voire même de travailler avec elle. L'influence et le rôle déterminant qu'elle exerça tant sur notre formation scientifique que sur notre mode de pensée, de raisonnement sont indéniables et laisseront une empreinte ineffaçable.

Sa principale qualité était, je crois sa *disponibilité*. Toujours affable, prête à rendre service, elle était avant tout à *l'écoute* des autres, des jeunes en particulier. On ne frappait jamais en vain à la porte de son bureau : celui-ci était d'ailleurs toujours ouvert. Nous avons encore tous en souvenir le défilé perpétuel qu'il y avait dans son bureau. C'était vrai à Bruxelles, mais aussi ici à Namur.

Ce que nous recherchions auprès d'elle, c'était bien sûr ses conseils avisés (en effet son érudition scientifique et sa culture générale étaient très vastes), mais c'était surtout un *réconfort*.

Elle avait avant tout à cœur d'encourager et de valoriser le travail, surtout celui des débutants.

Elle savait, pour parler simplement : « recharger les accus ». Son enthousiasme scientifique était à toute épreuve et elle savait faire passer le message.

Elève de Monsieur P. Brien à qui elle vouait une admiration sans borne et qu'elle considérait comme son « maître à penser scientifique », elle s'est dévouée toute sa vie à la Biologie au sens étymologique du mot : bios logos : étude de la vie. Elle était curieuse de tout, toujours prête à apprendre et surtout prête à apprendre aux autres à apprendre...

Elle avait, je crois, conservé jusqu'au bout cette capacité d'*émerveillement* à l'observation des choses de la vie : une antenne de papillon observée au microscope, une blatte qui traversait la pièce pendant la conversation la mettaient de bonne humeur (nous connaissions tous

\*Voir aussi le texte de J. DELIGNE, *Annls Soc. r. zool. Belg.*, 1988(2), 128-129.

son amour des insectes) et lui faisait oublier tous ses soucis. Car comme chacun d'entre nous, elle avait aussi ses propres soucis tant personnels (sa santé était chancelante) que professionnels (en effet, à force d'être toujours disponible pour les autres, elle avait quelque peu négligé sa carrière). Mais je crois, qu'elle n'aurait pour rien au monde voulu changer sa vie.

Sa recherche occupait ses pensées jour et nuit (elle dormait très peu d'ailleurs). Combien de fois ne m'a-t-elle pas dit : « on entre *en recherche scientifique* comme on entre *en religion*, c'est une *vocation*, il faut avoir le *feu sacré*, ne jamais le laisser s'éteindre et cela doit mobiliser toute votre énergie ».

Aussi ne voyait-elle pas toujours d'un très bon œil survenir chez ses doctorants (et je parle ici d'expérience personnelle) un événement tel qu'une grossesse ou un accouchement qui ne pouvait inmanquablement, à ses yeux, que perturber le bon déroulement de la recherche. Il fallait pour regagner son estime et sa confiance lui prouver que de tels incidents n'étaient qu'occasionnels et n'influenceraient en rien ni notre travail ni notre capacité à raisonner.

Une fois que l'on s'était « *engagé en recherche* » il fallait « *prendre ses responsabilités* » et poursuivre : c'étaient des locutions qu'elle affectionnait tout particulièrement.

Il est certain qu'elle a su transmettre à tous ceux qui ont travaillé avec elle, l'amour de la recherche, la curiosité scientifique et surtout une grande rigueur scientifique, ce dont nous lui serons toujours reconnaissants.

Mais si elle était, à juste titre, intransigeante quant au bon déroulement des expériences scientifiques, elle est toujours restée *profondément humaine*, soucieuse et attentive aux problèmes personnels de ses collaborateurs tant techniques que scientifiques.

Elle était aussi profondément *respectueuse des opinions d'autrui* et s'il était impossible, ou du moins très difficile, de lui faire changer ses propres opinions tant philosophiques que scientifiques, elle était cependant toujours *ouverte au dialogue*. C'est pour cette raison qu'elle s'entendait si bien avec le Père Bauchau avec qui elle partageait la même curiosité scientifique, le même goût de la recherche, de la culture en général et aussi... du tabagisme.

C'est par estime pour lui, qu'elle a tenu, à la mort de ce dernier, à assurer le cours d'Endocrinologie comparée des invertébrés à Namur, et ce malgré une santé déjà chancelante et de nombreuses autres charges professionnelles.

Il y aura bientôt deux ans que Jacqueline Naisse nous a quittés brusquement et discrètement, comme elle l'avait souhaité. Elle craignait en effet par dessus tout de vieillir, non pas par crainte de problèmes physiques (nous savons tous qu'elle se souciait fort peu de son aspect extérieur et de sa santé) mais surtout par crainte de voir ses facultés intellectuelles diminuer ainsi que de ne plus pouvoir accéder — la retraite venue — au laboratoire qui était toute sa vie. Le mot « retraite » en lui-même lui paraissait inconcevable.

Si Jacqueline Naisse était fière d'être l'élève de Monsieur Paul Brien, je suis personnellement très fière d'avoir été la sienne et le plus bel hommage que je puisse lui rendre est de continuer à respecter et appliquer ses enseignements.

Pour moi, elle restera toujours Mademoiselle Naisse. C'était une grande Dame.

### HOMMAGE AU PROFESSEUR ADRIEN BAUCHAU \*

Voici deux ans que le Professeur Adrien Bauchau nous a quittés à la veille de son septantième anniversaire. Emérite depuis 1983, il éprouvait le plaisir de consacrer la majeure partie de son temps à la recherche scientifique et c'est un mois après son retour d'un voyage d'étude en Polynésie française qu'il est mort. Jusqu'au bout, il a gardé cette espérance de mener à leur terme les recherches qu'il venait d'effectuer sur le terrain. La veille de sa mort, il corrigait encore les épreuves d'un article paru depuis dans la revue « Indo Malayan Zoology ».

D'origine anversoise, il avait en tout cas gardé un esprit quelque peu frondeur. Il entre dans la Compagnie de Jésus en 1937 et dix ans plus tard, il présente sa thèse de doctorat en Sciences. Son travail réalisé sous la direction du Professeur Koch à Leuven, concerne des recherches sur le rôle de la glande sinusaire chez le crabe chinois *Eriocheir sinensis*. En 1953, il séjourne à Boston aux Etats-Unis où il participe avec le Dr. Dorothy Bliss aux premières découvertes concernant le contrôle neurohormonal de la croissance des Crustacés. A partir de 1954, il sera essentiellement rattaché aux F.U.N.D.P. où il assure avec brio l'enseignement de la Biologie animale et de l'Endocrinologie comparée tout en continuant des travaux en relation avec la Physiologie de la croissance des Crustacés.

In 1966 publiceert hij een boek over over het leven van de Krabben. Hij interesseert zich onder andere aan hun voedingsbedrag en aan het controleren van hun bloedsuikerspiegel.

Vanaf 1973 gaat zijn belangstelling uit naar de bloedcellen van de schaaldieren. Later benadert hij het probleem van de biochemische mechanismen betreffende de hormonale controle en rond 1980 onderzoekt hij de chemoreceptie door een studie van het reproductiegedragspatroon en de ultrastructuur van de sensorische borstels bij de schaaldieren.

Drie jaren later, vrij van alle academische en administratieve opdrachten, wijdt hij zich volledig aan het onderzoek. Gedurende de zomers 1984 en 1985 verblijft hij in het King Leopold III Biological Station van de ULB-VUB in New Guinea-Papouasia. Hij bestudeert er voor twee soorten krabben *Hippa* en *Scopimera*, de adaptatie aan het substraat waarop ze leven. In de zomer van 1987, enkele weken voor zijn dood, was hij in Tahiti-Moorea om de aanwezigheid van bepaalde krabben die in Papouasia waren ontdekt, te verifiëren.

Zijn wetenschappelijke activiteit was voor een groot deel de bron van de overdenkingen die de vorm hebben aangenomen van lezingen en publicaties. Adrien Bauchau heeft altijd de evolutie van de verschillende levensfilosofiën ter harte genomen en er zich in gemengd met zeer persoonlijke bijdragen.

Cet homme, ce Biologiste qui a marqué plus d'un entre nous était plein de respect et d'amabilité pour ceux et celles qu'il côtoyait. Il orientait naturellement la relation vers plus de liberté, scandant ses dires d'un grand éclat de rire. Le Département de Biologie de Namur a, déjà de son vivant, souhaité créer un Prix Adrien Bauchau destiné à récompenser un licencié de Namur pour son mémoire de fin d'études. C'est maintenant chose faite et j'ai le plaisir d'annoncer qu'il sera attribué pour la première fois en 1990.

P. DEVOS

\* Voir aussi le texte de P. DEVOS, *Annl. Soc. r. zool. Belg.*, 1988(2), 125-127.

**THE PRESENCE OF « ADIPOKINETIC-LIKE » HORMONES  
IN SOME INSECT SPECIES**

by

F. CLOTTENS

Zoological institute,  
Naamsestraat 59, B-3000 Leuven

The adipokinetic hormone is a peptide which elevates the lipid concentration in the haemolymph of locusts. This peptide belongs to a group of peptides (the AKH/RPCH peptides family) in which the primary structure is very much alike. Antisera directed against two AKH-like hormones (Cam-HrTH-II and Lom-AKH-I) were used in a comparative immunohistological study on several insect species : *Carausius morosus*, *Extatosoma tiaratum*, *Sipyloidea sipyilus* (all Phasmidae) and *Sarcophaga bullata* (a grey fleshfly). In *Carausius* and *Extatosoma* only the Cam-Hr-TH-II peptide could be demonstrated in the glandular region of the corpora cardiaca. No other reaction was found in neurons in other regions of the central nervous system. In *Sipyloidea*, however, besides Cam-HrTH-II in the glandular region of the corpora cardiaca, a second peptide, which resembles more Lom-AKH-I, was located in neurons in the pars intercerebralis of the central nervous system. In *Sarcophaga* an even more complicated reaction pattern was observed. Neurons in the subœsophageal ganglion and the tritocerebrum seem to be more Cam-HrTH-II-like, while some neurons in the pars lateralis seem to be more Lom-AKH-I-like. A third AKH-like peptide, which is different from Cam-HrTH-II and Lom-AKH-I is present in the corpora cardiaca and the pars intercerebralis. This molecule might be similar to DCC-II, a AKH-like peptide isolated from different horsefly species.

**CYTOLOGIE COMPARÉE DE L'ÉPITHÉLIUM BRANCHIAL  
DE TROIS CRABES (*Cancer pagurus*, *Carcinus maenas* et *Eriocheir sinensis*)  
EN RELATION AVEC LEUR APTITUDE IONORÉGLATRICE**

par

PHILIPPE COMPÈRE

Laboratoire de Morphologie animale,  
Université de Liège,  
Quai Van Beneden 22, 4020 Liège

*Cancer pagurus* est un crabe sténohalin exclusivement marin et non osmorégulateur. Son épithélium branchial est uniformément mince (2 µm), de type pavimenteux simple et à fonction uniquement respiratoire.

*Carcinus maenas* compte parmi les quelques espèces de décapodes marins modérément euryhalins. Habitant la zone des marées et les eaux saumâtres de salinité variable, il est capable d'hyperréguler son hémolymphe en eau de mer diluée jusqu'à 70 %. Ne pouvant survivre dans des milieux dont la salinité est inférieure à 25 % de celle de l'eau de mer, ses capacités osmorégulatrices paraissent donc limitées. Il est généralement considéré comme un représentant typique des osmorégulateurs faibles. Son épithélium branchial présente deux aspects distincts.

Les 6 paires de branchies antérieures sont limitées par un épithélium mince semblable à celui de *C. pagurus*. Par contre, les trois paires de branchies postérieures présentent des petites zones spécialisées, couvertes d'un épithélium plus épais (10  $\mu$ m), de type prismatique et dont l'étendue ne dépasse jamais 30 % de la surface totale des lamelles. Les caractéristiques ultrastructurales de cet épithélium rappellent fortement celles des épithelia transporteurs d'ions : nombreux replis membranaires baso-latéraux et cytoplasme riche en mitochondries. En milieu dilué (eau de mer 30 %), il subit des modifications ultrastructurales qui suggèrent la participation de systèmes de transport ionique : apparition de replis membranaires apicaux, allongement des replis basaux dont la membrane s'associe étroitement à celle des mitochondries.

*Eriocheir sinensis* est un crabe migrateur dont le cycle de vie se divise en une phase de croissance en eau douce et une phase de reproduction en eau de mer ou en eau saumâtre. Parfaitement euryhalin, il est classé dans la catégorie des osmorégulateurs puissants. Ses 5 paires de branchies antérieures sont identiques à celles de *C. pagurus* et de *C. maenas*. Par contre, l'épithélium prismatique transporteur des branchies postérieures apparaît bien plus développé que celui de *C. maenas*, à la fois par son étendue, jusqu'à 70 % de la surface des lamelles, et par son ultrastructure. En eau douce, les replis membranaires apicaux sont plus abondants et plus longs que chez *C. maenas* ; la face interne des membranes porte de petites structures ampouli-formes connues sous le nom de « portosomes ». Elles seraient impliquées dans le transport ionique au niveau apical.

En conclusion, le développement graduel d'un épithélium transporteur d'ions au niveau des branchies postérieures illustre bien les différentes performances osmorégulatrices de ces trois crabes. Ce développement semble s'exprimer aussi bien au niveau de la spécialisation des cellules épithéliales que de l'étendue de l'assise qu'elles constituent.

## LECTIN HISTOCHEMISTRY OF GLUCOCONJUGATES IN SECRETORY CELLS OF FISH EPIDERMIS

by

A. DANGUY

Laboratoire de Biologie animale et Histologie comparée, CP 160  
Faculté des Sciences, Université Libre de Bruxelles,  
1050 Bruxelles (Belgique)

A lectin histochemical study was performed on paraffin embedded sections of the skin from ostariophysans to gain insight into the carbohydrate residues and oligosaccharide sequences of mucous and club cells. Thirteen biotinylated lectins (Con-A, PSA, LCA, UEA-I, DBA, SBA, SJA, RCA-I, BSL-I, WGA, *s*-WGA, PhA-E and PHA-L) were used as probes and avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) was used to visualize the binding sites of lectins. These selectively localized the carbohydrate residues in mucous and alarm substance cells (club cells). Oligosaccharides with « identical » biochemically defined sugar compositions can be distinguished. Marked differences between the five examined species were detected. The known saccharide specificities and binding patterns of the lectins employed in the study allowed some conclusions about the nature and the distribution of the sugar residues in the oligosaccharide chains of glycoconjugates in epidermal unicellular glands. The existence of differences, even among the same zoological group, emphasizes the need for careful com-

parisons and the dangers of hasty generalization. An attempt to explain the above variations deserves further work.

Few quantitative data exist which compare the mucous cells of control and acid- or alkaline-stressed fish. Moreover, few studies using lectins have been conducted in fishes exposed to a deleterious environment. Lectin histochemistry allows us to detect precise modifications during the exposure to acid and alkaline environments. Our results demonstrate that the three species studied (*Brachydanio rerio*, *Xiphophorus helleri*, *Kryptopterus bicirrhis*) elicit different patterns of carbohydrate residues synthesis when exposed to pH stress.

In conclusion, lectin histochemistry might prove to be a valuable tool for the assessment of sugar residues in ectothermic vertebrates.

### ÉTUDE MORPHOLOGIQUE COMPARATIVE DE LA PROLIFÉRATION ET DE LA DIFFÉRENCIATION DE KÉRATINOCYTES HUMAINS CULTIVÉS SUR DIVERS SUBSTRATS

par

SUZANNE DEPELCHIN, M. LECLERCQ, A. DEGEN ET R. LEPOUR

Département d'histologie et d'embryologie,

Rue de Bruxelles 61, 5000 Namur

Ce travail est une contribution à l'étude de la prolifération et de la différenciation des kératinocytes humains *in vitro*. Dans ce but, des kératinocytes ont étéensemencés sur des substrats de complexité croissante afin de déterminer celui qui favoriserait le mieux leur développement : des gels de collagène (collagène de type I), des dermes reconstruits artificiellement ou dermes équivalents (collagène de type I + fibroblastes) et des conjonctifs naturels recouverts d'une membrane basale (amnios désépithélialisé).

Il ressort de cette étude que la *prolifération* est la plus rapide sur l'amnios et que c'est sur les dermes équivalents et les gels que la *stratification* est la plus conforme à celle observée *in vivo*. Par contre, c'est uniquement sur gels que les *relations intercellulaires* sont les plus développées. Quant à la *maturation kératosique*, elle démarre le plus vite sur les amnios mais c'est sur les dermes équivalents que son évolution est la plus conforme à celle observée *in situ*, c'est-à-dire progressive et en relation avec la stratification. Dans les amnios, les phénomènes de dyskératose sont beaucoup plus fréquents que sur les autres supports. Quel que soit le substrat utilisé, la maturation kératosique est en général incomplète : il n'y a jamais formation d'une véritable couche cornée continue.

**LES GLANDES EXOCRINES DES GENITALIA DES FEMELLES  
DE LA COCCINELLE *Adalia bipunctata* (L.) (Col., Coccinellidae)**

par

J. L. HEMPTINNE

Université Libre de Bruxelles,  
Département de Biologie animale,  
avenue Roosevelt 50, 1050 Bruxelles

Les genitalia des femelles d'*Adalia bipunctata* sont constitués de deux coxites et de deux pleurites dérivant du neuvième segment abdominal ainsi que d'un élément provenant du dixième tergite.

Cette communication décrit la morphologie des coxites qui sont situés de part et d'autre du vagin. Ils se caractérisent par une partie postérieure plane, peu épaisse, approximativement ovale qui se prolonge vers l'avant et vers le haut par une structure ressemblant à une gouttière dont la concavité est orientée vers le vagin. Une membrane chitineuse prolonge les lèvres de la gouttière de façon à entourer son côté convexe. Cette structure détermine le sac coxal qui est muni d'une ouverture au niveau de la partie plane du coxite. La face convexe de la gouttière est tapissée par un épithélium glandulaire dont chaque cellule est organisée autour d'un réservoir extracellulaire oblong, contenant une pelote de filaments enchevêtrés. Ceux-ci convergent vers un disque criblé, zone poreuse peu épaisse que traverse la sécrétion cellulaire pour gagner le sac coxal.

Les cellules glandulaires possèdent un réticulum endoplasmique lisse très développé. L'importance de cette organelle ainsi que la réaction positive de la sécrétion cellulaire au Noir Soudan indiquent que les cellules exocrines des coxites produisent, soit un hydrocarbure, soit une substance lipidique.

L'activité des cellules coxales est synchronisée avec la maturation des ovaires, c'est-à-dire que l'excrétion débute quand les premiers oocytes effectuent leur vitellogénèse et qu'elle se prolonge durant toute la période d'activité ovarienne. Sur base d'informations écologiques et de quelques expériences portant sur le comportement sexuel d'*A. bipunctata*, je propose que les glandes coxales produisent, soit une substance défensive protégeant les œufs contre les prédateurs, soit une phéromone sexuelle.

**LES CORPS BRUNS COELOMIQUES CHEZ *Holothuria tubulosa* :  
MORPHOLOGIE ÉVOLUTIVE DES CORPS BRUNS  
INDUITS EXPÉRIMENTALEMENT**

par

DIDIER JANS et MICHEL JANGOUX

Laboratoire de Biologie marine (CP 160),

Université Libre de Bruxelles,

50 av. F. D. Roosevelt, B-050 Bruxelles (Belgique)

Le coelome des holothuries abrite fréquemment des masses ovoïdes, connues sous le nom de corps bruns (CB). Les CB peuvent atteindre plusieurs mm de diamètre ; ils sont constitués par l'agrégation de coelomocytes associés ou non à des formations parasitaires et/ou des particules indésirables d'origine exogène.

Par injections intracoelomiques de suspensions de carmin (particules de forme tétraédrique caractéristique), nous avons induit chez *H. tubulosa* la formation de CB artificiels et suivi cinétiquement (O-168h) leur évolution en microscopie électronique à transmission (MET). Peu après l'injection (~ 90 min) des amas coelomocytaires rouges (CB induits) s'observent dans le coelome. Ces CB se composent de trois sous-unités structurales qui sont : des amibocytes chargés de particules de carmin (phagocytes), de larges plages de carmin entourées chacune par plusieurs amibocytes (encapsulation), et des sphérulocytes. Chacune des entités précitées évoluera séparément au cours du temps, entraînant *ipso facto* une évolution de l'aspect du CB.

De lâches, les CB deviennent de plus en plus compacts pour acquérir leur densité maximale après 3 jours. Cette densification résulte à la fois de l'intensification de l'enchevêtrement des pseudopodes amibocytaires et de l'apparition d'un liant extracellulaire.

Les divers phagosomes d'un même amibocyte vont progressivement fusionner en un ou deux phagosomes de grande taille. Au sein de ce dernier les particules de carmin sont compactées puis désagrégées en un matériel homogène et finement granuleux. Ce matériel est ensuite rassemblé en petits nodules entourés chacun d'une paroi peu dense aux électrons. Ces nodules se transforment enfin (entre le 3<sup>e</sup> et le 7<sup>e</sup> jour) en corps résiduels.

Les plages de carmin encapsulées évoluent comme les amas de carmin des grands phagosomes pour former (après 5 à 7 jours) des corps résiduels semblables aux précédents, mais de situation extracellulaire.

Les sphérulocytes libèrent leur contenu au sein des CB. Certains d'entre eux seraient à l'origine du liant extracellulaire ; d'autres pourraient intervenir dans la dégradation des éléments retenus dans les capsules (formations parasitaires, particules exogènes).

Après 7 jours, les CB induits ont achevé leur évolution et sont en tous points semblables aux CB naturels présents dans le coelome des *H. tubulosa* témoins. Ces observations indiquent que les CB des holothuries sont des sites actifs de dégradation des éléments indésirables présents dans le coelome.



**CHONDROID BONE IN CICHLID FISH : ACTUAL STATE OF KNOWLEDGE**

by

A. HUYSSSEUNE

Laboratorium voor Morfologie en Systematiek der Dieren  
Ledeganckstraat 35, 9000 Gent

Chondroid bone (CB) is a particular kind of mineralized skeletal tissue which supports articular facets in the head of cichlid fish.

CB on the upper pharyngeal jaw/neurocranial joint develops when osteoblasts which first deposit acellular bone lamellae become entrapped. Mature chondroid bone consists of large haphazardly dispersed chondrocyte-like cells embedded in a mineralized matrix. The latter histochemically resembles bone matrix and lacks demonstrable cartilage-specific type II collagen. Recent transmission electron microscopical observations confirm the assumed formation of CB by osteoblasts at its distal border and its breakdown by true multinuclear osteoclasts at its proximal border. The ultrastructural observations also confirm at the same time the chondrocytic phenotype of the CB cells and the bone-like nature of the matrix.

Entrapping of cells as in CB instead of their withdrawing as in normal acellular bone is seen as a mechanism to achieve a faster growth rate. There is no explanation yet as to how and why entrapped cells acquire the chondrocytic phenotype.

**ÉTUDE COMPARATIVE DE LA CROISSANCE OVOCYTAIRE  
CHEZ LES POISSONS À OVOGÉNÈSE SYNCHRONE ET ASYNCHRONE**

par

P. KESTEMONT

Unité d'Ecologie des Eaux Douces,  
Facultés Universitaires N.D. de la Paix,  
61, rue de Bruxelles, B-5000 Namur (Belgique)  
7000 Mons (Belgique)

Chez les Poissons, trois modèles de base du développement de l'ovaire ont été déterminés en se basant sur une approche cytologique et dynamique de l'ovogenèse : les ovaires synchrones, groupe-synchrones et asynchrones.

Dans le premier groupe se trouvent les poissons à ponte unique, comme les salmonidés, les percidés et certains cyprinidés tels que le hotu *Chondrostoma nasus*, le gardon *Rutilus rutilus* ou la vandoise *Leuciscus leuciscus*. Chez ces poissons, on ne trouve dans l'ovaire que des ovocytes protoplasmiques en début de recrudescence gonadale. De ces ovocytes va se détacher une seule cohorte de cellules qui entameront une phase de croissance trophoplasmique pour atteindre le stade vitellogénique en période de reproduction. Sur un plan quantitatif, on ne retrouve également que deux modes dans l'histogramme de répartition des tailles d'ovocytes.

Le second groupe, c-à-d les poissons à ovogenèse groupe-synchrone, se caractérise par la présence simultanée d'au moins deux populations d'ovocytes bien distinctes. C'est le cas du barbeau *Barbus barbus* dont l'histogramme de répartition des tailles d'ovocytes présente trois

modes caractéristiques. Une classe omniprésente constituée par les ovocytes de petite taille, une classe d'ovocytes en croissance trophoplasmique avancée mais qui ne participeront pas à la ponte de l'année, et enfin une classe d'ovocytes mûrs qui seront pondus très prochainement.

Enfin, le troisième groupe comprenant les poissons à ovogenèse asynchrone se caractérise extérieurement par la multiplicité des pontes au cours d'une même saison de reproduction et pour une même femelle. Tous les stades ovocytaires sont présents sans prédominance d'une classe particulière. Chez le goujon *Gobio gobio*, la classe d'ovocytes de réserve constituée par les ovocytes protoplasmiques est toutefois très abondamment représentée alors qu'on observe un étalement de la fréquence des autres classes. Cette prédominance marquée des ovocytes protoplasmiques est associée à une absence aussi marquée d'ovogonies, laissant supposer que le stock d'ovocytes de réserve est constitué très tôt et semble suffire pour plusieurs années sans qu'il y ait transformation continue des ovogonies en ovocytes.

L'appartenance à l'un ou l'autre groupe n'est cependant pas définitive et une espèce placée dans des conditions particulières (température, photopériode, abondance de nourriture) peut adopter une stratégie de reproduction différente, avec recrutement continu d'une classe d'ovocytes vers la suivante et présence de pontes répétées.

**MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL FEATURES  
OF THE DIGESTIVE GLAND CELLS  
OF THE CRAB *Carcinus maenas* (CRUSTACEA, DECAPODA) \***

by

SUZANNE LORET

Unité d'Endocrinologie et Hématologie Comparées — Département de Biologie  
Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix,  
Rue de Bruxelles 61, 5000 Namur (Belgique)

In order to elucidate the mechanisms involved in the control of the capacity of glucose storage for the Decapod digestive gland (hepatopancreas), we developed a method providing viable cell suspensions from this organ. The separation of their different cell types was performed on a 45 % preformed Percoll gradient. Beside the four types described by Jacobs (*i.e.* E, R, F and B cells (1)), we observed another having a multivesicular appearance. These cells which probably form a subpopulation of R cells enriched in calcium phosphate spherules, were called R\*. They are found abundantly in the pyloric stomach when the glycogen content of the digestive gland is high (January). This observation led us to attribute to them either the function of a glucose source for the hemolymph through the midgut epithelium during non-feeding periods (winter) or an excretory role because of the calcium phosphate spherules that accumulate during intermolt period (also in winter).

The fact that the number of R\* cells in the gastric juice seemed seasonally related to the glycogen level of the gland, suggested a seasonal control of the cell differentiation in this

\* These results were partly presented at the « Journées du GABIM », Bordeaux (Oct. 88) and Nantes (Nov. 89).

(1) JACOBS W. (1928), *Z. Zellforsch.*, **8** : 1-62.

tissue. This hypothesis was verified by comparing the cell proportions of two batches of digestive glands characterized by significantly different levels of glycogen. For this purpose, the proportion of each cell fraction obtained from the Percoll gradient was estimated by determining its protein content, coupled to biochemical markers, which were glycogen for R cells, glycogen an Pi for R\* cells and  $\alpha$ -Amylase for B cells. Results seem to confirm that the seasonal fluctuations of the glycogen level in the digestive gland could result from a seasonal fluctuation in the amount of the cells involved in the storage of glycogen (R\* cells).

## TWO TYPES OF ENDOCRINE CELLS IN THE MIDGUT OF THE HONEYBEE

by

HILDE RAES

\* Laboratory of Zoophysiology,  
State University of Gent,  
B-9000 Gent (Belgium)

Gut endocrine cells are widely distributed through the animal kingdom. Somatostatin reactive cells were localized in midgut tissue of the honeybee.

We found small endocrine-like cells dispersed between the columnar cells of all but the anterior fourth of the midgut. Like the columnar cells, they originate from the regenerative crypts. We were able to discern two different gut endocrine cell types : they are characterized by the presence of secretory granules, respectively vesicles, which are usually concentrated in the basal region of the cytoplasm.

Apart from the different morphology of their secretory product, which may correspond to a different type of peptide hormone, the ultrastructure and general appearance of the two cells is very similar. Both are relatively electrondense with a broad cell base and a tapered apex which opens into the lumen and is covered by a few relatively short microvilli.

In contrast to the columnar cells, the endocrine cells have no basal labyrinth ; the close contact between the secretion vesicles and the basal cell membranè suggests secretion towards the haemolymph by exocytosis.

In this poster a short description of the ultrastructure of both cell types is presented.

**SUBCELLULAR EFFECTS OF MERCURY  
ON THE COLUMNAR CELLS OF THE HONEYBEE VENTRICULUM**

by

HILDE RAES\* and WALTER DE COSTER\*\*

\* Laboratory of Zoophysiology

\*\* Center for Image Analysis,  
State University of Gent,

K. L. Ledeganckstraat 35, B-9000 Gent (Belgium)

The increasing problem of environmental contamination with heavy metals has stimulated the search for suitable invertebrate biomonitors. For the system to work, the effects and the methods of detoxication and storage of each contaminant must be well known.

In invertebrates, toxic metals are either linked reversibly to specific proteins and further disposed of by the lysosomal system, or are combined irreversibly with an organic matrix by a process of biomineralisation.

By means of energy dispersive X-ray analysis, mercury could not be detected in the mineralised granules of honeybees after chronical peroral administration of  $\text{HgCl}_2$ .

In bees which were deprived of a protein source, this metal caused serious cellular damage in the midgut epithelium which was apparently unable to fulfil its barrier function.

In contrast to this, during the period of pollen nutrition, no cellular damage could be found. At the subcellular level, the columnar cells showed a picture which was highly suggestive of an increased protein production in the R.E.R. and the involvement of the lysosomal system in the disposal of the protein bound metal. Also striking was the apparent inhibition of spherocrystal formation.

**OXIDATIVE STRESS AND BLEBBING PHENOMENA  
IN RELATION TO THE CYTOSKELETON**

by

F. SANDERSON, R. THIBAUT-VERCRUYSSSEN and M. F. RONVEAUX-DUPAL

Facultés Universitaires N.D. de la Paix, Unité de Cytologie,  
B-5000 Namur (Belgium)

It is known from previous studies that binding and internalization of LDL and of LDL-gold complexes are in endothelial cells submitted to an oxidative stress (1). Morphological changes accompany these biochemical modifications : blebbing of the cellular contour is the most frequently observed phenomenon. We performed the present study in order to check the integrity of the cytoskeleton in these injured cells. We used cultured human umbilical vein EC at confluence after the first passage. Following incubation (from 0 to 120 min) in a reactive oxygen species producing system (xanthine-xanthine oxidase), the cells were examined by

(1) POUMAY Y. and RONVEAUX-DUPAL M. F. (1988), *J. Cell. Physiol.*, **16**, 289-296.

phase microscopy, immunofluorescence staining and scanning and transmission electron microscopy.

Phase contrast microscopy revealed a progressive and reversible retraction of the cells concomitant with their rounding off and with the exhibition of many blebs at the cellular contour.

Immunofluorescence staining allowed us to visualise F-actine microfilaments (MF) using NBD-phalloidin while anti- $\alpha$ tubulin and anti-vimentin antibodies revealed microtubules (MT) and intermediate filaments (IF) respectively.

In EC incubated 60 min. in a xanthine-xanthine oxidase medium, we noted a severe decrease in the number of stress fibers and a progressive disappearance of the cortical network. After a 120 min. incubation actin appeared scattered in the rounded, injured cells. The fluorescence was particularly intense in the perinuclear region and under the internal border of numerous blebs.

The microtubules network seemed markedly depolymerised in the blebbed cells. Only a few microtubules radiated from the centrosomes while the fluorescence appeared intense in the perinuclear region and in the whole bleb.

The intermediate filaments network did not seem modified in the injured cells. Most of them displayed a loosely bundled arrangement of these filaments. Vimentin was apparently absent from the blebs.

Electron microscopy confirmed the rounding off, the retraction and the blebbing of the cells submitted to this oxidative treatment.

By using Scanning Electron Microscopy, the ampleness of the blebbing becomes particularly evident : numerous blebs, variable in size and able to fuse were clearly seen.

The electron microscopic observations allowed us to advance a possible mechanism for bleb formation : it could be produced by a kind of strangulation due to rope-like microfilaments which aggregated at the basis of the blebs. Moreover, tubular or vesicular structures (V) could eventually induce the bleb detachment from the cell. Elsewhere, the microfilament network has nearly disappeared. Some blebs displayed few microfilaments, lining the internal face of their plasmamembrane. Microtubules and intermediate filaments seemed to be absent from the blebs.

In summary, both photonic and electron microscopic approaches confirm the rounding off, the retraction and the blebbing of injured cells. Immunofluorescence and ultrastructural analysis indicate an alteration of MF as associated with the blebbing phenomenon.

However, divergences persist between results concerning the microtubules and others concerning the intermediate filaments networks.

**NEUROPEPTIDES AND NEUROTRANSMITTERS  
IN THE X-ORGAN SINUS GLAND COMPLEX,  
AN IMPORTANT NEUROENDOCRINE INTEGRATION CENTER  
IN THE EYESTALK OF CRUSTACEA**

by

FRANÇOIS VAN HERP

Zoological Laboratory, Faculty of Sciences,  
Catholic University of Nijmegen,  
Toernooiveld, NL-6525 ED Nijmegen (The Netherlands)

The neuroendocrine system of Crustacea is complex and elements of it are found throughout the central nervous system. Neurons with a putative neuroendocrine function occur in all ganglia, but three regions show remarkable clustering of them. These are the optic ganglia which contain the x-organ sinus gland complex, the pericardial organ and the post-commissural organs. Until now, the x-organ sinus gland complex has received most attention. It represents the most important source of neuroendocrine products which are involved in the regulation of a variety of biological processes such as moulting, reproduction, pigment migration and carbohydrate metabolism. Immunocytochemical application of several antisera against biologically active peptides of vertebrates and invertebrates resulted in the detection of a more extensive peptidergic system than formerly recognized. The distribution of this peptidergic material reflects the versatility of the eyestalk complex for neuromodulatory as well as neurohormonal functions. This view is also supported by the occurrence of serotonergic and dopaminergic cells in the same regions, illustrating their neurotransmitter functions. The organization of both systems postulates their importance for the regulation of synthesis, transport, storage and release of typical crustacean neuropeptides such as MIH, GIH, RPCH and CHH synthesized in the x-organ of the last optic ganglion and recently localized by immunocytochemistry.

The aforementioned relationship is demonstrated by studying the functional aspects of the hyperglycemic hormone-producing system in the eyestalk complex. The Crustacean Hyperglycemic Hormone (CHH) can be visualized in a group of neuroendocrine cells of the last optic ganglion, in fibers forming part of a tractus to the neurohemal region and in a considerable part of the axon terminals composing the sinus gland. Studies on the secretory dynamics of the CHH-system revealed a daily rhythmicity in the synthetic activity of the perikarya, in the transport of CHH-material and in the release of CHH into the hemolymph resulting in a 24-hours rhythm of the blood glucose level and the locomotory activity of the animal. Recent investigations indicate that the endogenous clock modulating this rhythmicity is located within the optic lobes. Informations about the external light/dark schedule have to be transmitted to the CHH-cell system. Detailed cytological and physiological experiments dealing with the neuronal input on this system indicate that serotonin and, at a lower scale, also dopamine stimulate the CHH-cell system and that met-enkephalin inhibits the dynamics of the system. As methods such as pulse chase labeling of neuropeptide precursors and molecular biological methods using DNA and mRNA probes, are recently introduced in the study of crustacean neuroendocrinology, their results will contribute to elucidate the complexity of the neuroendocrine integration activities in the x-organ sinus gland complex.

**SOURCE ÉNERGÉTIQUE POUR LE TRANSPORT D'IONS  
DANS LES BRANCHIES DU CRABE EURYHALIN *Eriocheir sinensis*  
ADAPTÉ À UNE FAIBLE SALINITÉ**

par

L. WELCOMME et P. DEVOS  
F.U.N.D.P., Dépt. Biologie animale,  
B-5000 Namur (Belgique)

Les branchies postérieures (ayant un épithélium transporteur d'ions) et antérieures (ayant un épithélium respiratoire) du crabe *Eriocheir sinensis* adapté à l'eau douce contiennent respectivement  $3,0 \pm 1,1$  % et  $5,0 \pm 0,9$  % de glycogène ( $n = 12$ ).

La majorité de ce glycogène ne se trouve pas dans les cellules épithéliales mais sous forme de particules alpha, dans des cellules formant une travée transépithéliale.

Les branchies de ces crabes ont été perfusées dans un milieu hypotonique avec un Ringer de 550 mosmoles.

Dans ces branchies, après perfusion avec de l'[U-<sup>14</sup>C] glucose, on a estimé une vitesse maximale d'entrée de ce glucose dans les cellules plus importante dans les branchies postérieures :  $0,04$  nmoles/s/mg de protéines que dans les branchies antérieures :  $0,03$  nmoles/s/mg de protéines. Le pourcentage de radioactivité retrouvé dans le glycogène par rapport à celui retrouvé dans l'ensemble du tissu est sensiblement le même pour les branchies antérieures et postérieures :  $8 \pm 2$  % ( $n = 12$ ).

Si on perfuse ces branchies avec un Ringer dépourvu de glucose, on observe que les branchies postérieures et antérieures consomment respectivement  $11,3 \pm 4,0$  et  $3,1 \pm 1,5$  µg de glycogène par minute par g de tissu ( $n = 20$ ).

Si les branchies de ces crabes sont incubées en milieu plus concentré (eau de mer) avec un Ringer de 1100 mosmoles (conditions dans lesquelles il a déjà été montré que les pompes ioniques voient leur activité diminuer) les branchies postérieures réduisent de moitié la consommation de glycogène tandis qu'aucune variation ne s'observe dans les branchies antérieures.

Ces observations sont compréhensibles du fait que l'activité de transport ionique est plus élevée dans les branchies postérieures que dans les antérieures ; les branchies postérieures consomment de ce fait plus d'énergie que les branchies antérieures.

L'isolement par élutriation de fractions enrichies en cellules de la travée (contenant la majorité du glycogène branchial) est en cours et servira à rechercher les différents stimuli (hormonaux,...) susceptibles de modifier la synthèse et la dégradation du glycogène.