

Paris, 9. VI. 69.

BR RJCOG DL DP DR 01 06 F1

ACTIVITÉS ENZYMATIQUES TRACEUSES
DANS « L'APPAREIL CÉMENTAIRE »
DES *BALANIDAE* (CRUSTACEA, CIRRIPIEDIA)

PAR

M^{lle} Lucie ARVY et M^{me} Dyrce LACOMBE

Extrait des *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*,
séance du 14 octobre 1968.

HISTOCHIMIE. — *Activités enzymatiques traceuses dans « l'appareil cémentaire » des Balanidae (Crustacea, Cirripedia). Note (*) de M^{lle} Lucie Arvy et M^{me} Dyrce Lacombe, présentée par M. Pierre-P. Grassé.*

Chez *Balanus nubilus* Darwin, *B. balanoides* (L.) et *B. eburneus* Gould, « l'appareil cémentaire » peut être électivement révélé grâce à ses activités enzymatiques histochimiquement décelables : le système canaliculaire et son contenu sont riches en phosphatase alcaline ; les « glandules cémentaires » jeunes ont une activité phosphatasique alcaline cytoplasmique et sont très riches en succino-deshydrogénase.

Malgré d'assez nombreuses recherches « l'appareil cémentaire » des Cirripèdes reste énigmatique. Dans quelques travaux anatomiques, depuis Darwin (1) jusqu'à Gruvel (2) seul le système canaliculaire est décrit : Krohn (3) qui a découvert les « glandules cémentaires » dans le pédoncule de *Lepas anatifera* et dans le manteau de *Conchoderma aurita* ne mentionne pas de système canaliculaire et Pagenstecher (4) n'a pu retrouver chez *Lepas pectinata* les glandules de Krohn. En 1884 enfin, Hoek (5) a apporté le premier travail d'ensemble sur les « glandes cémentaires » et leurs canaux, chez *Lepas*, *Scalpellum* et *Conchoderma*, il a décrit les grosses cellules rondes ou ovales, pourvues de noyaux énormes, anfractueux, plurinucléoles, leurs canaliculaires hilaires, qui débouchent aux canalicules des glandules voisines pour former des canaux plus importants. Quelques chercheurs [Koehler (6), Nussbaum (7), Carriker (8), Stewart (9), Broch (10), Krieger (11), Johnstone et Frost (12)] jusqu'à LACOMBE (13) ont, depuis retrouvé les glandules cémentaires de Krohn, plus ou moins grandes, ou espacées, situées dans le manteau, ou intriquées dans les follicules ovariens ; leurs tailles sont extrêmement variables suivant les genres : visibles à l'œil nu chez l'Anatife (280 à 370 µ), elles sont relativement petites chez *Conchoderma virgatum* (150 µ) et chez *Scalpellum vulgare* (120 µ) et petites chez *Pollicipes* (45 µ) ou chez *Lepas pectinata* (35 µ) [Koehler (6)]; la disparité de leur situation et de leur taille, suivant les genres, leurs variations avec l'âge de l'animal, leur remaniement imposé par les mues, leurs déplacements provoqués par les follicules ovariens, suivant que l'ovaire est en phase d'ovogenèse ou de vitellogenèse prévalente, rendent leur étude comparée ardue. Néanmoins ces glandules présentent un grand intérêt : en effet, seuls Johnstone et Frost (12) ont décrit comme « cémentaires » chez *Anelasma squalicola* (Loven) des glandes et des canaux qu'ils figurent sous le nom de glandes vitellines et de canaux vitellins, bien que d'une part, ils n'aient pu établir de connexion entre eux et les ovaires et que, d'autre part, ils aient pu suivre leurs canaux excréteurs jusqu'à l'extrémité du pédoncule ; tous les autres chercheurs admettent que ces glandes élaborent un ciment qui fixe le cirripède à son support.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — Nous avons pu disposer de quelques *Balanus nubilus* originaires de Californie et de Vancouver, ainsi que de très nombreux *Balanus eburneus* et *B. balanoides* que nous recueillons suivant nos besoins, à marée basse, sur les jetées proches du laboratoire Osborn (Coney Island, U. S. A.). Les animaux

(2)

extraits de leur carapace étaient fixés pendant quelques heures par le formol à 10 % neutre, l'alcool à 95°, ou l'acétone pure, à 4 °C environ ; après inclusion à la paraffine ils étaient coupés à 10-12 μ et exposés aux substrats classiques pour la mise en évidence des phosphatases alcalines (β -glycérophosphate et naphtylphosphate de sodium). L'activité succinodéshydrogénasique était révélée sur des dissociations du complexe ovaire-manteau plongées dans un bain au succinate de sodium-nitro BT (eau tampon de Sorensen) (1 M de pH 7.6) pendant 1 h ; les dissociations étaient alors fixées par le formol, incluses à la paraffine et coupées à 8-10 μ .

RÉSULTATS. — Les glandules encore jeunes, groupées en bouquet, ont une activité glycérophosphatasique alcaline ; cette dernière disparaît quand les glandules grossissent et s'écartent les unes des autres ; quand elles ont atteint leur taille maximale seul le hile cellulaire, point de départ du canalicule excréteur du ciment, est révélé par l'activité enzymatique (fig. 1). tout le système canaliculaire et son contenu sont riches en phosphatase alcaline (fig. 2 et 3) ; ce même système est dépourvu de succinodéshydrogénase histochimiquement décelable, mais les glandules en sont riches (fig. 4 à 7) ; lorsqu'elles sont encore jeunes elles forment un formazan bleu foncé et au terme de leur évolution elles ne forment plus qu'un formazan rose plus ou moins lilacé.

DISCUSSION. — L'existence d'une forte activité phosphatasique alcaline dans le système canaliculaire de l'appareil cimentaire des *Balanidae* permet d'évoquer des aptitudes excrétoires. Il convient de remarquer, à cet égard, que l'importance des canalicules est peu en rapport avec la sécrétion exclusive d'un liquide agglutinant dont le cirripède une fois fixé n'a plus grand besoin, comme l'a souligné Koehler (*). Un rôle excréteur paraît d'autant plus vraisemblable qu'il a déjà été envisagé par Gruvel (**) : quand ce chercheur injectait dans le pédoncule de *Lepas anatifera* une solution de sépia, il voyait apparaître des granules du colorant dans le ciment. Un autre argument en faveur de cette conception est la très petite taille du rein ; même chez les espèces de grande taille, telle que *B. nubilis*.

La forte activité succinodéshydrogénasique des cellules glandulaires « cémentaires » groupées en bouquet témoigne de leur grande vitalité ; elles s'allongent, se pédiculisent, grossissent et s'écartent pendant que diminue leur activité succinodéshydrogénasique ; les très grosses cellules ne forment plus de formazan bleu foncé,

EXPLICATION DE LA PLANCHE

Coupes du manteau et de l'ovaire chez *Balanus nubilis* Darwin

Fig. 1. Aspect de l'appareil cimentaire après mise en évidence de la glycérophosphatase alcaline. — Fig. 2 et 3. Seul le système canaliculaire est riche en naphtylphosphatase alcaline. — Fig. 4, 5, 6, 7. L'interrelation des jeunes glandules cémentaires, entre les follicules ovariens, les fibres musculaires, les inclusions calciques du tissu conjonctif est excellemment révélée grâce à leur richesse en succinodéshydrogénase.

au contact de nitro-BT, mais un formazan d'un rose, plus ou moins lilacé. Il est vraisemblable que les deux produits qui résultent de la réduction du nitro-BT par les glandules cémentaires des *Balanidae* ne représentent pas deux stades successifs de la réduction d'un seul composé et que les formazans bleu et rose apparus sont dus à deux tétrazoles contenus dans ce réactif. L'obtention de deux teintes après mise en œuvre du nitro-BT, sel de tétrazolium considéré comme très pur [Nachlas⁽¹⁵⁾, Burner et coll.⁽¹⁶⁾] est exceptionnelle; elle a été récemment observée par Kakari⁽¹⁷⁾ dans le myocarde du Cobaye.

- (*) Séance du 30 septembre 1968.
- (1) CH. DARWIN, « Means of attachment », p. 33-38, in : *A monograph on the sub-class Cirripedia with figures of all species*, Ray Soc., Londres, 1851, 400 pages, 10 planches h.-t.
- (2) A. GRUNEL, *Etudes anatomiques sur quelques Cirrhipèdes operculés du Chili*, Zool. Jahrb., suppl. 7, 3 (2), 1904, p. 318-338.
- (3) A. KROHN, « Cementapparat », in : *Arch. für Naturgesch.*, 25, 1859, p. 355-358.
- (4) A. PAUGENSLECHER, *Zeit. wiss. Zool.*, 13, 1863, p. 86-106.
- (5) P. P. C. HOEK, « Die Cement-Drüsen » p. 90, in : *Tidschr. Nederl. Diegh. Ver.*, 6, 1882, p. 64-112.
- (6) R. KOHLER, « L'appareil cémentaire », p. 370-385, in : *Arch. de Biol.*, 9, 1889, p. 311-402, 72 figures.
- (7) M. NUSSBAUM, « Die Kittdrüsen », p. 47-50, in : *Anatomisches Studien an kalifornischen Cirripeden*, Max Cohen, Bonn, 1890.
- (8) A. GRUNEL, « Glandes cémentaires », p. 127-133, in : *Nouvelles Archives Mus. Hist. nat.*, 4^e série, 6, 1904, p. 51-224.
- (9) F. H. STEWART, « The cement glands and ducts » p. 41-42, in : *Memories Indian Museum*, 3, 1910, p. 3.
- (10) E. BOEHLI, « Cementary glands », p. 11-13, in : *Kgl. Norske Vidensk. Selsk. Skrift.*, 1921, p. 1-28, 5 planches h.-t.
- (11) E. BOEHLI, *Diagn. Zool.*, 97, 1923, p. 839-872.
- (12) E. JOHNSONE et W. L. FROSE, « The so-called cementary glands » p. 69, in : *Lancashire Sea Fish Lab. Rep.*, n° 35, 1927, p. 29-91.
- (13) D. LACOMBE, *Notas Inst. Pesquisas Marinha*, 32, 1966, p. 1-39, 12 figures, 6 planches h.-t. : *Publ. Inst. Pesquisas Marinha*, Rio de Janeiro, Brasil, n° 011, 1967, p. 29.
- (14) A. GRUNEL, *Contribution à l'étude des Cirrhipèdes*, Thèse Fac. Sc., Paris, 1894, p. 210 (p. 173-176).
- (15) NACHLAS, *J. Histochem. Cytochem.*, 5, 1957, p. 420.
- (16) H. J. BURNER, R. C. BAHN et J. B. LONGLEY, *J. Histochem. Cytochem.*, 5, 1957, p. 127.
- (17) S. KAKARI, III^e Cong. intern. Histo-Cyto., New York, Springer, 1968, p. 124.

(Laboratoire d'Histo-enzymologie de la Faculté de Médecine de Paris,
45, rue des Saints-Pères, Paris, 6^e ;
Osborn laboratories of marine Sciences, Brooklyn, N. Y., U. S. A.)

PLANCHE I.

M. M. LUCIE ARAY

