

PARASITOLOGIE. — *Etude électrophorétique des protéines solubles du muscle et de l'hémolymphe de Crustacés Décapodes marins parasités par des Microsporidies (Protozoaires)*. Note (*) de M. Christian P. Vivarès, M^{lle} Mireille Ryckaert et M. Hubert J. Ceccaldi, présentée par M. Constantin Vago.

La technique d'électrophorèse en gel de polyacrylamide a permis de noter de sensibles différences entre les électrophorégrammes des hémolymphe de *Carcinus mediterraneus* et de *C. maenas*, ainsi que des variations surtout au niveau des fractions de mobilité moyenne, et d'une fraction lente chez *Processa edulis*, entre les Crustacés sains et ceux parasités par des Microsporidies.

Les relations des Microsporidies avec leurs hôtes Arthropodes ont surtout fait l'objet d'études morphologiques ou toxicologiques ; l'aspect biochimique ayant été très peu abordé, nous avons essayé d'analyser l'influence de la présence de ces Protozoaires parasites sur la composition de l'hémolymphe et les muscles de leurs hôtes Crustacés. C'est pourquoi, nous avons entrepris ce travail préliminaire à l'aide de l'électrophorèse en gel de polyacrylamide. Cette technique n'a été utilisée que récemment pour un problème identique chez un Insecte ⁽¹⁾.

Alors que l'hémolymphe de *Carcinus maenas* a été déjà étudiée par la même technique [⁽²⁾, ⁽³⁾], il nous a fallu entreprendre un travail inédit sur l'espèce méditerranéenne de *Carcinus* afin de pouvoir comparer animaux malades et animaux sains. Un travail du même type a été nécessaire pour les extraits musculaires. En effet, les Huîtres saines ont fait l'objet de nombreuses études [⁽⁴⁾, ⁽⁵⁾, ⁽⁶⁾] sur gel de polyacrylamide, mais les Décapodes n'ont pas donné lieu à de telles recherches, sauf sur acétate de cellulose ⁽⁷⁾.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — Les espèces étudiées sont : le Crabe *Carcinus mediterraneus* Czerniavsky, 1884 en provenance de l'étang du Prévost (près de Montpellier) et la Crevette *Processa edulis edulis* Risso, 1816, pêchée près de Marseille.

Elles étaient parasitées, au niveau musculaire, respectivement par *Thelohania maenadis* Perez, 1904 et *T. ceccaldii* n. sp. ⁽⁸⁾ (Microsporidies), à l'état de sporoblastes ou de spores.

Nous avons utilisé, afin de ne pas être gênés dans nos observations par les protéines spécifiques du sexe femelle [⁽³⁾, ⁽⁹⁾], uniquement des crabes mâles. Ils ont été maintenus en circuit fermé durant une semaine, à 18 °C, nourris avec des moules. Les prélèvements ont été effectués sur des animaux de stade C 4 selon Drach ⁽¹⁰⁾, maintenus à jeun depuis 36 h. Les crevettes ont été placées pendant une semaine dans des bacs alimentés par un courant d'eau de mer continu, nourries avec des moules, à une température de 12 à 14 °C. Les animaux étaient soit du sexe mâle, soit du sexe femelle, hors de la phase de vitellogenèse.

Les prélèvements ont été faits à l'aide de micropipettes de 5 à 10 µl, au niveau d'une articulation de périopode pour les crabes, après incision des segments abdominaux 2, 3, 4, parallèlement à la chaîne nerveuse, pour les crevettes.

Nous avons prélevé des muscles de périopodes que nous avons essorés soigneusement à l'aide de papier filtre et dont nous avons extrait les protéines solubles dans

un broyeur « Potter » avec une solution-tampon Tris-glycine, utilisée lors de la migration électrophorétique. Après avoir centrifugé à 5 000 g, pendant 20 mn, nous avons prélevé 20 µl litres de surnageant par échantillon.

La méthode de « disc-électrophorèse » employée est celle de Ornstein modifiée ⁽¹⁾.

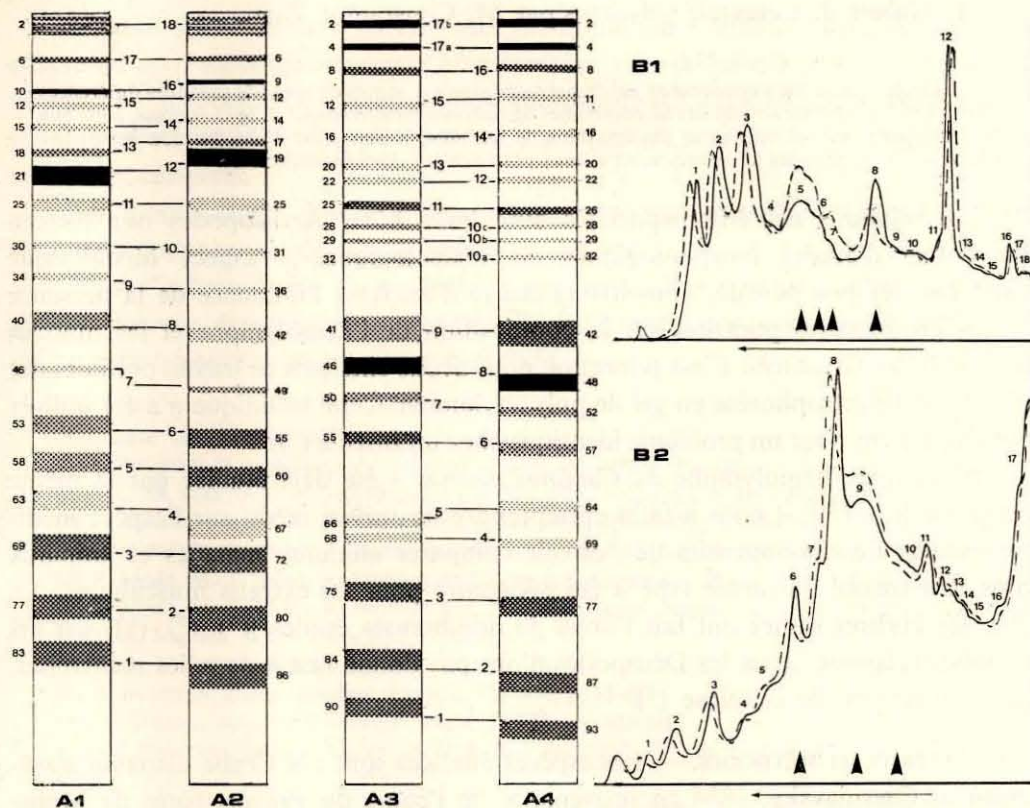


Fig. 1. — *Carcinus mediterraneus* Czerniavsky, 1884. A. Electrophorégrammes schématiques d'hémolymphe (A 1) et d'extraits musculaires (A 3) d'animaux sains, d'hémolymphe (A 2) et d'extraits musculaires (A 4) d'animaux parasités par *T. maenadis* (latéralement, les R_f moyens correspondant à chaque fraction sont indiqués). B. Profils densitométriques des électrophorégrammes précédents d'hémolymphe (B 1) et d'extraits musculaires (B 2) d'animaux sains (trait plein) et d'animaux parasités (trait discontinu). Sous le graphe, la flèche indique le sens de migration de l'électrophorèse.

RÉSULTATS. — En ce qui concerne l'hémolymphe saine de *Carcinus mediterraneus*, on peut distinguer 18 fractions (fig. 1, A 1). Martin et Ceccaldi ⁽²⁾ en notent une douzaine pour *C. maenas* mais ils divisent la 4 et la 9 en trois ce qui ramène le total à 16. Si nous comparons les électrophorégrammes des deux espèces, nous pouvons proposer de faire correspondre les fractions selon le tableau suivant :

TABEAU. — Correspondances entre les fractions protéiques séparées par disc-électrophorèse chez *C. maenas* et *C. mediterraneus*

<i>C. maenas</i> .	1	2	3	4a	4b	4c	5	6	7	8	9a	9b	9c	10	11	12					
<i>C. mediterraneus</i> ..	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18a	18b	18c	18d

Nous voyons que la bande 7 de *Carcinus maenas* se subdivise en trois : 9, 10, 11 pour *C. mediterraneus*, que le triple groupe 9 de la première se subdivise en quatre et qu'enfin les deux bandes lentes 11 et 12 sont remplacées par les 4 bandes 18, a, b, c, d. On note une nette différence au point de vue vitesse de migration (R_f), au niveau des fractions à mobilité rapide. En effet, alors que chez *C. maenas* la bande 2 est située plus près de la 1 que de la 3, chez *C. mediterraneus*, cette bande qui peut se dédoubler, voire se diviser en trois, elle en est moins proche et le plus souvent elle paraît être à mi-chemin entre la 1 et la 3.

La comparaison des hémolymphe d'animaux sains et parasités (fig. A, A 2) fait apparaître des changements au niveau des fractions à mobilité moyenne puisque seules sont affectés d'une part, le groupe des fractions 5, 6, 7 qui augmente notablement sous l'influence du parasitisme tandis que, d'autre part, la fraction 8 diminue fortement ; les autres fractions restent inchangées.

L'électrophorogramme des protéines solubles du muscle sain de *C. mediterraneus* (fig. 1, A 3) montre 17 fractions qui, pour la plupart, ne se superposent pas à celles de l'hémolymphe. Les fractions d'extraits parasités (fig. 1, A 4) ne sont pas identiques ; la 6 est légèrement diminuée ainsi que le groupe des 10 tandis que la 9 subit une forte augmentation.

Enfin, nous avons étudié l'hémolymphe de *Processa edulis edulis* (fig. 2) sur un petit nombre d'animaux. Par rapport à un travail précédent (¹¹), nous pouvons remarquer que le groupe des fractions 6, 7, 8, 9 semblerait diminuer tandis que la fraction 11 paraît augmenter ; quant à la fraction 18 elle croît considérablement.

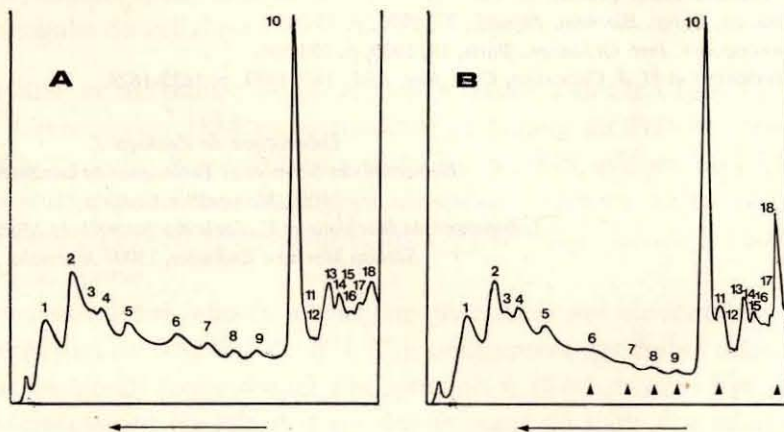


Fig. 2. — *Processa edulis edulis* Risso, 1816. Profils densitométriques des électrophorogrammes d'hémolymphe d'animaux sains (A) et d'animaux parasités par *T. ceccaldii* (B). Sous les graphes, la flèche indique le sens de migration de l'électrophorèse.

CONCLUSIONS. — La technique de « disc-électrophorèse » apporte une nouvelle contribution à la distinction spécifique des espèces atlantique et méditerranéenne du genre *Carcinus*, jusqu'alors basée sur la morphologie.

Dans le domaine pathologique, cette technique montre que, même si la Microsporidie parasite se trouve à l'état de sporoblastes ou de spores dans le muscle, l'hémo-

lymphe est affectée. Cette atteinte porte surtout sur les protéines correspondant aux fractions à mobilité moyenne ; une exception doit être faite chez *Processa* pour une fraction lente qui augmente considérablement. Ceci confirme les résultats obtenus chez *Galleria mellonella* (Lépidoptère) parasitée par la Microsporidie *Nosema plodiae* (1).

Il serait nécessaire de réaliser une manipulation semblable avec des parasites effectuant leur schizogonie dans l'hémolymphe, afin de savoir si les modifications observées sont dues à des sécrétions des Microsporidies, ou à la lyse du tissu musculaire qui peut être détruit à 80 %, voire à la présence antérieure des parasites dans le liquide circulant.

Les modifications des protéines solubles du muscle sont plus sensibles et se situent toujours au niveau des fractions moyennes.

Ainsi l'influence des Microsporidies sur leurs hôtes Crustacés n'est pas négligeable puisque les cuproprotéines de l'hémolymphe sont nettement perturbées même si le parasite se trouve dans le muscle.

(*) Séance du 10 juin 1974.

(1) J. WEISER et O. LYSENKO, *Acta entomol. bohém.*, 69, 1972, p. 97-100.

(2) J.-L. M. MARTIN et H. J. CECCALDI, *C. R. Soc. Biol.*, 163, 1969, p. 2362-2365.

(3) H. J. CECCALDI et J.-L. M. MARTIN, *C. R. Soc. Biol.*, 163, 1969, p. 2638-2641.

(4) P. MORE, M.-T. MORE, J. POISBEAU et R. MONNET, *Bull. Soc. Pharm. Ouest*, 8, 1966, p. 135-142.

(5) P. MORE, M.-T. MORE, R. MONNET et J. POISBEAU, *Comptes rendus*, 273, Série D, 1971, p. 222-225.

(6) P. MORE, M.-T. MORE, R. MONNET et J. POISBEAU, *Comptes rendus*, 273, Série D, 1971, p. 904-906.

(7) T. K. LIM et S. S. LEE, *Mar. Biol.*, 5, 1970, p. 83-88.

(8) C.-P. VIVARES (sous presse).

(9) P. BUSSELEN, *Comp. Biochem. Physiol.*, 37, 1970, p. 73-83.

(10) P. DRACH, *Ann. Inst. Océanogr.*, Paris, 19, 1939, p. 103-391.

(11) M. RYCKAERT et H. J. CECCALDI, *C. R. Soc. Biol.*, 167, 1973, p. 1622-1628.

Laboratoire de Zoologie I,
Université des Sciences et Techniques du Languedoc,
34060 Montpellier Cedex ;
Laboratoire de Biochimie et Ecologie des Invertébrés Marins (EPHE),
Station Marine d'Endoume, 13007 Marseille.