

50376
1972
27

50376
1972
27

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ DES
SCIENCES ET TECHNIQUES
DE LILLE

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE TROISIÈME CYCLE
EN BIOLOGIE ANIMALE

par

André DEFOSSEZ

ETUDE EXPERIMENTALE DU DEVELOPPEMENT
POST-EMBRYONNAIRE DE L'APPAREIL COPULATEUR
MÂLE DES INSECTES ODONATES ANISOPTERES



soutenue le 2 Mars 1972, devant la Commission d'examen

MM. M. DURCHON	Président
F. SCHALLER	Rapporteur
A. BART	Examineur
R. JOLY	Membre invité

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	p. 1
MATERIEL ET TECHNIQUES.....	p. 3
<u>Première partie</u> : Structure et fonctionnement de l'appareil copulateur.....	p. 5
1 - Rappel de la structure de l'appareil génital dans les deux sexes.....	p. 5
2 - L'appareil copulateur.....	p. 6
a. segment abdominal type.....	p. 7
b. le deuxième sternite abdominal du mâle.....	p. 8
c. le troisième sternite abdominal du mâle.....	p. 9
d. musculature, trachées et innervation des deuxième et troisième sternites mâles.....	p. 13
3 - L'accouplement.....	p. 15
4 - Conclusion de la première partie.....	p. 18
<u>Deuxième partie</u> : Différenciation et métamorphose de l'appareil copulateur.....	p. 19
1 - Etude descriptive de la métamorphose de l'appareil copulateur.....	p. 19
Technique.....	p. 19
Résultats.....	p. 20
a. Structure de l'appareil copulateur au début du dernier stade.....	p. 20
b. Développement de l'appareil copulateur au cours du dernier stade.....	p. 20
Conclusion.....	p. 23
2 - Etude expérimentale de la métamorphose de l'appareil copulateur.....	p. 24
a. Effets de l'ablation des glandes de mue.....	p. 24
Technique opératoire.....	p. 25
Résultats.....	p. 25
Discussion.....	p. 26
Conclusion.....	p. 31

b. Effets de l'injection d'un mimétique de	
l'hormone juvénile.....	p. 32
Technique opératoire.....	p. 32
Résultats.....	p. 33
Discussion.....	p. 36
Conclusion.....	p. 39
3 - Conclusion de la deuxième partie.....	p. 42
<u>Troisième partie</u> : Détermination sexuelle de l'appareil	
copulateur.....	p. 44
1 - Organogenèse de l'appareil génital dans les	
deux sexes.....	p. 44
2 - Contrôle de la détermination sexuelle et de la	
différenciation de l'appareil génital.....	p. 47
3 - Etude expérimentale de la détermination sexuelle	
de l'appareil copulateur.....	p. 50
Technique opératoire.....	p. 51
Résultats.....	p. 51
a - Greffes orthotopes de deuxième ou de	
troisième sternite de jeunes larves	
mâles sur des larves femelles plus	
âgées.....	p. 51
b - Echanges orthotopes de deuxième ou	
de troisième sternite entre larves	
de même âge et de sexe différent....	p. 52
c - Greffes intrahémocoeliennes des	
deuxième et troisième sternites	
abdominaux de larves jeunes (stades	
1 à 7) dans des larves hôtes âgées	
d'au moins sept stades.....	p. 54
d - Echanges hétérotopes entre le deu-	
xième ou le troisième sternite abdo-	
minal mâle et le cinquième sternite	
femelle de larves du même âge.....	p. 57

e - Echanges hétérotopes entre le deuxième ou le troisième sternite abdominal mâle et le quatrième tergite femelle de larves du même âge.....	p. 58
f - Excisions d'une partie du deuxième ou du troisième sternite abdominal mâle.....	p. 59
g - Rotations de 90° ou de 180° du deuxième ou du troisième sternite mâle.....	p. 59
Discussion et conclusion.....	p. 60
4 - Conclusion de la troisième partie.....	p. 64
CONCLUSION GENERALE.....	p. 66
RESUME.....	p. 67
BIBLIOGRAPHIE.....	p. 68

I N T R O D U C T I O N

L'appareil copulateur mâle des Odonates, organe unique dans la classe des Insectes, présente un triple intérêt biologique en raison :

- de son emplacement particulier et de sa complexité anatomique qui posent un problème d'utilisation fonctionnelle
- de sa qualité de caractère sexuel secondaire qui conduit à envisager son mode de détermination
- de sa différenciation qui, liée au phénomène de la métamorphose, met en cause les processus de son contrôle hormonal.

La position tout à fait originale de l'appareil copulateur dans la partie antérieure de l'abdomen confère à cet organe une indépendance totale par rapport au reste de l'appareil génital, notamment de l'orifice génital et entraîne le mode d'accouplement très particulier des Odonates. A partir de la structure anatomique de base du sternite abdominal, on assiste à la réalisation d'une unité fonctionnelle très complexe présentant une coaptation étroite, d'une part avec l'orifice génital mâle, d'autre part avec l'oviscapte de la femelle.

L'apparition particulièrement tardive de l'appareil copulateur, à la fin de la vie larvaire, contraste avec celle relativement précoce d'autres caractères sexuels secondaires tels, l'oviscapte de la femelle ou les plaques entourant l'orifice génital du mâle, dont les éléments sont ébauchés presque au début du développement post-embryonnaire. L'appareil copulateur des Odonates semble donc constituer un terrain expérimental favorable en vue de l'étude de la détermination du sexe, problème en général difficilement abordable chez les Insectes en raison de la précocité de la réalisation du sexe.

Enfin, la différenciation de cet organe sexuel essentiellement réalisée au dernier stade larvaire a toutes chances d'être placée sous le même contrôle endocrinien que celui de la métamorphose. La complexité de sa morphogénèse à partir de l'épiderme sternal fait de l'appareil copulateur un organe effecteur tout indiqué pour de nouvelles recherches sur le contrôle hormonal de l'activité de la cellule épidermique au cours du développement post-embryonnaire.

L'étude anatomique de l'appareil copulateur entreprise dans la première partie de ce travail, doit servir de base non seulement, à l'interprétation de son rôle au cours de l'accouplement, mais aussi à l'analyse de son développement. Après l'étude descriptive de sa morphogénèse au cours de la métamorphose, nous avons tenté dans la seconde partie, de préciser le mode de contrôle hormonal de ce processus par la glande de mue et le corps allate. Enfin, dans le but d'élargir le champ de nos investigations et de l'étendre au problème plus général du déterminisme du sexe, nous avons suivi dans la troisième partie, l'organogénèse de l'appareil génital tout entier au cours du développement post-embryonnaire, en réservant toutefois l'aspect expérimental de ce problème au seul appareil copulateur mâle.

MATERIEL ET TECHNIQUES

MATERIEL

Trois espèces très voisines d'Odonates Anisoptères de la famille des Aeschnidae ont été utilisées pour la réalisation de ce travail. Leur abondance et leur taille relativement importante devaient faciliter dans une certaine mesure les interventions expérimentales. La morphologie et l'anatomie de l'appareil copulateur ont été étudiées chez Aeschna cyanea (MULL.) et Anax imperator (LEACH.) ; la métamorphose a été suivie chez Aeschna cyanea (MULL.) alors que la description du développement post-embryonnaire de l'appareil génital des deux sexes a été effectuée sur Aeschna mixta (LATR.) et Anax imperator (LEACH.). Enfin l'étude expérimentale de la détermination de l'appareil copulateur a porté sur Anax imperator (LEACH.) et celle du contrôle endocrinien de sa différenciation sur Aeschna cyanea (MULL.).

ELEVAGE

L'élevage à partir de l'oeuf de la descendance d'une femelle unique d'Aeschna mixta a fourni une population larvaire dont le développement s'est effectué en 9, 10 ou 11 stades (SCHALLER et MOUZE, 1970). Les larves d'Anax imperator et d'Aeschna cyanea de stades variés ont été soit capturées dans la nature, soit élevées à partir de l'oeuf (pontes obtenues au laboratoire par des femelles adultes capturées au vol ou bien recueillies dans des végétaux aquatiques récoltés au bord de certaines mares). Le nombre de stades larvaires d'Aeschna cyanea varie entre 10 et 13 (SCHALLER, 1969), celui de Anax imperator entre 12 et 14 (12 stades selon ROBERT, 1958). Le développement post-embryonnaire d'Anax imperator s'est effectué dans les conditions optimales de température, de nourriture et de lumière en neuf mois au minimum, une période d'environ un mois à basse température étant nécessaire à la rupture de la diapause au dernier stade (CORBIET, 1957).

Toutes les larves ont été élevées dans des récipients contenant de l'eau déchlorée et placés dans une salle dont la température moyenne était de 22° C, la photopériode comportant 16 heures de lumière pour 8 heures d'obscurité. L'alimentation a consisté en nauplii d'Artemia salina pour les plus jeunes larves, en larves de Chironomes pour les plus âgées.

TECHNIQUE HISTOLOGIQUE

Les larves ont été sacrifiées par décapitation dans du liquide physiologique, l'incision du bord latéral des tergites facilitant la pénétration du liquide fixateur (Bouin-Hollande ou Bouin alcoolique).

Les pièces fixées ont séjourné pendant des temps variables dans l'alcool butylique selon le degré de dureté des parties sclérifiées et ont été incluses sous vide dans la paraffine. Les coupes d'une épaisseur de 7 μ ont été colorées par l'hématoxyline de Regaud, celle de Groat ou le gly-chémalun, avec comme colorant de fond, l'éosine ou le picro-indigocarmin.

TECHNIQUE OPERATOIRE

Les larves, après un séjour d'une nuit dans de l'eau contenant des antibiotiques, ont été anesthésiées dans de l'eau saturée de CO_2 . A la suite de l'opération entourée de certaines précautions d'asepsie, les larves ont été placées en chambre humide pendant quelques heures.

REMARQUES:

Certaines techniques histologiques et opératoires ont été décrites à l'occasion d'études expérimentales particulières auxquelles elles ont trait.

Pour la commodité de l'exposé, nous avons utilisé pour désigner les stades larvaires, une nomenclature partant du dernier stade et comportant les abréviations suivantes : DS (dernier stade), ADS (avant dernier stade), APS (antépénultième stade), 2 APS (stade précédant l'APS), 3 APS...

PREMIERE PARTIE

STRUCTURE ET FONCTIONNEMENT DE L'APPAREIL CALCULATEUR

Avant d'étudier plus particulièrement la structure et le fonctionnement de l'appareil copulateur des Aeschnidae, nous décrirons brièvement l'appareil génital adulte dans les deux sexes qui a déjà fait l'objet d'une publication (DEFOSSEZ, 1970). Le développement post-embryonnaire de ce dernier ne sera abordé que dans la troisième partie consacrée au problème de la détermination du sexe.

1 - RAPPEL DE LA STRUCTURE DE L'APPAREIL GENITAL DANS LES DEUX SEXES

Nous envisagerons successivement les organes génitaux internes (Pl. I, a) et externes (Pl. I, b).

- Organes génitaux internes

Chez la femelle, les ovaires coincés entre l'aorte et les troncs trachéens dorsaux, s'étendent de la partie antérieure du premier segment abdominal à la partie antérieure du sixième segment. Ils sont composés d'ovarioles du type panoïstique (Pl. XXII, c) comprenant chacun un filament terminal, un germarium où les cellules germinales subissent la prémeiose et enfin un vitellarium, lieu d'élaboration des réserves vitellines des ovocytes qui sont alignés sous forme de follicules ovocytaires. Ceux-ci quittent le vitellarium par un calice, sorte d'entonnoir s'ouvrant dans l'oviducte qui longe le bord latéral de l'ovaire. Les oviductes se détachent des ovaires dans le sixième segment et ont un parcours latéro-dorsal dans le septième segment avant de fusionner ventralement en un oviducte impair muni d'une spermathèque et qui débouche à l'extérieur par un court vagin entre les huitième et neuvième sternites. Une paire de glandes accessoires s'ouvre dans la spermathèque par un canal commun ; les canaux de deux autres glandes, les glandes collétériques situées dans le neuvième segment, débouchent séparément au niveau de l'orifice génital.

Chez le mâle, une paire de testicules bordant l'aorte s'étend de la région postérieure du cinquième segment à la région antérieure du huitième segment abdominal. Ils sont formés de lobules ou cystes à l'intérieur desquels toutes les cellules germinales sont au même stade. Chaque lobule déverse ses spermatozoïdes dans un spermiducte situé dans l'axe longitudinal médian du testicule (Pl. XXII, h). Les spermiductes quittent les testicules au niveau du huitième sternite, contournent latéralement les muscles intersegmentaires ventraux, puis viennent confluer en passant

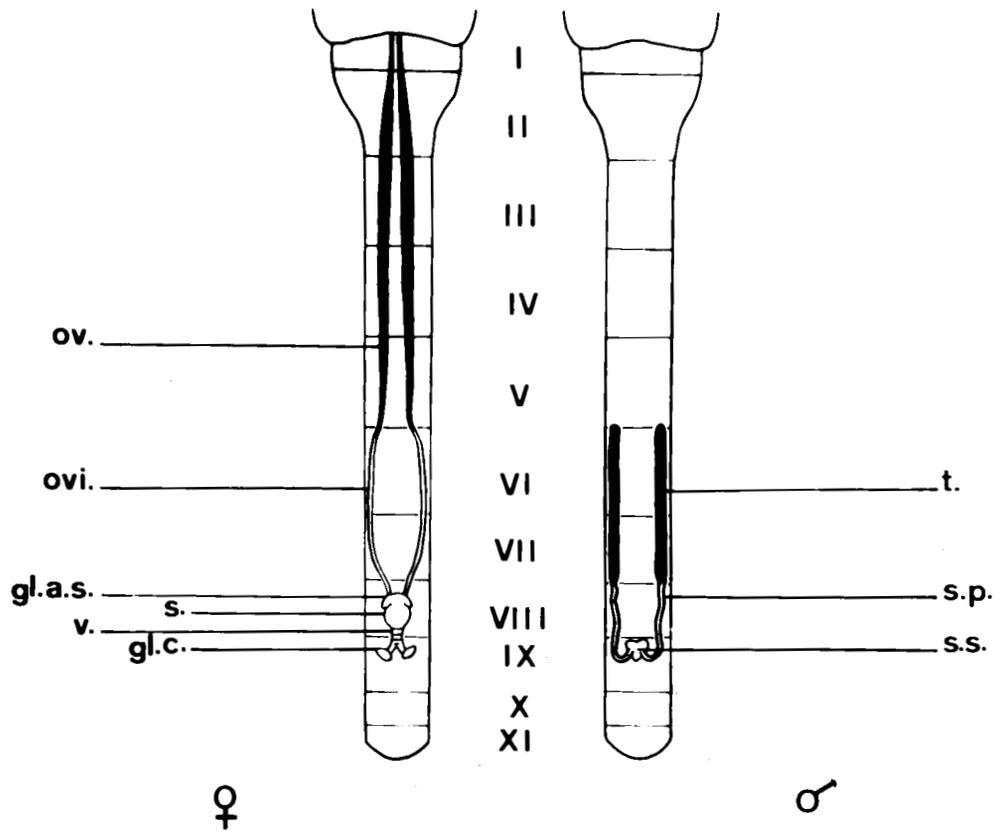
Planche I

Fig. a : Disposition schématique des organes génitaux internes d'Anax Imperator adulte.
(à g., la femelle ; à dr., le mâle)

gl. a. s.	glande accessoire de la spermathèque
gl. c.	glande collatérale
ov.	ovaire
ovi.	oviducte
s.	spermathèque
s. s.	sac spermatique
sp.	spermiducte
t.	testicule
v.	vagin
I - XI	numéro d'ordre des segments abdominaux

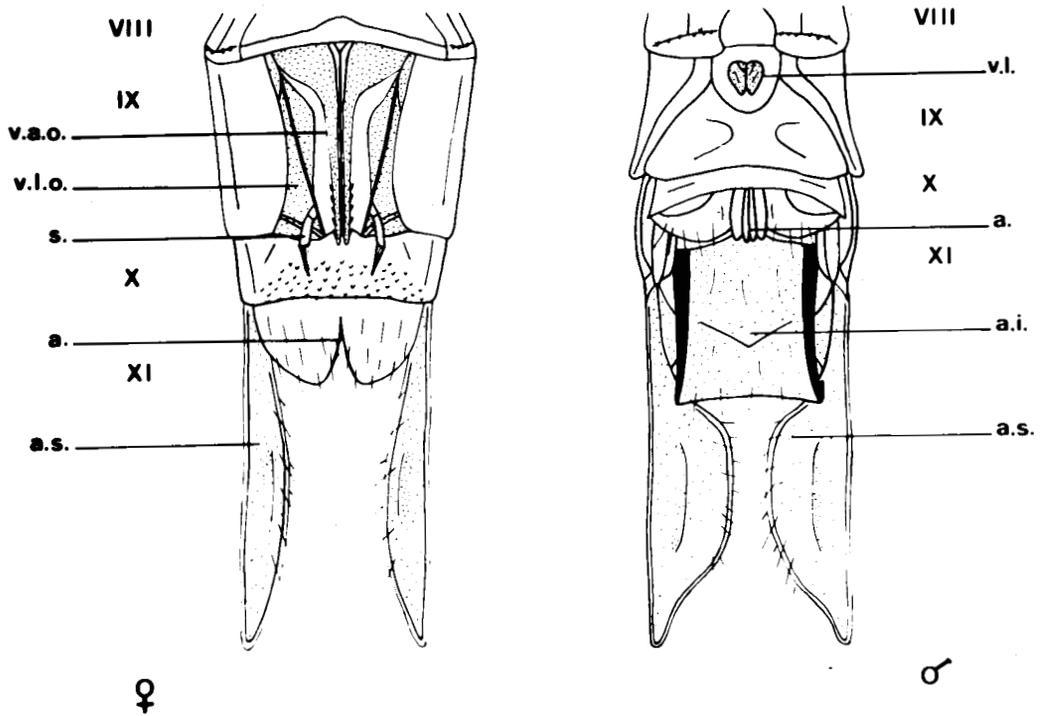
Fig. b : Extrémité abdominale d'Anax imperator adulte en vue ventrale.
(à g., la femelle ; à dr., le mâle)

a.	anus
a. i.	appendice inférieur
a. s.	appendice supérieur
s.	style
v. a. o.	valves antérieures de l'oviscapte (cachent les valves postérieures)
v. l.	valves latérales du mâle (cachent la plaque génitale)
v. l. o.	valve latérale de l'oviscapte
VIII - XI	numéro d'ordre des segments abdominaux



a

1 cm



b

2 mm



sous ces muscles dans un sac spermatique, lequel s'ouvre sur le neuvième sternite abdominal par l'intermédiaire d'un court canal éjaculateur. Aucune glande accessoire n'accompagne cet appareil ; la paroi des spermiductes sécréterait un produit d'agglutination des spermatozoïdes en spermatophores ou spermiozeugmes (PRASAD et SRIVASTAVA, 1960).

- Organes génitaux externes

L'oviscapte de la femelle adulte est composé de trois paires de valves : les valves antérieures issues du huitième sternite, les valves postérieures et les valves latérales issues du neuvième sternite. L'orifice génital de la femelle se situe entre les valves antérieures et postérieures dont l'ensemble constitue un véritable aiguillon articulé, actionné par un appareil musculaire très développé décrit par SAINT-QUENTIN (1962). Cet aiguillon qui n'existe que chez les espèces à ponte endophytique est protégé par des valves latérales foliacées munies d'un style pluriarticulé.

L'orifice génital du mâle se situe sur une plaque médiane du neuvième sternite encadrée par deux valves latérales. A l'extrémité de l'abdomen, un appendice supra-anal ou inférieur, particulier au mâle, s'ajoute aux appendices supérieurs présents dans les deux sexes. Enfin, le mâle possède un appareil copulateur complexe porté par les deuxième et troisième sternites abdominaux et dont l'étude morphologique et histologique fait l'objet principal de ce chapitre.

2 - L'APPAREIL COPULATEUR

L'appareil copulateur des Odonates a fait l'objet d'études anciennes réalisées notamment, après RATHKE (1832), par INGENITZKI (1893) et GODDARD (1896), respectivement sur les Anisoptères Aeschnidae et Libellulidae. Puis THOMPSON (1908), SCHMIDT (1915), TILLYARD (1917) et plus récemment WALKER (1953) et POONAWALLA (1966) se sont intéressés à l'anatomie comparée de l'appareil copulateur des Odonates Anisoptères et Zygoptères. Des représentants de ce dernier sous-ordre ont constitué le matériel de recherche de KENNEDY (1917) et GARMAN (1917) alors que MARSCHALL (1914), KENNEDY (1922), BORROR (1945) et PRASAD et SRIVASTAVA (1960) portaient leur attention plus particulièrement sur les Libellulidae et FRASER (1940), CHAO (1953) et ASAHINA (1954) sur d'autres Anisoptères de la famille des Gomphidae.

A la lumière de ces différents travaux, on peut établir une structure générale de l'appareil copulateur qui subit quelques modifications selon les familles considérées. Si des désaccords subsistent en ce qui concerne les homologues de cet organe dans les deux sous-ordres, l'interprétation de son fonctionnement, basée uniquement sur des données de morphologie externe ne fut abordée que par SCHMIDT (1915), ASAHINA (1954) et POONAWALLA (1966). Il nous a semblé intéressant de reprendre une étude anatomique et histologique de l'appareil copulateur des Aeschnidae Aeschna cyanea et Anax imperator et de tenter d'apporter des éclaircissements sur son fonctionnement. C'est en cours de rédaction de ce travail que nous avons eu connaissance d'une étude de PFAU (1970, 1971) sur l'anatomie et le rôle de l'appareil copulateur d'Aeschna cyanea et dont les résultats confirment sensiblement les nôtres.

Pour faciliter la description de l'appareil copulateur et la compréhension de sa morphogenèse à partir des deuxième et troisième sternites abdominaux, nous avons d'abord examiné la structure d'un segment abdominal situé en dehors de la sphère génitale. Dans un tel segment le tergite, très enveloppant, a une surface beaucoup plus importante que le sternite réduit à une étroite bande ventrale. Le séjour des différentes pièces étudiées dans un bain de soude ou de potasse a permis de préciser leur structure.

a) Segment abdominal type

Les segments abdominaux mâle ou femelle ne portant pas de formations génitales externes sont tous bâtis sur le modèle suivant déjà décrit par SCHMIDT (1915) chez Aeschna cyanea.

⊕ Le tergite (Pl. II, a), de forme bombée, est composé de différentes zones limitées par des arêtes longitudinales et transversales hérissées d'épines. Une ligne de suture dorsale de direction longitudinale médiane le sépare en deux moitiés droite et gauche bordées latéralement par une arête longitudinale externe. Chacune de ces moitiés est subdivisée à son tour en deux champs, l'un antérieur, l'autre postérieur séparés par les arêtes transversale postérieure et longitudinale interne. Le champ antérieur présente deux arêtes transversales, orale et antérieure, et le champ postérieur montre un épaissement cuticulaire empêchant les mouvements latéraux de l'abdomen.

Planche II

Fig. a et b : Tergites imaginaires d'Aeschna cyanea en vue latérale (direction céphalique à gauche)

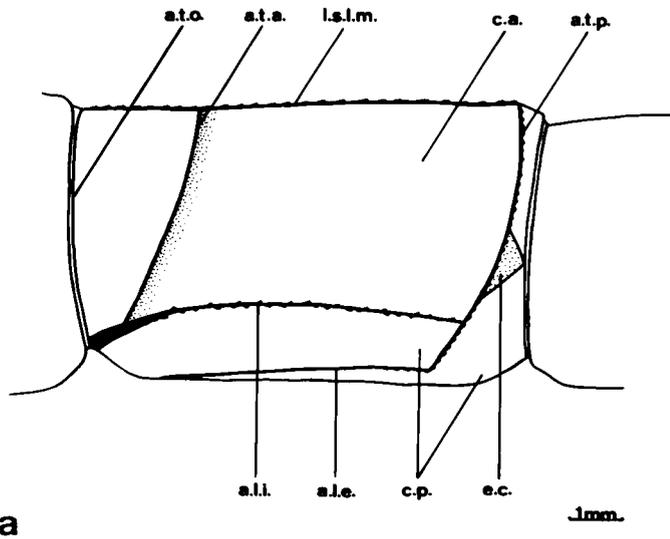
a : 4ème tergite femelle

b : 2ème tergite mâle

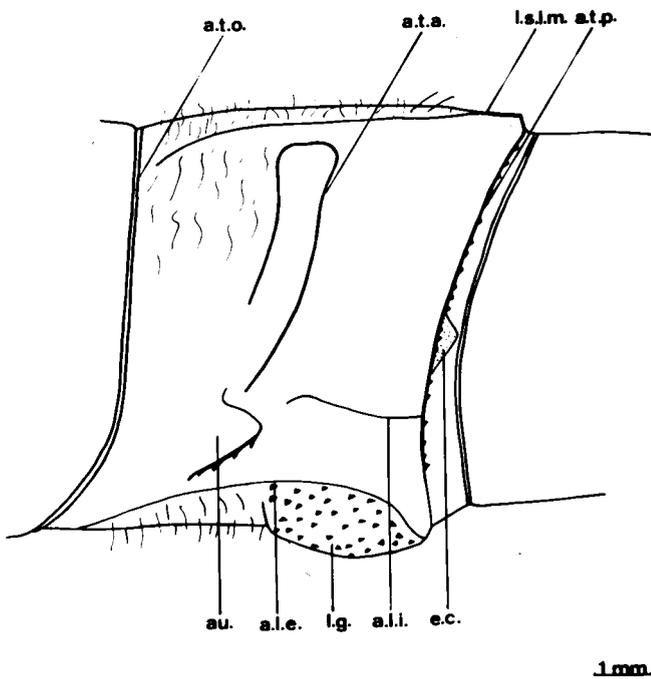
- a. l. e. arête longitudinale externe
- a. l. i. arête longitudinale interne
- a. t. a. arête transversale antérieure
- a. t. o. arête transversale orale
- a. t. p. arête transversale postérieure
- au. auricule
- c. a. champ antérieur
- c. p. champ postérieur
- e. c. épaissement cuticulaire
- l. g. lobe génital
- l. s. l. m. ligne de suture longitudinale médiane

Fig. c : 4ème sternite de l'adulte femelle d'Aeschna cyanea

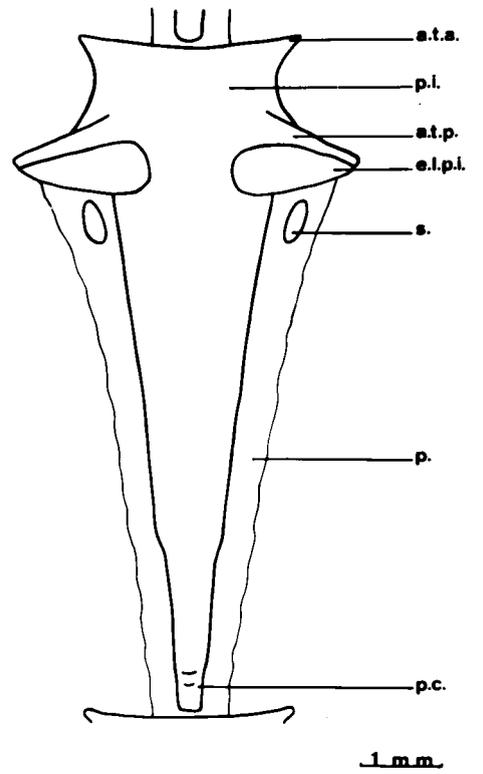
- a. t. a. arête transversale antérieure
- a. t. p. arête transversale postérieure
- e. l. p. i. expansion latérale de la pièce intermédiaire
- p. pleure
- p. c. processus caudal
- p. i. pièce intermédiaire
- s. stigmate



a



b



c



Les deux premiers tergites font exception à cette structure type dans les deux sexes : alors que le premier tergite est réduit, le deuxième très développé, possède de chaque côté une double arête transversale antérieure et une arête longitudinale interne réduite. Chez le mâle d'Aeschna cyanea, le second tergite (Pl. II, b) présente une paire d'excroissances latérales denticulées, les auricules, et une paire de lobes génitaux hérissés d'épines et situés sous les arêtes longitudinales externes.

Enfin, sur les tergites abdominaux d'Anax imperator, les arêtes transversales antérieures sont à peine marquées et, de chaque côté, existe une troisième arête longitudinale plus interne que les deux autres, sauf au niveau du deuxième tergite où les arêtes longitudinales internes et externes forment deux triangles renforcés qui recouvrent l'appareil copulateur (Pl. III, a). Cette espèce ne possède ni auricules, ni lobes génitaux.

⊕ Le sternite (Pl. II, c) est composé de deux parties : une partie trapézoïdale antérieure limitée par les arêtes transversales antérieure et postérieure et appelée par SCHMIDT, pièce intermédiaire et une partie subrectangulaire allongée qui se termine par un processus caudal caréné, réduit sur les sternites postérieurs. En arrière de la pièce intermédiaire qui présente deux paires d'expansions latérales, lieux d'insertions musculaires, on distingue de part et d'autre, sur les pleures, une paire de stigmates par segment.

A cette structure font exception le premier sternite réduit dans les deux sexes et les deuxième et troisième sternites du mâle, modifiés en appareil copulateur.

b) Le deuxième sternite abdominal du mâle

Il forme une cuvette, la fosse génitale, contenant différents sclérites qui sont d'avant en arrière : la lame antérieure, les hameçons antérieurs et la charpente composée d'un cadre antérieur supportant la ligule et d'un cadre postérieur ou lame postérieure, base des hameçons postérieurs (Pl. III, a, b ; Pl. V, a).

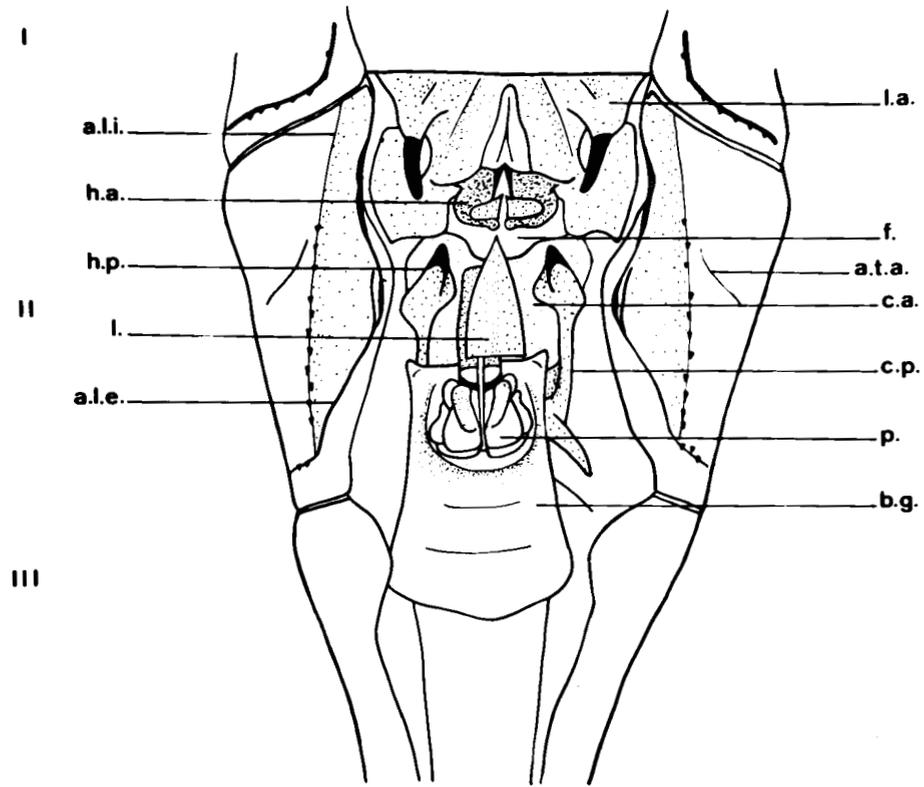
La lame antérieure, largement échancrée sur la ligne médiane, est armée latéralement de deux fortes épines encadrant les hameçons antérieurs chez Aeschna cyanea, d'épines de taille plus faible chez Anax

Planche III

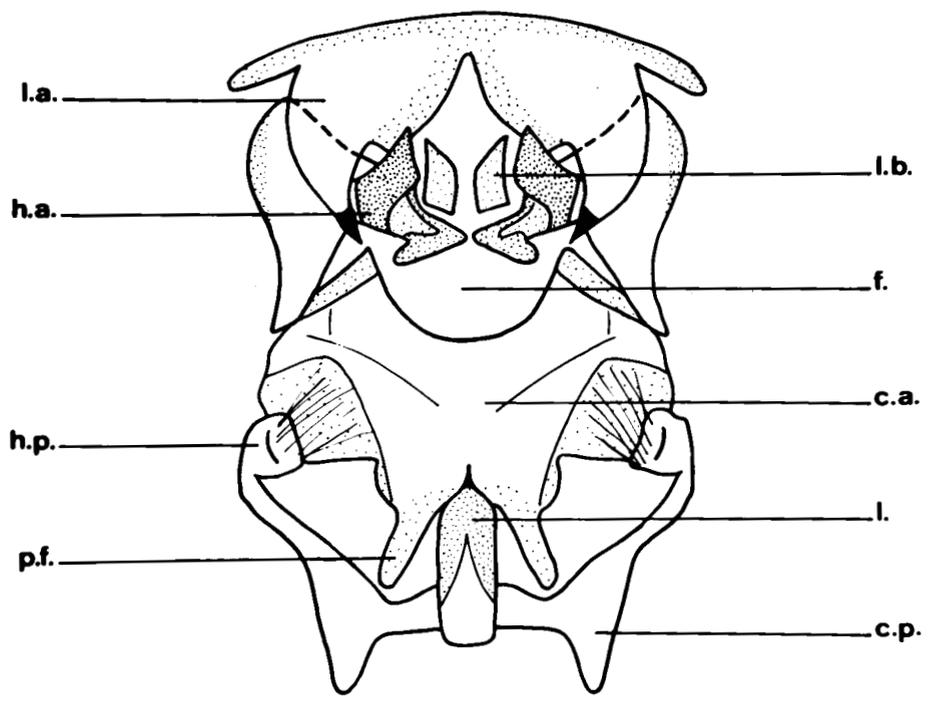
Fig. a : Appareil copulateur de l'adulte mâle d'Anax imperator

Fig. b : 2ème sternite de l'adulte mâle d'Aeschna cyanea
(les hameçons antérieurs sont écartés l'un de l'autre)

- a. l. e. arête longitudinale externe
- a. l. i. arête longitudinale interne
- a. t. a. arête transversale antérieure
- b. g. bulbe génital
- c. a. cadre antérieur
- c. p. cadre postérieur
- f. fenêtre
- h. a. hameçon antérieur
- h. p. hameçon postérieur
- l. ligule
- l. a. lame antérieure
- l. b. lame batilliforme
- p. pénis
- p. f. processus furculiformes
- I II III premiers sternites abdominaux



a



b



imperator. Les hameçons antérieurs, implantés sur des bases triangulaires dont les sommets se font face, forment en s'affrontant une sorte d'étui qui cache une profonde dépression, la fenêtre. Celle-ci présente deux petits bourrelets sclérifiés qui seraient, selon SCHMIDT, les rudiments de la lame batilliforme décrite chez les Zygoptères. En arrière de cette fenêtre, le cadre antérieur déjà signalé, ayant la forme d'un hexagone aplati, supporte la ligule, excroissance à l'aspect de spatule recourbée qui plonge ventralement pour longer le côté dorsal du pénis. Le cadre antérieur émet au point d'insertion de la ligule, deux prolongements en fourche appelés processus furculiformes. Enfin le cadre postérieur a la forme d'un U ouvert vers l'avant dont les branches donnent naissance aux hameçons postérieurs.

Toutes ces annexes génitales, d'origine épidermique, sont recouvertes d'une cuticule aux aspects variés. Très sclérifiée et hérissée de longues soies au niveau de la lame antérieure, de la lame batilliforme, de la ligule et des hameçons, elle s'amincit et s'éclaircit entre les sclérites, surtout au niveau de la fenêtre et dans la dépression limitée par les branches latérales du cadre postérieur où elle est couverte de petites épines.

Cette description confirme entièrement celle réalisée par SCHMIDT (1915) chez la même espèce Aeschna cyanea et par CHAO (1953) chez un représentant de la famille des Gomphidae. Chez les Libellulidae les divers auteurs, GODDARD (1896), THOMPSON (1908), TILLYARD (1917), WALKER (1953), PRASAD et SRIVASTAVA (1960) et POONAWALLA (1966) signalent l'absence des hameçons antérieurs et la réduction de la lame antérieure compensées par l'important développement des hameçons postérieurs. Enfin chez les Zygoptères, GARMAN (1917), ASAHINA (1954), POONAWALLA (1966) et PFAU (1971) décrivent deux paires d'hameçons à l'inverse de THOMPSON (1908) et TILLYARD (1917) qui n'ont pas observé les hameçons antérieurs. Dans ce même groupe, la ligule est absente, le pénis étant supporté par le cadre antérieur, mais la lame batilliforme est très développée et joue le rôle de la ligule des Anisoptères (THOMPSON, 1908).

c) Le troisième sternite abdominal du mâle

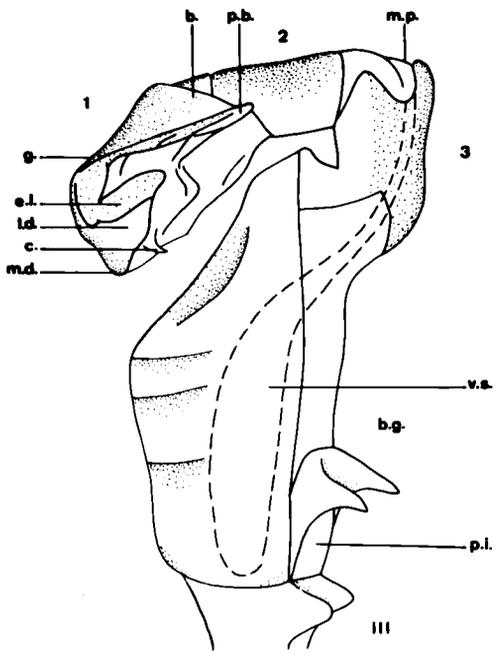
A l'inverse du précédent, le troisième sternite mâle garde la forme des sternites non génitaux. Seule la pièce intermédiaire est modifiée en un pénis, organe volumineux dirigé vers l'avant et se recourbant

Planche IV

Fig. a et b : pénis et bulbe génital en vue latérale gauche (direction céphalique vers le haut)
a : Aeschna cyanea ; b : Anax imperator

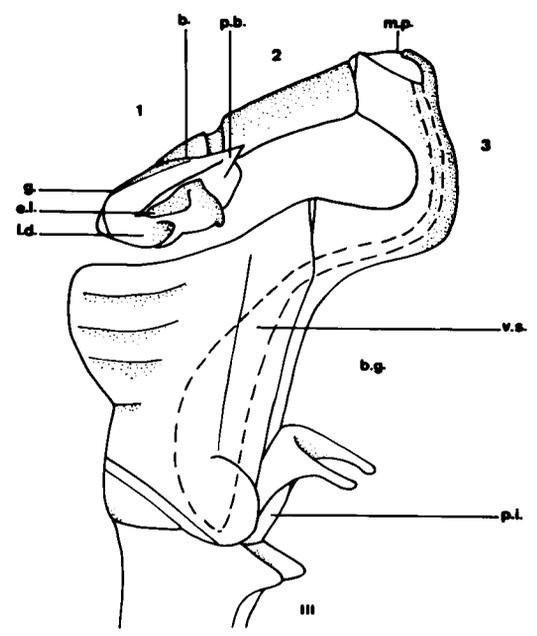
Fig. c et d : gland du pénis : face ventrale en vue de 3/4
c : Aeschna cyanea ; d : Anax imperator

- b. bouclier
- b. g. bulbe génital
- c. corne
- e. c. épaissement cuticulaire
- e. l. excroissance latérale
- g. gland
- l. d. lobe distal
- l. p. l. lobe proximal latéral
- l. p. m. lobe proximal médian
- m. d. méat distal
- m. p. méat proximal (orifice de la vésicule séminale)
- p. b. pli du bouclier
- p. i. pièce intermédiaire du 3ème sternite
- v. s. vésicule séminale (contour en pointillé)
- 1, 2, 3 articles du pénis
- III 3ème sternite



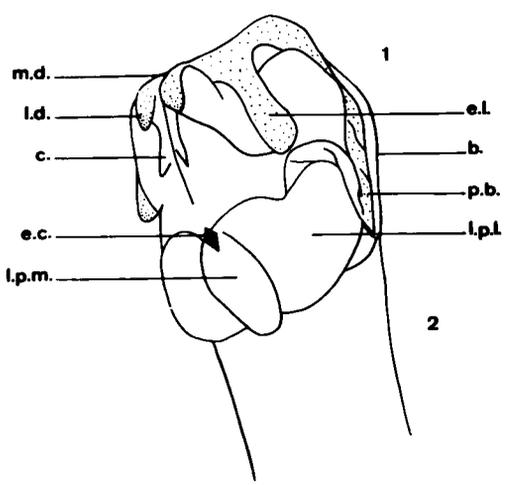
.05mm.

a



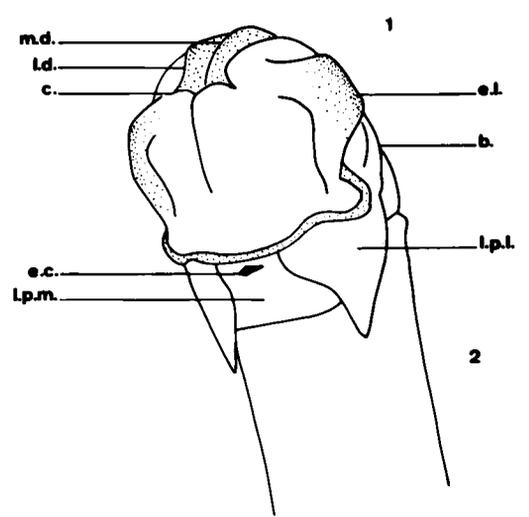
.05mm.

b



.005 mm.

c



.005 mm.

d



ensuite ventralement en direction postérieure, sous la ligule. Le pénis porté par un bulbe génital se compose de trois articles (Pl. IV, a, b) : l'article distal (n° 1), bilobé et fortement plissé, le gland, est logé au repos dans une dépression ventrale du bulbe génital ; il est creusé tout comme l'article intermédiaire (n° 2) d'une gouttière qui aboutit à l'extrémité antérieure de l'article proximal (n° 3) perpendiculaire au précédent ; une vésicule séminale contenue dans le bulbe génital se prolonge par un canal qui s'ouvre à l'extrémité antérieure du troisième article et sur sa face dorsale par un orifice, le méat proximal, protégé par une petite excroissance.

⊙ Le gland du pénis (Pl. IV, c, d ; Pl. V, b) peut être comparé à une gouttière ouverte vers le bas dont le fond repose dans la dépression du bulbe génital et dont les bords sclérifiés constituent le bouclier. Le gland porte diverses expansions paires qui sont, chez Aeschna cyanea, d'une part des lobes distaux arrondis, d'autre part deux excroissances latérales importantes repliées vers l'arrière ; la gouttière s'ouvre sur la partie terminale du pénis par un orifice encadré de deux petites cornes, le méat distal. A l'opposé, donc à la partie basale du gland, s'étend à l'abri des plis latéraux du bouclier un lobe proximal médian surmonté d'un épaissement cuticulaire losangique et encadré de deux lobes proximaux latéraux.

La cuticule qui tapisse le gland est très épaisse et présente des aspects variés : garnie de petites épines sur la face interne de la gouttière et d'épines longues et acérées sur les excroissances latérales, elle porte sur les lobes proximaux des tubercules irréguliers (Pl. V, c, d, e).

On retrouve chez Anax imperator une morphologie du gland identique à celle décrite chez Aeschna cyanea avec cependant quelques variantes : ainsi les excroissances latérales au lieu d'être repliées vers l'arrière, s'étendent de chaque côté du gland et sont reliées par un épais bourrelet transverse.

⊙ L'article intermédiaire du pénis (Pl. V, f) est une simple gouttière dont le fond est tapissé d'une cuticule épaisse et l'article proximal (Pl. V, g) est un tube en prolongement du bulbe génital qui

Planche V

Fig. a: Appareil copulateur de l'adulte mâle d'Anax imperator (G x 10)

b. g. bulbe génital (implanté sur le 3ème sternite)
h. a. hameçon antérieur
h. p. hameçon postérieur
l. ligule
l. a. lame antérieure
p. pénis

Fig. b : Coupe transversale du gland du pénis d'Anax imperator (G x 50)

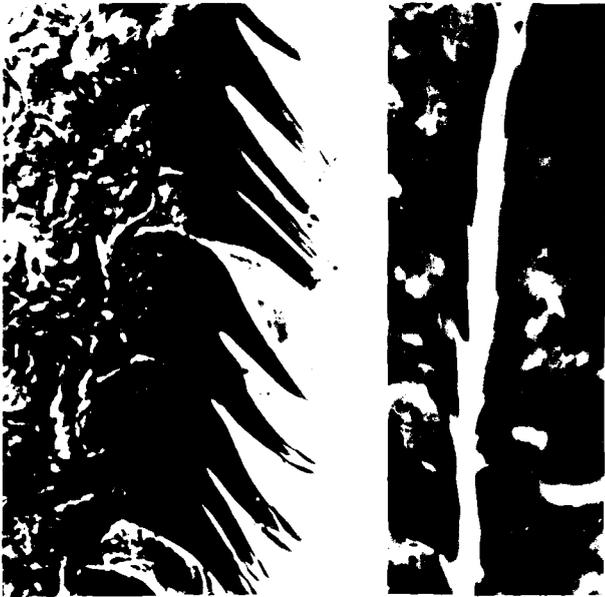
b. bouclier
g. gouttière
p. b. pli du bouclier
e. l. excroissance latérale

Fig. c, d, e : Détails à différents niveaux de la cuticule tapissant le gland du pénis d'Anax imperator
c : excroissance latérale (G x 1200)
d : gouttière (G x 1200)
e : lobe proximal (G x 300)

Fig. f et g : coupes transversales du pénis d'Anax imperator (G x 120)

f : article intermédiaire
g : article proximal

f. fibres attachant la vésicule séminale
g. gouttière
h. hémolymphe
t. trachées
v. s. vésicule séminale



porte, près de sa jonction avec l'article intermédiaire, l'orifice de la vésicule séminale, le méat proximal. Un pénis en turgescence montre bien l'existence de la gouttière spermatique (Pl. VIII, c).

⊕ Le bulbe génital (Pl. VI) présente une dépression ventrale à bords arrondis, garnie de soies, dans laquelle repose le gland. La vésicule séminale abritée par le bulbe génital est limitée par un épithélium plat bordé à l'intérieur par une cuticule et est maintenue en place par des fibres insérées sur la paroi dorsale du bulbe génital (Pl. VI, a, e). Dans l'article proximal du pénis, ces fibres mieux visibles s'attachent sur la vésicule séminale d'une part, sur les parois latérales de l'article d'autre part (Pl. V, g).

La cavité du bulbe génital remplie d'hémolymphe est en continuité avec celle du pénis mais est séparée de l'hémocoële, au niveau de l'attache sternale, par un diaphragme fibreux qui ne laisse passer que nerfs et trachées (Pl. VI, a, e). Nous avons observé ce diaphragme chez de très jeunes imagos, venant d'émerger, bien que PFAU (1971) ne signale sa formation qu'au cours de la vie imaginale.

L'épiderme bordant le bulbe génital présente deux épaisissements linéaires latéraux sous forme d'invaginations (Pl. VI, d) qui après un décollement cuticulaire localisé vont proliférer très intensément au début de la vie imaginale. Cette prolifération finit par former chez l'adulte mûr deux sacs très développés et multilobés remplissant tout l'intérieur du bulbe génital et ne laissant place qu'à la vésicule séminale (Pl. VI, b). Ces sacs restent insérés sur la paroi du bulbe génital tout le long de la ligne de décollement cuticulaire primitive (Pl. VI, f). Seul INGENITZKI (1893) avait décrit la présence de ces formations chez les Aeschnidae, sous le nom de "sacs élastiques" contenant, d'après lui, des buissons de filaments chitineux. Nous n'avons pas observé ces buissons, mais seulement des travées concentriques d'endocuticule déposée au cours du développement des sacs (Pl. VI, g). Les deux sacs contenus dans le bulbe génital fusionnent en une formation impaire dont l'épithélium épaissi est appliqué contre le plancher de la vésicule séminale à la suite du décollement de la cuticule tout le long de la face ventrale du pénis jusqu'au gland (Pl. VI, c). Pour PFAU (1970), les cellules épidermiques décollées à ce niveau seraient de nature glandulaire, les "sacs

Planche VI

Fig. a et b : Coupes transversales du bulbe génital
d'Aeschna cyanea (G x 50)
a : adulte immature
b : adulte mature (flèche : point d'attache
d'un "sac élastique" sur la paroi du
bulbe génital)

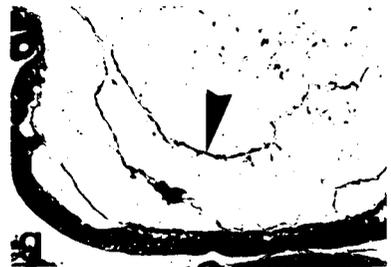
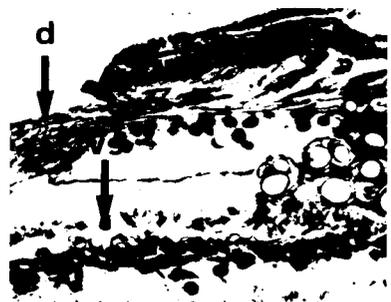
Fig. c : Coupe transversale de l'article proximal du
pénis d'un adulte mature d'Aeschna cyanea
(G x 120)
(la vésicule séminale est bordée d'une cuticule
épaisse près du méat proximal)

Fig. d et e : Détails du bulbe génital d'un adulte
immature d'Aeschna cyanea (G x 300)
d : ébauche des "sacs élastiques"
(flèche : mitose)
e : diaphragme et vésicule séminale

Fig. f et g : Détails du bulbe génital d'un adulte
mature d'Aeschna cyanea
f : point d'attache d'un "sac élastique"
sur la paroi du bulbe génital (G x 1000)
g : travées d'endocuticule (flèche) dans un
"sac élastique" (G x 200)

c.	cuticule
d.	diaphragme
e.	épiderme
f.	fibres d'attache de la vésicule séminale
h.	hémolymphe
t.	trachées
s. e.	sac élastique
v. s.	vésicule séminale





205
11.12.67

élastiques" formant ainsi une glande épidermique dont la lumière se poursuivrait jusqu'à l'extrémité du gland. L'épiderme bordant ce dernier serait totalement décollé et rétracté. Nous n'avons pu confirmer cette dernière observation, après l'examen d'images qui étaient peut-être trop jeunes, comme le laissent supposer d'une part, la multiplication cellulaire encore importante dans la paroi des "sacs élastiques", d'autre part l'absence de spermiozeugmes dans la vésicule séminale.

Si les nombreux auteurs cités précédemment ont en général signalé la même structure d'ensemble du pénis et du bulbe génital à l'aide d'une terminologie variant toutefois d'un travail à l'autre, un certain nombre de désaccords les opposent parfois.

Ainsi POONAWALLA (1966) étudiant des Zygoptères et FRASER (1960) et CHAO (1953), des Gomphidae notent sur le gland du pénis, la présence de longs flagelles portés par les lobes distaux et celle d'un "prépuce" qui pourrait correspondre au lobe proximal plus réduit des Aeschnidae. Chez les Libellulidae, la structure du gland semble plus complexe. L'interprétation de KENNEDY (1922) nous paraît préférable à celle de GODDARD (1896) et de PRASAD et SRIVASTAVA (1960) dans la tentative d'assimiler les différentes formations décrites à celles d'Aeschna cyanea à savoir que, les lobes distaux, les excroissances latérales et les cornes des Aeschnidae doivent correspondre respectivement aux lobes médians, aux lobes latéraux et aux cornes des Libellulidae. On pourrait retrouver de la même façon les lobes proximaux latéraux et médian d'Aeschna sous les noms de lobes internes et de lobe postérieur impair, ce dernier étant l'équivalent du prépuce des Gomphidae.

De même la cloison séparant la cavité du bulbe génital de l'hémocoèle avait déjà été signalée par CHAO (1953), PRASAD et SRIVASTAVA (1960) et POONAWALLA (1966) à l'inverse de KENNEDY (1922) et BORROR (1945).

Signalons enfin que TILLYARD (1917) place le méat proximal des Aeschnidae sur l'article intermédiaire du pénis et que POONAWALLA (1966) décrit différents sclérites sur la face ventrale du bulbe génital, un sclérite dorsal étant même signalé par CHAO (1953) et PRASAD et SRIVASTAVA (1960). Nous n'avons retrouvé aucun de ces sclérites, seule la face ventrale du bulbe génital étant totalement sclérifiée chez Aeschna cyanea et Anax imperator.

d) Musculature, trachées et innervation des deuxième et troisième sternites mâles

Tous les segments abdominaux sont pourvus dans les deux sexes d'un certain nombre de muscles dont la description (Pl. VII, a) doit servir de base à celle de l'appareil musculaire annexé à l'appareil copulateur mâle (Pl. VII, b) et dont les modifications fonctionnelles paraissent évidentes. Si les études de la morphologie externe des deuxième et troisième segments abdominaux mâles des Odonates sont fréquentes, celles ayant trait à leur musculature sont rares et essentiellement dues à SCHMIDT (1915) qui a repris les travaux de RATHKE (1832) et BACKHOFF (1910), à POONAWALLA (1966) qui s'est inspiré des résultats de WHEDON (1918) et ASAHINA (1954) et enfin tout dernièrement à PFAU (1971). La dissection d'imagos d'Aeschna cyanea et d'Anax imperator nous a permis de classer les muscles abdominaux tous pairs en deux catégories : les muscles intersegmentaires et les muscles segmentaires (la numérotation en chiffres romains des différents muscles est empruntée à SCHMIDT).

- Les muscles intersegmentaires sont les plus nombreux et les plus puissants :

- Les muscles I, IX et X sont longitudinaux et dorsaux et s'attachent sur l'arête transversale orale d'un tergite ; le premier, développé, rejoint l'arête transversale antérieure du tergite précédent ; les deux autres, plus courts se terminent en avant de l'arête transversale postérieure de ce même tergite.

- Le muscle II est dorsoventral et se compose de deux faisceaux qui s'insèrent d'une part sur l'arête transversale antérieure d'un tergite (chez Aeschna cyanea, l'insertion est double : sur l'arête antérieure et en arrière de celle-ci) et d'autre part, sur le bord latéral de la pièce intermédiaire du sternite suivant (premier faisceau tergesternal) ou sur l'arête longitudinale interne du tergite suivant (deuxième faisceau).

- Les muscles III et VII sont longitudinaux et ventraux. Le premier est réduit et s'insère sur l'arête transversale antérieure d'un sternite et sur les bords latéraux de la partie postérieure du sternite précédent. Le second, long et puissant, relie l'arête transversale postérieure d'un sternite à l'arête transversale antérieure du sternite suivant.

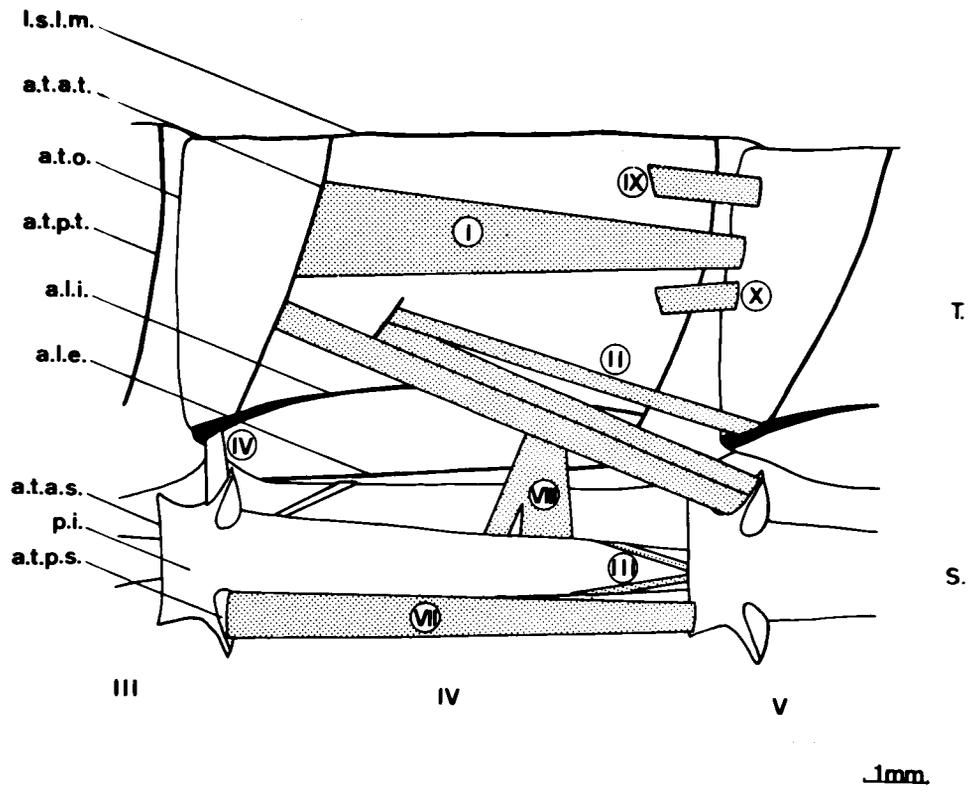
- A l'inverse des précédents, les muscles segmentaires, ~~Muscles~~ dorsoventraux, ~~ou~~ tergesternaux, sont réduits. On distingue essentiellement deux muscles : le muscle IV antérieur qui s'insère sur l'arête

Planche VII

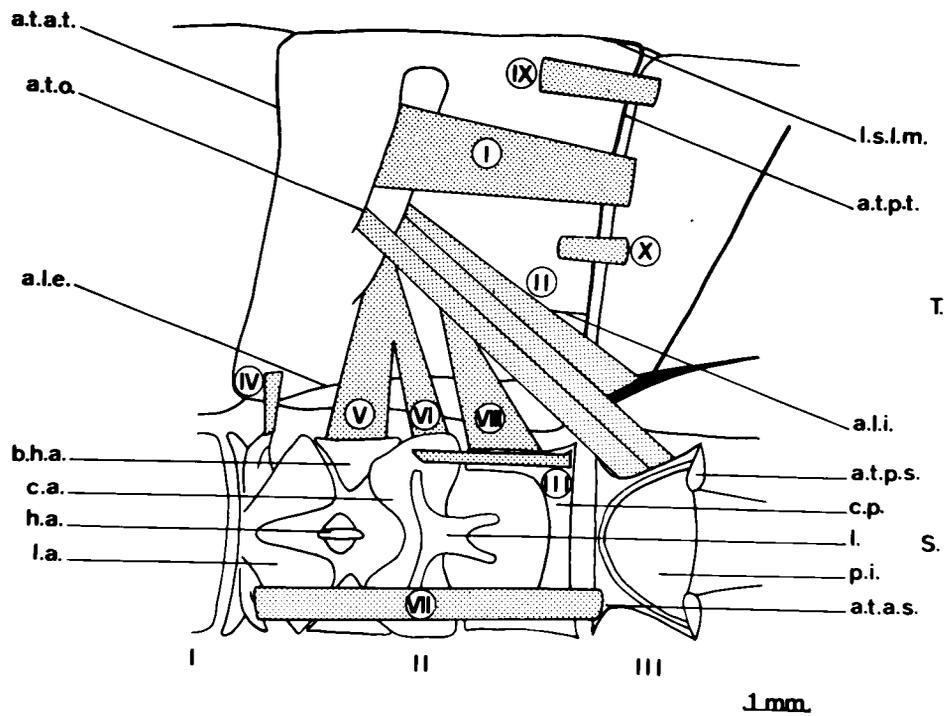
Fig. a et b : Appareil musculaire d'un segment abdominal
d'Aeschna cyanea adulte (dissection en vue
de profil ; direction céphalique à gauche)
a : 4ème segment d'une femelle
b : 2ème segment d'un mâle

- a. l. e. arête longitudinale externe du tergite
- a. l. i. arête longitudinale interne du tergite
- a. t. a. s. arête transversale antérieure du sternite
- a. t. a. t. arête transversale antérieure du tergite
- a. t. o. arête transversale orale du tergite
- a. t. p. s. arête transversale postérieure du sternite
- a. t. p. t. arête transversale postérieure du tergite
- b. h. a. base des hameçons antérieurs
- c. a. cadre antérieur
- c. p. cadre postérieur
- h. a. hameçon antérieur
- l. ligule
- l. a. lame antérieure
- l. s. l. m. ligne de suture longitudinale médiane
- p. i. pièce intermédiaire
- S. sternite
- T. tergite
- I - V numéro d'ordre des segments abdominaux
- Ⓘ...Ⓧ numéro d'ordre des muscles





a



b



transversale postérieure du sternite et en avant de l'arête longitudinale interne du tergite et le muscle VIII postérieur qui relie le bord latéral postérieur du sternite à l'arête longitudinale interne du tergite. Entre ces deux muscles, existent quelques faisceaux musculaires tergosternaux qui sont réduits.

Tous ces muscles se retrouvent dans le troisième segment du mâle qui, au point de vue musculature est un segment banal, le pénis ne montrant aucune trace de musculature propre. Par contre, quelques modifications sont apportées à la musculature du deuxième segment mâle (Pl. VII, b). D'abord les muscles intersegmentaires (I, IX, X, II, VII, et III) sont identiques à ceux décrits précédemment à l'exception du muscle III, longitudinal et ventral qui dans le deuxième segment est un muscle puissant et segmentaire, reliant le bord latéral du cadre antérieur, au cadre postérieur. Puis les muscles segmentaires ventrolatéraux (IV et VIII) sont bien développés et s'insèrent respectivement sur la lame antérieure et sur le cadre postérieur. Enfin, à ces muscles, viennent s'ajouter les muscles V et VI également segmentaires et ventro-latéraux s'insérant d'une part sur l'arête transversale antérieure du tergite et d'autre part sur la base de l'hameçon antérieur et sur le bord latéral du cadre antérieur respectivement.

Cette description confirme, à quelques détails près, celles de SCHMIDT (1915), de POONAWALLA (1966) et de PFAU (1971) chez les Aeschnidae dont la musculature serait identique à celle des Gomphidae (POONAWALLA, 1966) et des Libellulidae, les muscles segmentaires ventro-latéraux (IV, V, VI) étant cependant réduits chez cette dernière famille (SCHMIDT, 1915 ; POONAWALLA, 1966).

Pour terminer cette étude anatomique de l'appareil copulateur, nous avons suivi le trajet, d'une part des trachées contenues dans les deuxième et troisième segments du mâle et d'autre part des nerfs issus des deuxième et troisième ganglions abdominaux. Ce dernier travail, effectué par dissection d'imagos d'Aeschna cyanea et d'Anax imperator après coloration vitale au bleu de méthylène stabilisée par le molybdate d'ammonium selon la technique de HOLMES, ne donne qu'un schéma général de l'innervation de l'appareil copulateur et de ses muscles, l'emploi de techniques microscopiques spécialisées permettant seul de préciser le

trajet des différents nerfs. Dans le deuxième segment du mâle (Pl. VIII, a) comme dans tous les autres segments abdominaux, trois paires de gros nerfs s'échappent du ganglion et innervent sternite, tergite et muscles. La seconde paire semble innerver d'une part, les différents sclérites sternaux (hameçons antérieurs, ligule), d'autre part les muscles ventro latéraux V et VI n'existant que dans ce segment ; les autres muscles sont innervés par des ramifications des première et troisième paires de nerfs. L'innervation du troisième segment abdominal (Pl. VIII, b) est celle d'un segment abdominal type. Signalons toutefois que la seconde paire de nerfs envoie vers l'avant une ramification qui pénètre dans le bulbe génital. Ces observations sont totalement en accord avec celles de PFAU (1971) réalisées sur Aeschna cyanea.

Enfin, l'ensemble de l'appareil copulateur est drainé par un réseau de trachées issues essentiellement des troncs trachéens ventraux. Le pénis reçoit pour sa part, un faisceau de trachées qui se ramifient jusqu'à son extrémité; deux d'entre elles, plus grosses, ont pu être suivies jusqu'à l'extrémité distale de l'article intermédiaire (Pl. V, f).

3 - L'ACCOUPLLEMENT

L'accouplement très complexe des Odonates, décrit pour la première fois par le naturaliste REAUMUR constitue en raison notamment de l'étroite spécificité de structure de l'appareil copulateur mâle un excellent mécanisme isolant des espèces (WILLIAMSON, 1906 ; WATSON, 1966).

Il s'effectue en trois étapes. D'abord, à l'aide de ses appendices anaux, le mâle saisit la femelle au vol, par le cou et la tête ; dans un deuxième temps il recourbe son abdomen vers l'avant de façon à amener son orifice génital situé sur le neuvième sternite au contact du pénis porté par le troisième sternite, permettant ainsi le passage rapide dans la vésicule séminale des spermiozeugmes issus du sac spermatique ; enfin, la femelle amène à son tour son extrémité abdominale vers l'avant sous l'abdomen du mâle, en vue de l'intromission de l'appareil copulateur ; les spermatozoïdes peuvent ainsi quitter la vésicule séminale et être recueillis dans la spermathèque de la femelle ; c'est la phase la plus

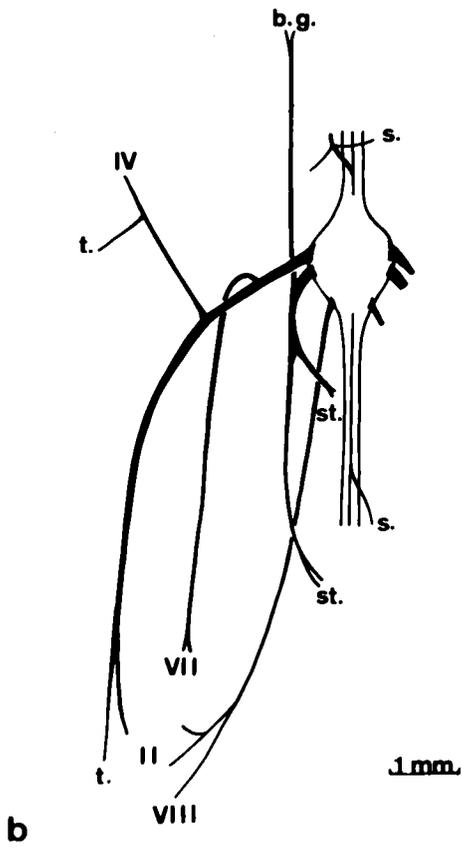
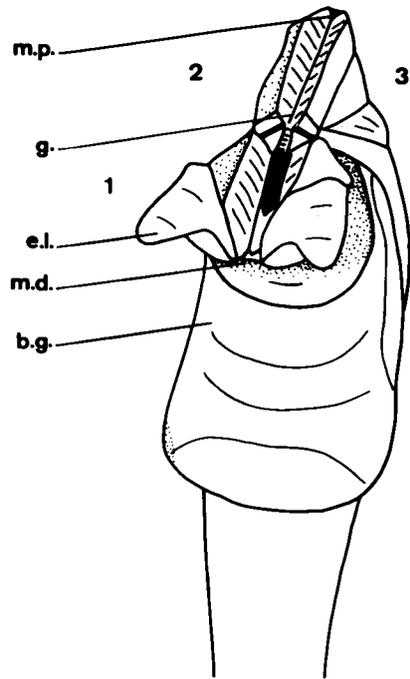
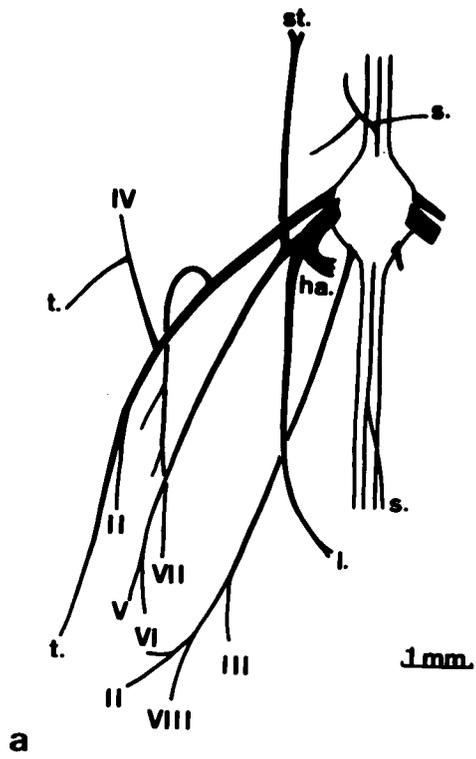
Planche VIII

Fig. a et b : Innervation du 2ème segment (a) et du 3ème segment abdominal (b) de l'adulte mâle d'Aeschna cyanea

b. g. bulbe génital
h. a. hameçon antérieur
l. ligule
s. nerf sympathique
st. sternite
t. tergite
II - VIII numéro d'ordre des muscles

Fig. c : pénis d'Aeschna grandis adulte en turgescence

b. g. bulbe génital
g. gouttière des 2 premiers articles
e. l. excroissance latérale déployée
m. d. méat distal
m. p. méat proximal
1, 2, 3 articles du pénis



longue de l'accouplement qui, d'ailleurs, ne s'effectue pas en vol mais au sol (ROBERT, 1958).

Cet accouplement, s'il est connu de façon générale, pose plusieurs problèmes. L'un d'eux concerne la seconde phase de l'accouplement : le neuvième sternite ne possède pas de dispositif pour maintenir le pénis au contact de l'orifice génital mais seulement deux plaques latérales non armées destinées à protéger la plaque médiane portant l'orifice génital. Celui-ci est donc certainement accolé au méat proximal du pénis, les plaques latérales du neuvième sternite pouvant cependant, selon PFAU (1971), agripper le pénis à la manière d'une paire de pinces. En tout cas, les spermiozeugmes doivent être projetés avec force dans la vésicule séminale située, au moment du transfert, au-dessus du sac spermatique d'ailleurs entouré d'une épaisse couche musculaire. Pour PFAU (1971), ce transfert des spermiozeugmes ne nécessiterait pas un changement de direction du pénis qui resterait sensiblement parallèle à l'axe longitudinal du corps et serait seulement découvert à la suite du retrait vers l'avant de la ligule. Ce retrait serait le résultat de la contraction des muscles VI du deuxième segment abdominal.

Un second problème qui se pose est celui de l'érection du pénis qui doit prendre au moment du coït, une direction sub-perpendiculaire au corps et c'est certainement là le résultat de l'action des muscles II du 2ème segment qui pousseraient le bulbe génital vers l'avant selon POONAWALLA (1966). Cette poussée peut être renforcée à notre avis par la contraction des muscles IV du troisième segment et selon PFAU (1971) par la courbure abdominale qui s'exerce entre les deuxième et troisième segments. De plus, pour ce dernier auteur, la ligule aide le pénis à changer de direction, la contraction des muscles III la faisant pivoter par un mouvement de bascule en direction caudale.

L'érection du pénis n'est pas seulement le résultat d'une contraction musculaire ; c'est aussi l'acquisition d'une turgescence que nous avons fortuitement observée sur un appareil copulateur d'Aeschna grandis au cours de la déshydratation d'une pièce histologique déjà fixée (il semble que la différence de densité entre l'alcool et le liquide aqueux contenu dans le bulbe génital puisse en être rendue responsable).

Le processus de l'érection se manifeste par l'ouverture de la gouttière de l'article intermédiaire du pénis et le déploiement des excroissances latérales normalement repliées contre le gland (Pl. VIII, c) et serait pour KENNEDY (1922) et BORROR (1945), le résultat d'afflux de sang dans le pénis, la cavité de celui-ci étant pour ces auteurs en continuité avec l'hémocoèle. Cette dernière observation n'est plus admise, un diaphragme fibreux isolant la cavité du bulbe génital du reste de l'animal. Pour POONAWALLA (1966), la contraction du muscle II du deuxième segment a pour conséquence, outre le déplacement du bulbe génital, l'irruption de l'hémolymphe en provenance de ce dernier, dans le pénis qui devient ainsi érectile. Il est donc possible que le dressement du pénis ait pour résultat une compression du bulbe génital qui refoule le sang distalement. Mais aucune de ces explications ne rend compte du rôle des "sacs élastiques" décrits par INGENITZKI (1893). PFAU (1970, 1971) semble avoir résolu le problème du mécanisme de l'érection. Selon cet auteurs les "sacs élastiques" forment un organe continu se poursuivant du bulbe génital jusqu'au gland du pénis et appliqué le long de la cuticule de la face ventrale. Le gonflement de cet organe serait assuré par une sécrétion abondante des cellules épidermiques composant sa paroi. Ainsi, le rapprochement des parois dorsale et ventrale du bulbe génital écrasé à la suite de son déplacement au moment du coït augmente sa pression interne. Celle-ci s'exercerait d'une part sur les "sacs élastiques" dont le contenu se déplacerait vers le gland et serait responsable de l'érection, d'autre part, sur la vésicule séminale, provoquant ainsi l'éjaculation.

La coaptation de l'appareil copulateur du mâle et de l'oviscapte de la femelle est un autre aspect de l'accouplement tout aussi complexe que le précédent car elle fait intervenir les différents organes portés par le 2ème segment abdominal mâle. Si tous les auteurs s'accordent à donner aux hameçons antérieurs et postérieurs, respectivement actionnés par les muscles V et VIII, un rôle de préhension des stylets de la femelle, la lame antérieure, la lame batilliforme et les auricules ont une utilisation plus énigmatique. Selon PFAU (1971), la première aiderait au maintien des valves de l'oviscapte enserrées par les hameçons antérieurs, alors que la seconde garnie de nombreuses soies jouerait essentiellement un rôle sensoriel. Enfin, la ligule, protectrice du pénis au repos (THOMPSON, 1908 ; TILLYARD, 1917), "The sheath of the penes"

(CHAO, 1953 ; WALKER, 1953) guiderait le pénis pendant le coït (PFAU, 1971) comme le suggérait déjà FRASER en 1940.

Enfin, outre la coaptation de l'appareil copulateur et de l'oviscapte dans laquelle les excroissances latérales du pénis en érection doivent également jouer un rôle, le mode de passage du sperme du mâle à la femelle pose encore quelques problèmes. Il ne peut être réalisé par projection dans la spermathèque, la vésicule séminale étant dépourvue de muscles et nous pensons qu'il s'effectue simplement par écoulement le long de la gouttière du pénis, jusqu'au gland portant le méat distal, lequel serait accolé à l'orifice génital de la femelle. Les directions opposées de l'oviscapte et du gland, celui-ci pointant vers l'avant, celui-là vers l'arrière, ainsi que la brève durée de cette phase d'accouplement (ROBERT, 1958) sont d'autres arguments en faveur de cette hypothèse. Ainsi les méats proximal et distal joueraient des rôles opposés, le premier étant l'orifice de remplissage de la vésicule séminale, le second ayant l'emploi d'un véritable orifice génital. Ces observations sont tout à fait en accord avec celles de PFAU (1971).

4 - CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE

L'étude anatomique et histologique de l'appareil copulateur des Aeschnidae a permis d'envisager l'utilisation de cet organe au cours de l'accouplement. Le **troisième** sternite abdominal du mâle porte un bulbe génital contenant une vésicule séminale, véritable réservoir pour le sperme qui sera transmis à la femelle par un pénis triarticulé. La coaptation de ce dernier avec l'oviscapte est assurée d'une part par des structures accessoires situées sur le deuxième sternite et d'autre part par des excroissances latérales portées par le pénis et déployées de chaque côté au moment de l'accouplement. Celui-ci s'effectue en vol et nécessite une érection du pénis dont le mécanisme faisant intervenir, les muscles attachés à la base du bulbe génital et les "sacs élastiques" qu'il contient. semble maintenant élucidé (PFAU, 1971).

Ces observations portant sur la morphologie de l'appareil copulateur des Odonates doivent servir de base à la description de la morphogenèse de cet organe au cours de la métamorphose.

DEUXIEME PARTIE

DIFFERENCIATION ET METAMORPHOSE DE L'APPAREIL COPULATEUR

Le développement de l'appareil copulateur s'effectue essentiellement durant la métamorphose à partir d'ébauches présentes au début du dernier stade larvaire. Ce processus, comme tout phénomène de croissance chez les Insectes, doit être soumis à l'interaction de l'hormone de mue et de l'hormone juvénile. Avant d'entreprendre l'étude expérimentale de ce contrôle, il est nécessaire de décrire le déroulement de la morphogénèse de cet appareil.

1 - ETUDE DESCRIPTIVE DE LA METAMORPHOSE DE L'APPAREIL COPULATEUR

La métamorphose de l'appareil copulateur n'a fait l'objet jusqu'à présent que d'une seule étude approfondie menée par BACKHOFF (1910) sur un Zygoptère. Il est cependant difficile de se référer à ce travail en raison des différences de structure profonde qui existent entre l'appareil copulateur de ces deux sous-ordres d'Odonates.

: Technique :

Des coupes transversales sériées des deuxième et troisième sternites abdominaux de larves du dernier stade ont permis de suivre le déroulement chronologique du développement de l'appareil copulateur et d'obtenir des reconstitutions de ce phénomène sous forme de blocs-diagrammes. Des larves d'âge croissant ont été sacrifiées tous les deux jours, 24 heures après avoir été soumises à une injection de colchicine (en solution dans du liquide de Ringer au taux de 50 µg de colchicine par gramme de poids frais), cette injection ayant pour but de bloquer les mitoses en métaphase et d'en faciliter le comptage. Pour corriger les erreurs possibles dues à la fluctuation de la durée du dernier stade qui, dans les conditions optimales d'élevage, est d'environ 24 jours, nous avons utilisé comme repère, la migration du pigment oculaire qui a servi à établir une chronologie de ce stade en huit étapes définies par SCHALLER en 1960 selon le tableau suivant :

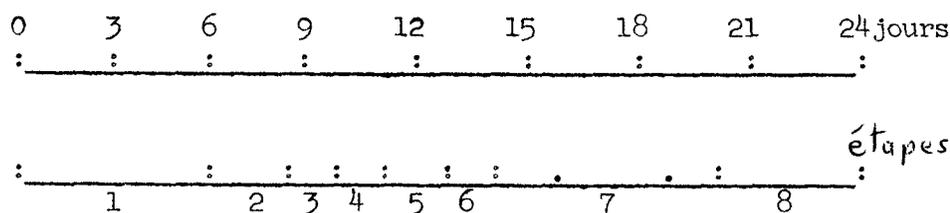


Planche IX

Fig. a - b : Reconstitution topographique des ébauches de l'appareil copulateur d'une larve mâle d'Aeschna cyanea au premier jour du dernier stade.

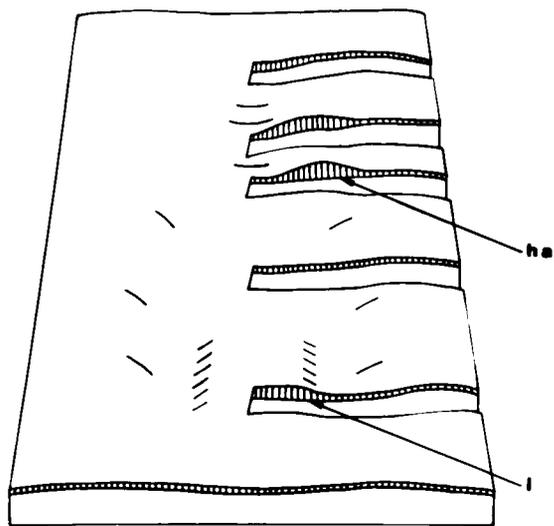
a : second sternite abdominal

b : troisième sternite abdominal

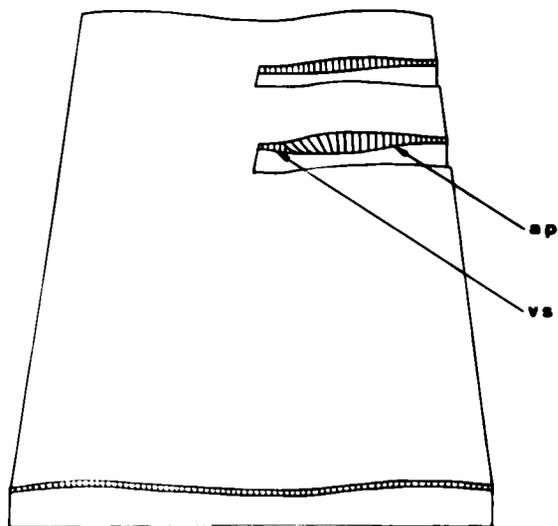
a. p. article du pénis
h. a. hameçon antérieur
l. ligule
v. s. vésicule séminale

Fig. c : Courbe de l'activité mitotique dans les 2ème et 3ème sternites abdominaux des larves mâles d'Aeschna cyanea en fonction de l'âge au dernier stade larvaire.

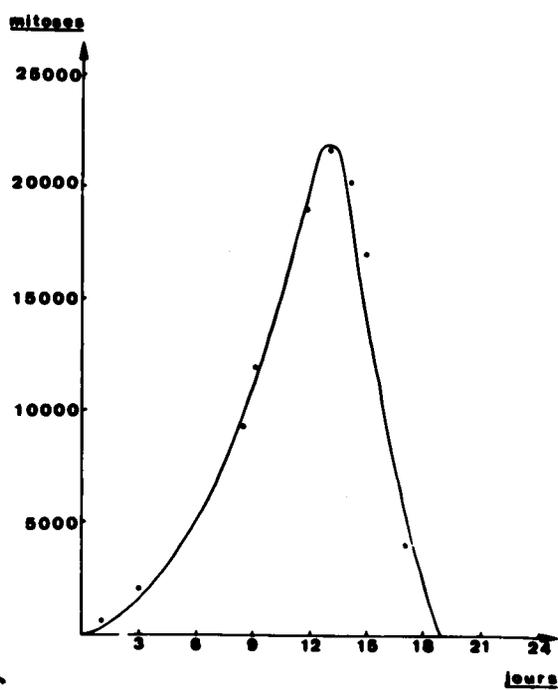




a



b



c



au dix neuvième jour (étape 7 2/3) plus aucune mitose n'est décelée. L'activité mitotique des cellules épidermiques des deuxième et troisième sternites abdominaux se situe donc pendant les deux premiers tiers du dernier stade. Elle peut être comparée à celle d'autres organes d'origine épidermique décrite par SCHALLER (1960) qui note que les ptérothèques sont le siège de mitoses durant les douze premiers jours du dernier stade, alors que la crise mitotique du tergite ne débute qu'au quatorzième jour. Ces grosses différences sont en rapport avec le degré de la métamorphose qui affecte ces tissus, la précocité des mitoses allant de pair avec l'importance de la morphogenèse. On retrouve d'ailleurs ce phénomène à l'intérieur même de l'appareil copulateur dont les mitoses sont plus nombreuses et plus précoces au niveau des ébauches d'organes plus volumineux (pénis, ligule, hameçons).

Enfin, il convient de signaler ici un phénomène très particulier survenant durant la vie imaginale, à savoir la reprise de l'activité mitotique au niveau des deux ébauches des sacs élastiques situées sur les parois latérales du bulbe génital (Pl. VI, d). Cette activité mitotique, observée chez les jeunes imagos semble en relation avec l'entrée de ces dernières en période de maturation post-métabole qui occupe selon HEYMER (1971) le premier tiers de la vie imaginale.

⊕ Décollement cuticulaire

Il se manifeste de manière localisée dès le troisième jour du dernier stade sur les deuxième et troisième sternites, respectivement entre les ébauches des hameçons antérieurs (Pl. XIV, b) et celles des deux premiers articles du pénis (Pl. XV, b). A partir du sixième jour, la cuticule est totalement décollée de l'épiderme des deuxième et troisième sternites, au niveau des ébauches de l'appareil copulateur (Pl. XIV, c ; Pl. XV, c).

Il convient de remarquer que le même phénomène s'effectue au sixième jour au niveau de l'oeil (MOUZE, 1971 a), respectivement aux huitième et douzième jours dans les ptérothèques et le masque, et sur les segments abdominaux au seizième jour selon SCHALLER (1960).

Planche X

Reconstitution topographique du second sternite abdominal de larves mâles d'Aeschna cyanea âgées au dernier stade de 6 j (fig. a), 8 j (fig. b), 12 j (fig. c), 15 j (fig. d)

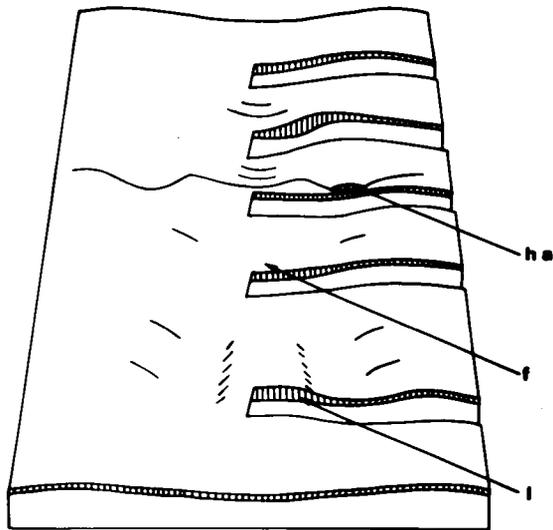
- f. fenêtre
- h. a. hameçon antérieur
- h. p. hameçon postérieur
- l. ligule
- l. a. lame antérieure

Planche XI

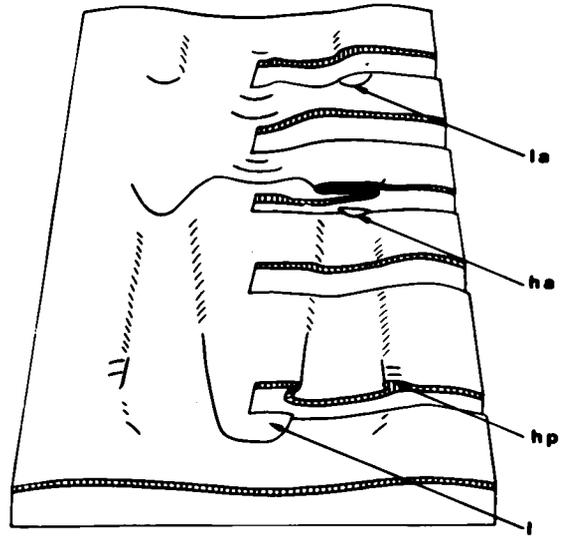
Reconstitution topographique du 3ème sternite abdominal de larves mâles d'Aeschna cyanea âgées au dernier stade de 3 j (fig. a) et 6 j (fig. b et c)

Les figures a et b représentent la topographie en vue externe (vers la surface) ; la figure c en vue interne (vers la cavité abdominale)

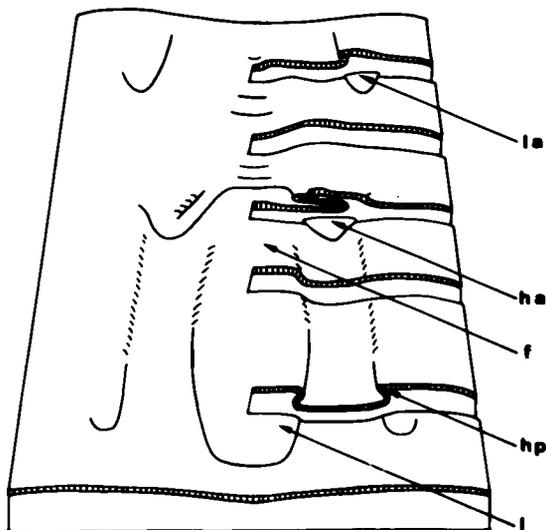
- a. p. 2 premiers articles du pénis
- v. s. vésicule séminale



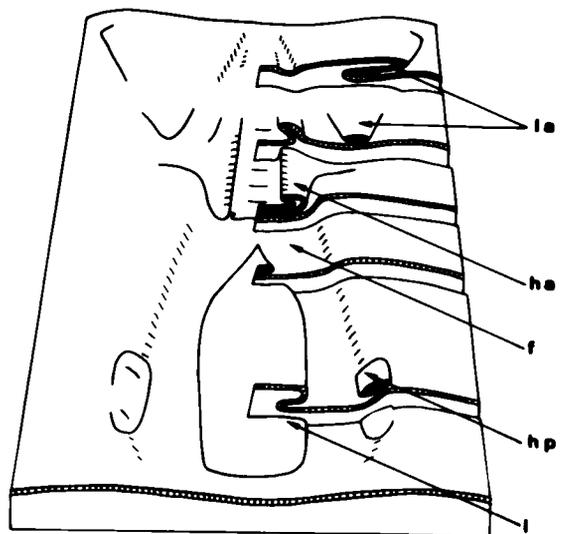
a



b

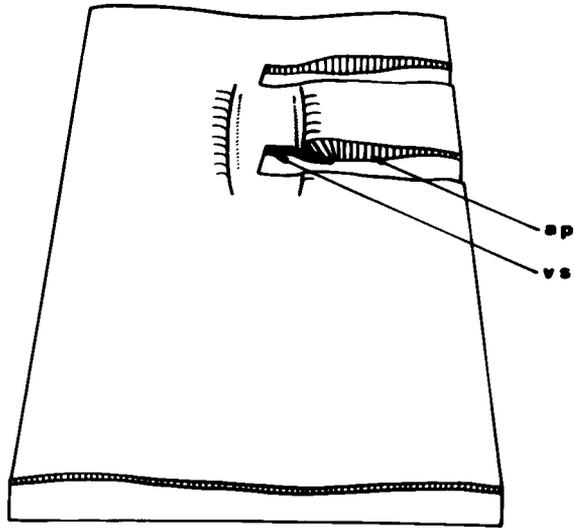


c



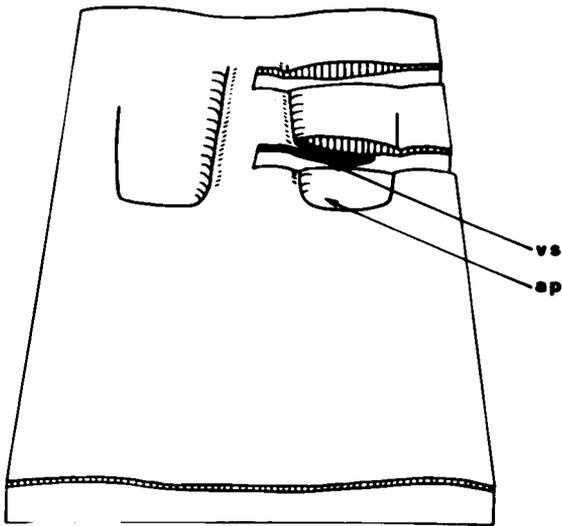
d





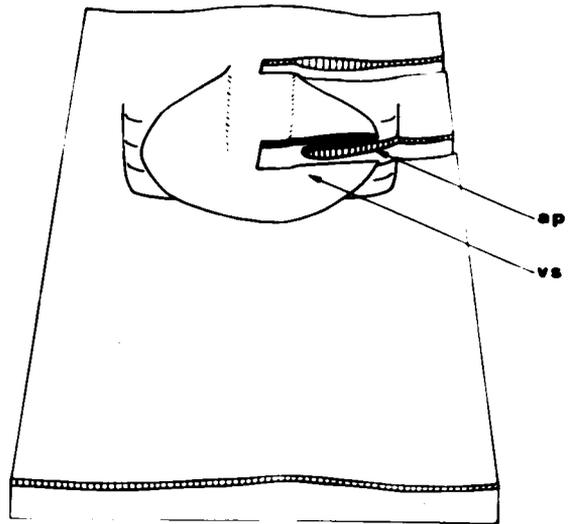
a

0.5 mm



b

0.5 mm



c

0.5 mm



⊕ Mouvements morphogénétiques

Les mouvements morphogénétiques affectant les deuxième et troisième sternites abdominaux au cours du dernier stade larvaire et dont la compréhension est facilitée par l'examen des blocs-diagrammes se déroulent de la manière suivante.

- Au cours des cinq premiers jours, aucun changement ne semble intervenir dans la morphologie du deuxième sternite (Pl. IX, a ; Pl. XIV, a, b et h) et ce n'est qu'au sixième jour que commence la métamorphose (Pl. X). La lame antérieure est le résultat, d'une part de la croissance vers l'arrière de deux bourrelets antérieurs (Pl. XIV, f) bien visibles dès le huitième jour (étape 3), d'autre part de la formation de deux plis latéraux (Pl. XIV, g) apparaissant au quinzisième jour (étape 7 1/4) qui isolent les expansions latérales de la pièce intermédiaire, lieux d'insertion musculaire. Les hameçons antérieurs (Pl. XIV, c et d) prolifèrent également vers l'arrière à partir d'un pli transversal, apparu au sixième jour (étape 2) qui sépare lame antérieure et fenêtre. Enfin au huitième jour (étape 3), puis au douzième jour (étape 5) se détacheront du fond et des bords de la fenêtre, respectivement la ligulé et les hameçons postérieurs (Pl. XIV, i et j).

- Les mouvements morphogénétiques du troisième sternite, plus précoces mais aussi plus complexes, commencent dès le troisième jour (Pl. XI, XII, XIII). Deux plis longitudinaux apparus dans la partie antérieure sont à l'origine, vers l'intérieur de la cavité abdominale, de la vésicule séminale et, vers la surface, des deux premiers articles du pénis (Pl. XV, c et d). Ceux-ci sont ébauchés dès le sixième jour (étape 2), grâce à un pincement latéral qui tend à soulever les deux plis déjà nommés au-dessus de la vésicule séminale. Ce mouvement s'étend et s'accroît en direction postérieure (8ème jour, étape 3) jusqu'à former deux sortes de tubes reliés entre eux sur la ligne médiane au niveau de la gouttière longitudinale caractéristique du pénis et dont les extrémités s'écartent au niveau du méat distal. En même temps, apparaît un épaississement postérieur, premier signe de la formation du bulbe génital (Pl. XV, e et f). Ce dernier qui est le résultat d'un repli de l'épiderme progressant en direction antérieure et débordant latéralement l'ébauche du pénis, recouvrira d'arrière en avant puis englobera la vésicule séminale entre le douzième (étape 5) et le dix-neuvième jour (étape 7 2/3). C'est également pendant cette période que s'ébauche et se pédiculise

Planche XII

Reconstitution topographique du 3ème sternite abdominal de larves mâles d'Aeschna cyanea âgées au dernier stade de 8 j (fig. a et b) et 12 j (fig. c et d)

Les figures a et c représentent la topographie en vue externe (vers la surface) ; les figures b et d en vue interne (vers la cavité abdominale)

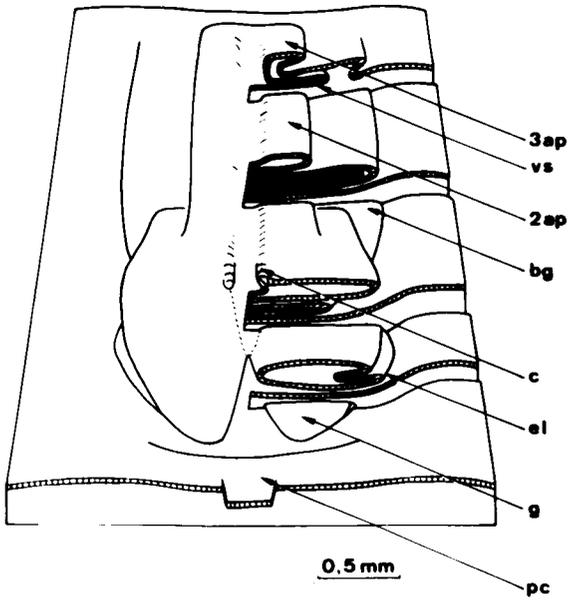
- a. p. 2 premiers articles du pénis
- b. g. bulbe génital
- v. s. vésicule séminale

Planche XIII

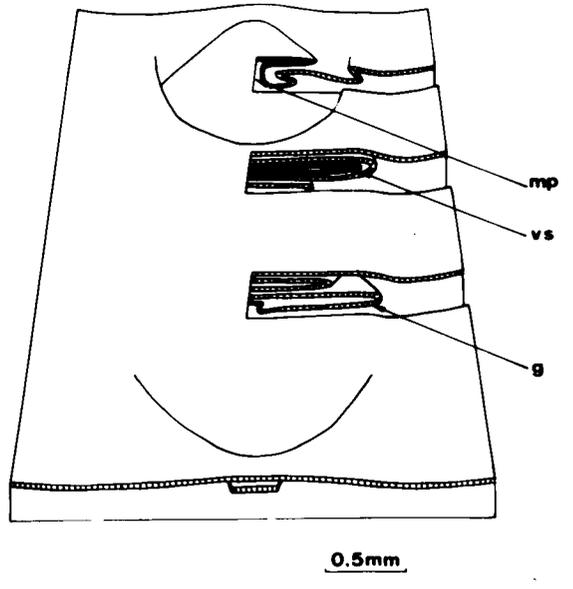
Reconstitution topographique du 3ème sternite abdominal de larves mâles d'Aeschna cyanea âgées au dernier stade de 15 j (fig. a et b) et 19 j (fig. c et d)

Les figures a et c représentent la topographie en vue externe (vers la surface) , les figures b et d en vue interne (vers la cavité abdominale)

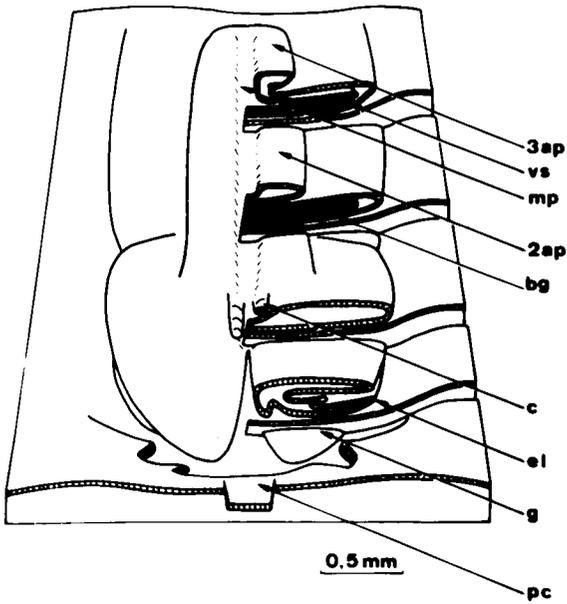
- 2 a. p. 2ème article du pénis
- 3 a. p. 3ème article du pénis
- b. g. bulbe génital
- c. corne du gland
- e. l. excroissance latérale du gland
- g. gland du pénis
- m. p. méat proximal
- p. c. processus caudal
- v. s. vésicule séminale



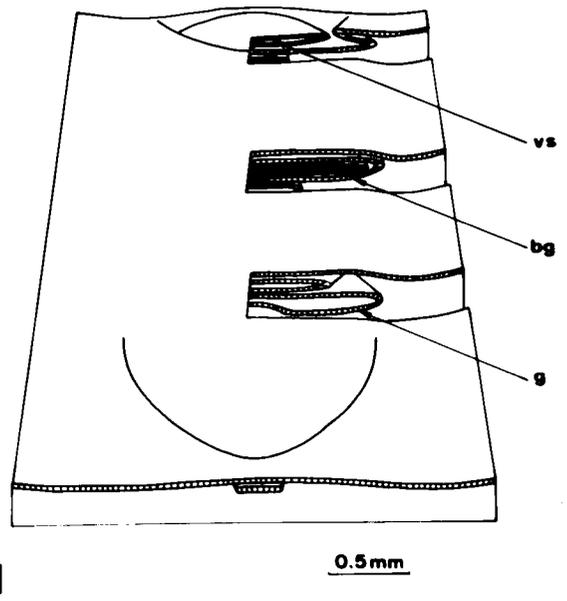
a



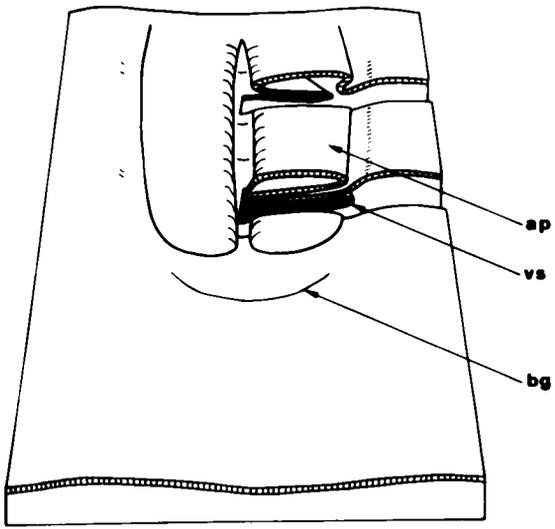
b



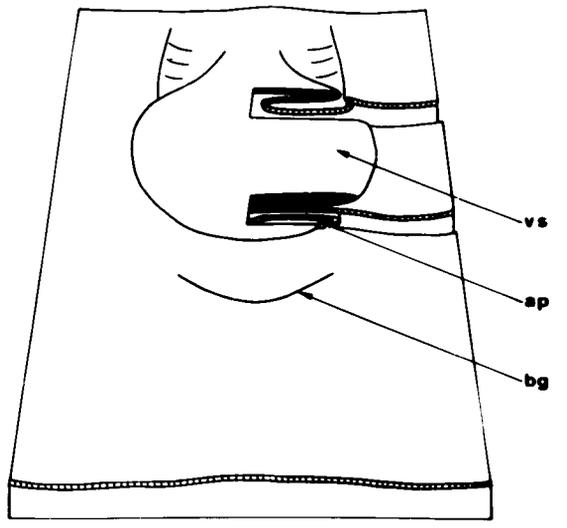
c



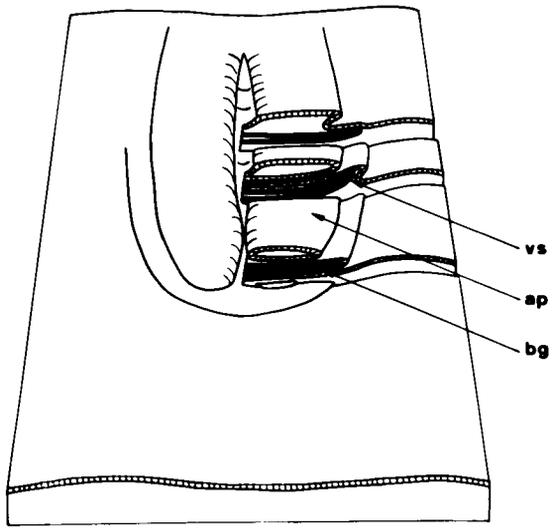
d



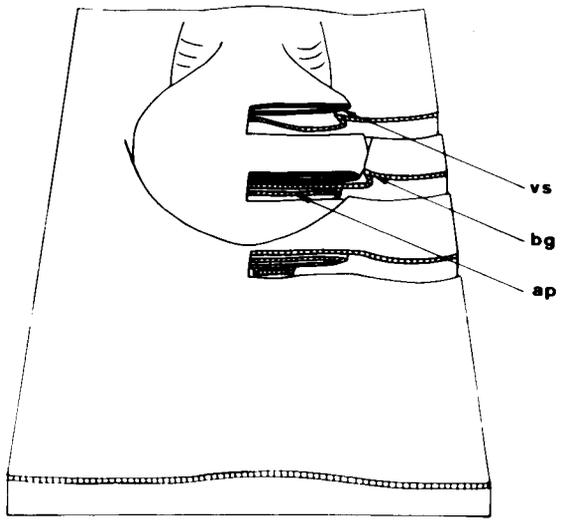
a



b



c



d

en avant du bulbe génital, le troisième article du pénis portant le méat proximal (Pl. XV, f). Enfin, à la croissance des deux premiers articles du pénis qui se poursuit jusqu'au douzième jour (étape 5), succèdent l'allongement et la différenciation de l'article distal en un gland (Pl. XV, g et h) qui pénètre dans une poche formée par un repli de la partie postérieure du troisième sternite, lequel se termine dès le quinzième jour (étape 7 1/4) par l'ébauche du processus caudal.

Il faut remarquer que ces mouvements morphogénétiques sont le résultat de deux processus différents : une multiplication localisée des cellules épidermiques puis un "desserrement" de ces cellules. Ainsi, au quinzième jour (étape 7 1/4) les mitoses sont rares dans les ébauches des hameçons, de la ligule et des deux premiers articles du pénis, alors qu'une importante croissance affecte ces parties (ceci est particulièrement bien visible dans le cas de l'allongement et de la différenciation du gland du pénis).

⊕ Sécrétion de la nouvelle cuticule

Dès le quinzième jour, apparaît la nouvelle cuticule garnie d'épines sur le gland du pénis (Pl. XV, i et j), hérissée de soies sur les hameçons (Pl. XIV, e). SCHALLER (1960) avait précédemment noté la présence de poils et de tubercules sur le tergite au seizième jour, la sclérification s'effectuant pendant les cinq derniers jours du dernier stade.

Conclusion

La morphogenèse de l'appareil copulateur est le résultat de mouvements morphogénétiques se déroulant au dernier stade larvaire après décollement cuticulaire, multiplication cellulaire et extension du tégument mais débutant à des moments variés au cours de ce stade selon l'organe considéré. Ainsi, les deux premiers articles du pénis ébauchés dès le premier jour croissent par multiplication cellulaire à la suite d'un décollement précoce survenu au troisième jour et se différencient, une fois les mitoses terminées, dès le douzième jour, date à laquelle commence seulement la morphogenèse du bulbe génital. On retrouve donc localement les mêmes différences dans la chronologie du développement

Planche XIV

Coupes transversales à différents niveaux du 2ème sternite abdominal de larves mâles d'Aeschna cyanea du dernier stade

Fig. a, b, c, d : (G x 50) Ebauches des hameçons antérieurs sur des larves âgées de 1 j (fig. a), 3 j (fig. b) 8 j (fig. c), 15 j (fig. d)

Fig. e : (G x 500) Détail des hameçons antérieurs de larves âgées de 15 j montrant la sécrétion des soies (flèches)

Fig. f - g : (G x 50) Ebauches de la lame antérieure sur des larves âgées de 12 j (fig. f) et 15 j (fig. g)

Les coupes représentées fig. f et g ont été réalisées à des niveaux différents des ébauches de la lame antérieure, à un niveau postérieur (fig. f), à un niveau antérieur (fig. g)

Fig. h, i, j (G x 50) Ebauches de la ligule (l.) et des hameçons postérieurs (h.p.) sur des larves âgées de 1 j (fig. h), 12 j (fig. i), et 15 j (fig. j)





a



b



c



d



e



f



g



h



i



j



Planche XV

Coupes transversales à différents niveaux du 3ème sternite abdominal de larves mâles d'Aeschna cyanea âgées au dernier stade de 1 j (fig. a), 3 j (fig. b), 5 j (fig. c), 8 j (fig. d), 12 j (fig. e), 15 j (fig. f, g, h, i, j)

Fig. a, b, c, d, e : (G x 70) formation progressive de la vésicule séminale (v. s.) et des 2 premiers articles du pénis (a. p.) après un décollement cuticulaire localisé à 3 j (flèche, fig. b) et général à 5 j (fig. c)

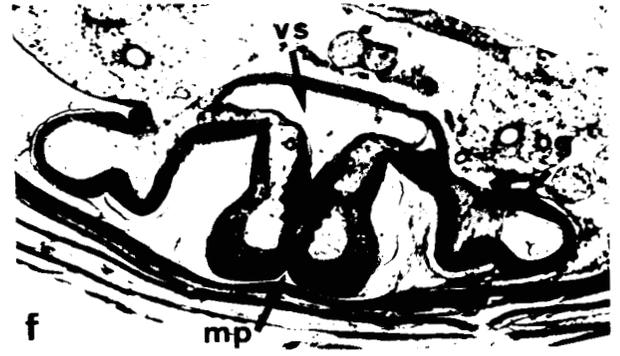
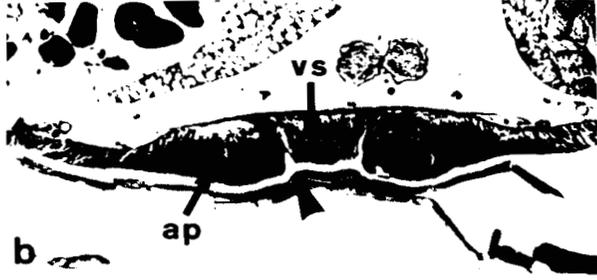
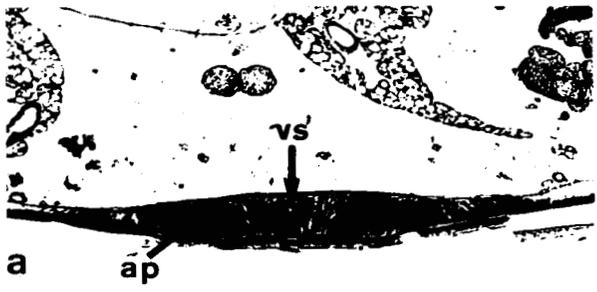
Fig. e, f : (G x 50) formation du bulbe génital (b. g.) et du 3ème article du pénis portant le méat proximal (m. p.)

Fig. g, h : (G x 50) différenciation à 15 j de l'article distal du pénis ou gland

Fig. i, j : (G x 800) sécrétion de la cuticule imaginaire sur le gland du pénis : petites épines, face interne de la gouttière (fig. i), fortes épines sur les excroissances latérales (fig. j)

a. p.	2 premiers articles du pénis
b.	bouclier du gland
b. g.	bulbe génital
c.	corne du gland
e. l.	excroissance latérale du gland
m. p.	méat proximal
v. s.	vésicule séminale





que celles rencontrées dans l'animal entier.

Si le contrôle de la métamorphose des Insectes par l'hormone de mue et l'hormone des corps allates est désormais une donnée classique, son action aux niveaux tissulaire et cellulaire fait actuellement l'objet de très nombreuses recherches. L'appareil copulateur des Odonates caractérisé par une gamme variée d'évènements physiologiques au cours de son développement (mitoses, morphogenèse, mue) semble un organe cible favorable à ces recherches.

2 - ETUDE EXPERIMENTALE DE LA METAMORPHOSE DE L'APPAREIL COPULATEUR

L'une des méthodes d'étude d'un effet hormonal consiste à supprimer la source de l'hormone responsable de cet effet. C'est ce qui a été réalisé par l'ablation des glandes de mue en ce qui concerne l'ecdysone. L'extirpation des corps allates n'étant techniquement pas réalisable chez les Odonates, nous avons procédé par injection d'un mimétique de l'hormone juvénile à des larves du dernier stade chez lesquelles cette hormone est censée disparaître complètement.

a - Effets de l'ablation des glandes de mue

Nous avons vu précédemment que la morphogenèse de l'appareil copulateur d'Aeschna cyanea dépendait étroitement des processus de mue affectant l'épiderme en général : crise mitotique, décollement cuticulaire et synthèse de nouvelle cuticule. Le rôle de l'hormone de mue sur chacun de ces phénomènes a déjà fait l'objet de nombreux travaux : action de l'ecdysone sur la synthèse du DNA des cellules épidermiques (KRISHNAKUMARAN et coll., 1967), sur l'apolyse et la sécrétion de nouvelle cuticule (WILLIAMS, 1968), et enfin sur les mouvements morphogénétiques, en particulier ceux des disques imaginaires, de Galleria mellonella par exemple (OBERLANDER, 1969 a-b). L'obtention par SCHALLER (1960) de larves permanentes après ablation totale des glandes de mue ou glandes ventrales étant un fait spécifique aux Odonates (HERMAN, 1967), il semblait intéressant d'utiliser de nouveau cette technique opératoire pour déterminer le rôle de l'ecdysone dans la métamorphose de l'appareil copulateur. Nous avons donc, en collaboration avec Monsieur le Professeur SCHALLER, repris les expériences de ventralectomie et entrepris sur les larves permanentes l'étude histologique de l'épiderme des deuxième et troisième sternites.

Technique opératoire

Des larves d'Aeschna cyanea, élevées dans des conditions empêchant toute diapause, ont subi l'ablation des glandes de mue selon la technique déjà décrite par SCHALLER (1960). L'opération, effectuée sur des larves du dernier stade le jour même ou le lendemain de la mue, empêche toute nouvelle exuviation lorsque l'ablation a été complète (un contrôle histologique a permis de vérifier la réussite de l'intervention chirurgicale). Les larves permanentes, après avoir été soumises à l'action de la colchicine pendant 24 heures, ont été sacrifiées à des intervalles variés après que les témoins aient subi leur mue. Nous avons effectué l'étude histologique de cinq larves permanentes, trois d'entre elles âgées de cinquante jours, les deux autres ayant respectivement atteint quatre vingt quatre et cent deux jours.

Résultats

L'appareil copulateur des larves permanentes ne se métamorphose pas. Le deuxième sternite (Pl. XVI, a ; Pl. XVII, a) a exactement le même aspect que celui décrit pendant les cinq premiers jours du dernier stade normal. Si aucune mitose n'est décelée, un léger décollement cuticulaire a cependant été amorcé, prélude au creusement de la gouttière en avant des ébauches des hameçons antérieurs qui normalement est visible au troisième jour chez les larves témoins. Le décollement localisé de la cuticule du troisième sternite est plus important, notamment au niveau de l'ébauche de la vésicule séminale et de part et d'autre des bourrelets à l'origine des deux premiers articles du pénis. Il en est résulté une extension de la vésicule séminale (Pl. XVI, b et c ; Pl. XVII, b) telle qu'on l'observe normalement au sixième jour du développement (étape 2).

La morphogenèse de l'appareil copulateur des larves permanentes a donc été interrompue dans ses toutes premières manifestations et les ébauches ne dépassent guère le degré de développement décrit au sixième jour du dernier stade. L'absence de l'hormone de mue semble donc empêcher les multiplications cellulaires, le décollement cuticulaire et la morphogenèse de l'appareil copulateur.

Chez les mêmes larves permanentes, SCHALLER (1960) signale le blocage de la crise mitotique déjà amorcée dans les ptérothèques et

Planche XVI

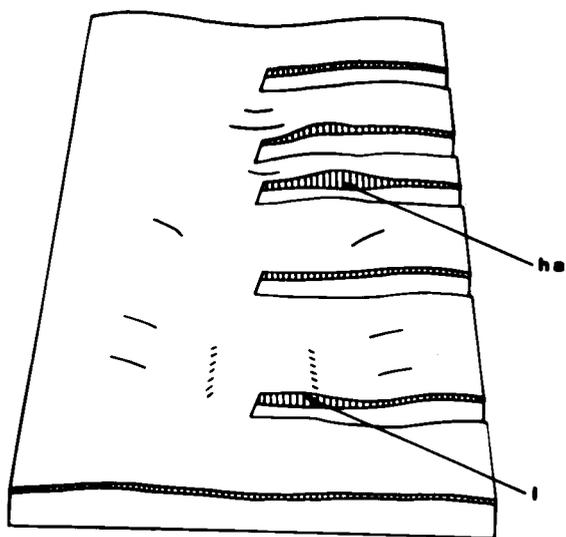
Reconstitution topographique des 2ème (fig. a) et 3ème (fig. b et c) sternites abdominaux d'une larve permanente

Les figures a et b représentent la topographie en vue externe (vers la surface), la figure c en vue interne (vers la cavité abdominale)

Comparer avec les planches IX, X et XI

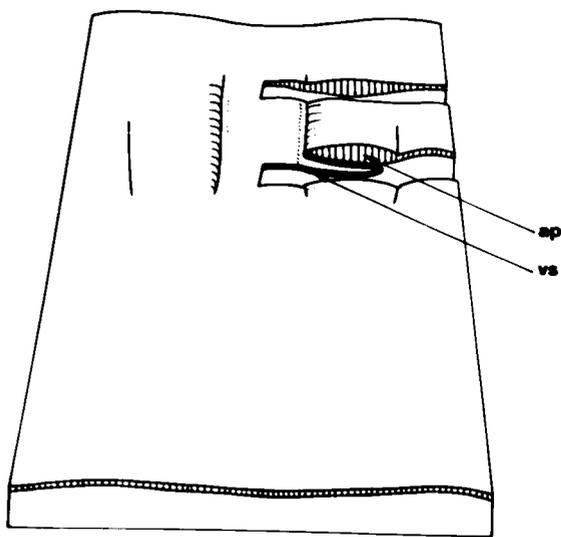
a. p.	2 premiers articles du pénis
h. a.	hameçons antérieurs
l.	ligule
v. s.	vésicule séminale





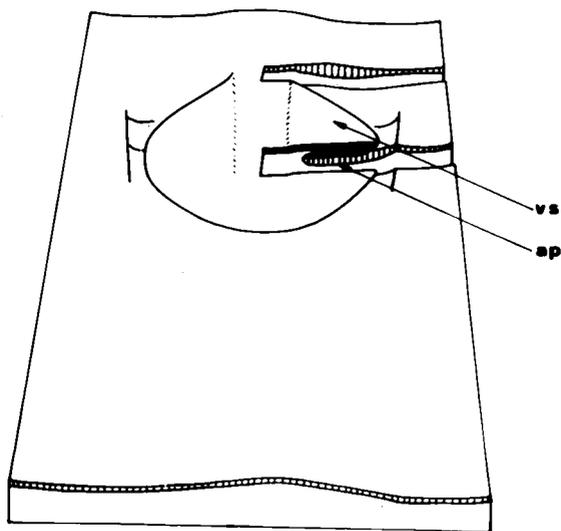
a

0.5 mm



b

0.5 mm



c

0.5 mm



l'absence totale de celle du tégument. SCHALLER et ANDRIES (1970) montrent la baisse du taux mitotique et l'absence de différenciation cellulaire imaginaire dans les nids de régénération de l'intestin moyen. Par contre, l'absence d'hormone de mue n'empêche pas la croissance et la différenciation de l'oeil et du lobe optique à partir de massifs d'accroissement à activité mitotique permanente, les perturbations de la croissance oculaire n'étant dues qu'à l'absence de décollement cuticulaire (MOUZE et SCHALLER, 1971).

Enfin il faut remarquer que l'épiderme des larves permanentes poursuit sa sécrétion d'endocuticule qui continue à se déposer et remplit les cavités creusées par le décollement cuticulaire précoce au niveau de l'appareil copulateur (Pl. XVII, a et b), confirmant ainsi les observations de SCHALLER (1960) sur la cuticule des larves permanentes.

Discussion

Nous tenterons à la lumière des recherches récentes, d'interpréter nos propres résultats d'ablation des glandes ventrales dans leurs répercussions sur la métamorphose de l'appareil copulateur. Deux aspects seront abordés dans cette discussion, d'une part la réponse à l'ecdysone de l'organe cible que constitue l'appareil copulateur, d'autre part, le taux d'ecdysone pouvant subsister chez les larves permanentes.

a - Réponse des tissus cibles à l'ecdysone

. Les multiplications cellulaires

Pour se multiplier les cellules épidermiques composant l'appareil copulateur semblent nécessiter la présence de l'hormone des glandes de mue. Cette action de l'ecdysone sur les cellules épidermiques est maintenant une donnée classique : l'épiderme croît par crises mitotiques déclenchées par l'ecdysone qui est responsable des synthèses de RNA, de DNA et des protéines (BERREUR, 1965 ; BERRY et coll., 1967 ; KRISHNAKUMARAN et coll., 1967 ; NEUFELD et coll., 1968 ; SAHOTA et MANSINGH, 1970). La multiplication des cellules d'autres tissus d'Insectes nécessite également la présence de l'ecdysone : par exemple, les disques imaginaires ont une croissance continue indépendante du cycle de mue mais nécessitant un apport constant de cette hormone (BODENSTEIN, 1957).

Par contre, les hémocytes (KRISHNAKUMARAN et coll., 1967 ; HOFFMAN, 1970), certains muscles (KRISHNAKUMARAN et coll., 1967), les gonades (STRICH-HALEWACHS, 1959 ; KRISHNAKUMARAN et coll., 1967), le corps gras (WIGGLESWORTH, 1963 a), les nids de régénération de l'intestin moyen (BERREUR, 1965 ; KRISHNAKUMARAN et coll., 1967 ; SCHALLER et ANDRIES, 1970) et les massifs d'accroissement de l'oeil et du ganglion optique des Odonates (MOUZE et SCHALLER, 1971) ont une activité mitotique indépendante de l'hormone de mue (dans les deux derniers cas, intestin et oeil, l'ecdysone augmente cependant l'activité mitotique permanente de ces deux organes). L'action de l'ecdysone semble donc modulée par une sensibilité plus ou moins grande des tissus. Nous avons vu que les crises mitotiques dans l'épiderme des Odonates sont échelonnées dans le temps au cours du dernier stade larvaire. La même observation a été faite chez des Lépidoptères par KRISHNAKUMARAN et coll. (1967) et chez des Coléoptères par ROMER (1969) qui va même jusqu'à supposer l'existence d'un facteur supplémentaire qui, au niveau de chaque tissu, régit une sensibilité propre à l'ecdysone. Cette hypothèse rejoint celle de WIGGLESWORTH (1963 a) qui attribue à l'ecdysone un rôle d'activation des cellules épidermiques, lesquelles répondant selon leur "modèle de différenciation" (par exemple, les mitoses rétablissent la densité cellulaire dans l'épiderme distendu de l'Insecte venant de s'alimenter). Ainsi l'ecdysone n'aurait pas un rôle direct sur la synthèse du DNA et pour KRISHNAKUMARAN et coll. (1967), l'effet primaire de l'ecdysone est la synthèse du nouveau RNA ou l'activation du RNA existant. De même l'action rapide de l'ecdysone sur les chromosomes, directement (KARLSON et SEKERIS, 1966 ; CLEVER et ROMBALL, 1966) ou par l'intermédiaire de la balance ionique (KROEGER, 1966), résulte en synthèses de mRNA et de protéines.

Enfin, il convient de rappeler ici la reprise de l'activité mitotique dans les ébauches des sacs élastiques du bulbe génital, chez l'adulte en train d'acquérir sa maturité sexuelle. Cette multiplication cellulaire semble s'effectuer en l'absence d'ecdysone car les glandes ventrales des Odonates dégénèrent quelques heures après la mue imaginale et ont totalement disparu quatre jours plus tard (PFLUGFELDER, 1947 ; ARVY et GABE, 1953 ; SCHALLER, 1960 ; GILLOTT, 1969). Cependant, si on se réfère aux travaux de FEIR et WINCKLER (1969) chez Oncopeltus, de BOOHAR et BUCKLIN (1963) chez Melanoplus et surtout de KARLSON et MENENDEZ

(1956) chez Bombyx, il semble que l'hémolymphe des insectes adultes contient encore de l'ecdysone longtemps après la dégénérescence des glandes de mue.

. Les mouvements morphogénétiques

L'interruption de la morphogenèse de l'appareil copulateur des larves permanentes peut s'expliquer par l'arrêt de l'activité mitotique. Cependant, les mouvements morphogénétiques semblent directement tributaires de l'ecdysone. Celle-ci stimule, par exemple, la mobilité cellulaire in vitro (JUDY, 1969 ; REINECKE et ROBBINS, 1971) et l'évagination du disque imaginal de patte de Diptère transplanté "en surface" (BHASKARAN et SIVASUBRAMANIAN, 1969). De même, l'ecdysone est nécessaire à la morphogenèse in vitro d'une part, des disques alaires de Galleria, à leur élongation et à la croissance des trachées (OBERLANDER, 1969 a-b), d'autre part à celle de l'ébauche de l'appareil génital femelle de Tenebrio (HUET, 1971). Enfin, la régénération des disques alaires de Galleria nécessite de faibles doses d'ecdysone (MADHAVAN et SCHNEIDERMAN, 1969) à l'inverse de celle des appendices des embryons de Blabera cultivés in vitro (BULLIERE et BULLIERE, 1970-1971). Il est évidemment difficile de dissocier dans ces derniers résultats le rôle de l'ecdysone sur les synthèses de DNA, de celui sur la morphogenèse proprement dite. Cependant, OBERLANDER (1969 b) distingue des réponses différentes des disques alaires de Galleria in vitro, selon les doses d'ecdystérone et d'ecdysone ajoutées au milieu de culture et conclut que la migration trachéenne, l'élongation des disques et la synthèse de DNA ont des besoins propres en ecdysone, l'ecdystérone ayant une action différente à la même concentration ; cette dernière observation fut confirmée par REINECKE et ROBBINS (1971).

. Décollement et dépôt de la cuticule

La ventralectomie, en bloquant le cycle de mue, maintient les larves permanentes perpétuellement en intermue ce qui permet la poursuite du dépôt de l'endocuticule. Le déclenchement de la mue par l'ecdysone est maintenant une donnée classique : l'injection de fortes doses d'ecdysone dans des pupes en diapause inhibe le développement adulte et provoque le dépôt prématuré de la cuticule, les adultes obtenus présentant alors des caractères pupaux (WILLIAMS, 1968 ; KOBAYASHI et coll., 1967).

Les mêmes injections stimulent la sécrétion cuticulaire des disques imaginaires de Galleria en régénération (MADHAVAN et SCHNEIDERMAN, 1969) et de ceux de Drosophila cultivés in vivo dans la cavité abdominale d'un adulte (POSTLETHWAIT et SCHNEIDERMAN, 1968). De même, l'adjonction d'ecdystérone au milieu de culture d'explants épidermiques (AGUI et coll., 1969) ou de régénérats de pattes (MARKS et LEOPOLD, 1970-1971) déclenche la mue, à savoir, l'apolyse et la sécrétion de la nouvelle cuticule.

Cependant, le contrôle de l'apolyse et du dépôt de la nouvelle cuticule qui est de structure très hétérogène est certainement très complexe et ne doit pas se résoudre à la seule action d'une forte dose d'ecdysone. Le dépôt de cire par exemple, nécessiterait la présence du cerveau, des corps cardiaques et allates, des glandes de mue et peut être même du ganglion sous oesophagien (LOCKE, 1965) alors que le tannage serait contrôlé par une hormone cérébrale, la bursicone (FRAENKEL et HSIAO, 1965).

Il faut enfin noter le dépôt ininterrompu d'endocuticule par les cellules épidermiques des larves permanentes. Ce dépôt ne semble pas nécessiter la présence des glandes de mue et pourrait s'effectuer à partir de mRNA à longue vie existant avant la ventralectomie (BERRY et coll. 1967 démontre qu'il existe encore des synthèses de protéines 26 jours après le blocage des synthèses de mRNA dans des pupes en diapause de Lépidoptères)→. Cette synthèse cuticulaire permanente ne semble guère s'accommoder avec l'hypothèse de LOCKE (1970 b) qui attribuerait, à une structure particulière de la glande de mue de Calpodes, le rôle du contrôle de ces synthèses en présence du cerveau, alors que pour RINTER-KNECHT (1967) le dépôt d'endocuticule est une propriété intrinsèque des cellules épidermiques de Locusta et que VINCENT (1971) chez la même espèce et FOGAL et FRAENKEL (1969) chez la Blatte pensent que ce dépôt pourrait être contrôlé par la bursicone.

. Taux d'ecdysone dans les larves permanentes

Selon SCHNEIDERMAN et GILBERT (1964) les glandes de mue, maintenues en activité permanente par l'hormone juvénile, sont périodiquement suractivées par l'hormone cérébrale, ce qui déclenche la mue. Pour CLARKE et LANGLEY (1963), cette action cérébrale se manifeste dans les glandes de mue, à la fois par la multiplication cellulaire et la

secrétion d'hormone qui seraient concomitantes. Par contre, NAISSÉ (1966) voit dans les multiplications cellulaires de la glande de mue, l'achèvement de la période de sécrétion à la fin de l'intermue. Chez les Odonates, l'activité mitotique est intense dans les glandes ventrales quelques heures avant la mue et au début de l'intermue (SCHALLER, 1960 ; MOUZE, 1971) et semble précéder la reprise de production de l'hormone de mue, mais il n'est pas certain qu'aucune sécrétion n'ait eu lieu avant la ventralectomie le jour ou le lendemain de la mue.

Cependant, OHTAKI et coll. (1968-1970), BERREUR et FRAENKEL (1969), KARLSON et BODE (1969) et CHERBAS et CHERBAS (1970) ont montré l'inactivation très rapide, en quelques heures, d'ecdysone injectée. Cette élimination s'accorde pourtant assez mal avec l'obtention de régénérations partielles dans les disques imaginaires de larves de Galleria ligaturées depuis dix jours (MADHAVAN et SCHNEIDERMAN, 1969) et avec l'extraction de quantités parfois importantes d'ecdysone à partir de l'hémolymphe d'adultes, longtemps après la dégénérescence des glandes de mue (KARLSON et STAMM-MENENDEZ, 1956 ; FEIR et WINCKLER, 1969). Une explication possible de ces résultats peut être donnée en supposant l'existence d'autres organes capables de sécréter l'ecdysone. Si l'ultrastructure des glandes de mue semble en rapport avec la sécrétion cyclique des stéroïdes (FAIN-MAUREL et CASSIER, 1968 ; LOCKE, 1970 b ; ROMER, 1971 a) bien que JOLY L. et coll. (1969) y voit plutôt les indices d'une possible sécrétion protéique, une structure semblable a été décrite dans les oenocytes. LOCKE (1969-1970 b) distingue chez Calpodes deux sortes d'oenocytes pouvant sécréter des stéroïdes, les uns à activité cyclique liée à la mue, les autres semblant plutôt impliqués dans les synthèses d'intermue, alors que chez la même espèce WEIR (1970) attribue à ces cellules un rôle possible dans la mue. WIGGLESWORTH (1970), chez Rhodnius, réfute totalement cette hypothèse, les oenocytes produisant selon lui, les précurseurs de la synthèse de cuticuline et RINTERNECHT et coll. (1969) rapportent la complexité ultrastructurale de ces cellules chez Locusta, dénotant des fonctions métaboliques multiples. Enfin, la nymphose et le développement adulte d'abdomens larvaires isolés de Bombyx mori (BOUHNIOU, 1952) et de Tenebrio molitor (STELLWAG-KITTLER, 1954) ont incité ROMER (1971 b) à tester l'activité hormonale possible des gros oenocytes de cette dernière espèce. Selon cet auteur ces cellules assurent l'élaboration

de l'hormone de mue, seules chez la nymphe, à l'aide des glandes de mue chez la larve.

Conclusion

La ventralectomie au début du dernier stade larvaire d'Aeschna cyanea a interrompu le décollement cuticulaire, les multiplications cellulaires et la morphogénèse de l'appareil copulateur. Ces trois processus de métamorphose une fois ébauchés, leur poursuite semble exiger la présence des glandes de mue pendant encore un certain temps qui n'a pas été déterminé. On peut penser qu'une dose assez forte d'hormone de mue est nécessaire à la métamorphose. Sa présence au début du stade la déclenche ; son catabolisme rapide, en l'absence de nouvelle sécrétion après l'ablation des glandes ventrales, serait responsable du blocage du développement. Cependant, la diversité des phénomènes qui composent cette métamorphose est telle qu'il paraît trop schématique d'en attribuer le contrôle à une simple question de dose d'hormone. Il semble d'ailleurs maintenant acquis que l'action de l'ecdysone est plus le résultat d'une sommation temporelle de ses effets, que de celui de sa concentration (OHTAKI et coll., 1968 ; POSTLETHWAIT et SCHNEIDERMAN, 1968 ; BERREUR ET FRAENKEL, 1969 ; FRAENKEL et ZDAREK, 1970). Il faut également souligner les résultats d'OBERLANDER (1969 a-b) et de REINECKE et ROBBINS (1971) qui dissocient in vitro les effets de l' α ecdysone de ceux de la β ecdysone (ecdystérone) selon les doses employées. L'hormone des glandes ventrales ne semble pas intervenir dans le contrôle du dépôt de l'endocuticule, ininterrompu chez les larves permanentes, ni dans celui de la morphogénèse des sacs élastiques se réalisant chez l'adulte en maturation. Ces deux derniers résultats pourraient s'expliquer en supposant l'existence chez les larves permanentes et chez les imagos d'organes, autres que les glandes ventrales, capables de produire l'hormone de mue. Nous rejoignons là les conclusions de LOCKE (1970 a-b) rappelant, d'une part la structure des oenocytes et, d'autre part, les nombreux exemples de métabolisme protéique (vitellus-corps gras..) contrôlés par le cerveau et les corps allates. En conclusion, l'ablation des glandes de mue bloque chez les Odonates les processus de mue et de métamorphose de l'épiderme, mais ne semble avoir aucun effet sur certaines synthèses d'intermue. Il paraît donc difficile d'expliquer le comportement

des larves permanentes, de nombreux problèmes tels l'origine de l'hormone de mue, la diversité des effets selon la nature et la dose des ecdysones employées et selon le tissu cible considéré, restant encore discutés. De la même manière, la complexité des fonctions physiologiques de la seule cellule épidermique au cours de la métamorphose et notre ignorance des corrélations endocrines existant chez les larves permanentes sont d'autres obstacles à la compréhension des effets de la ventralectomie chez les Odonates, compréhension qui sera peut-être facilitée par la connaissance du rôle de l'hormone juvénile au cours de la métamorphose.

b - Effets de l'injection d'un mimétique de l'hormone juvénile

Ainsi qu'il a été vu précédemment, le développement de l'appareil copulateur à partir d'ébauches présentes au début du dernier stade larvaire ne peut s'effectuer qu'en présence d'hormone de mue. Mais ce processus morphogénétique particulier, comme la métamorphose en général, a tout lieu d'être tributaire de la baisse du taux de l'hormone juvénile intervenant au dernier stade. Le contrôle de la métamorphose des larves d'Aeschna cyanea par cette dernière hormone a déjà été étudié par SCHALLER (1960-1962) qui utilisait la technique de l'implantation dans la cavité abdominale, de corps allates provenant d'imagos capturés dans la nature.

En collaboration avec M. MOUZE, nous avons repris cette étude en pratiquant des injections d'un mimétique de l'hormone juvénile à des larves d'Aeschna cyanea du dernier stade. De nombreux auteurs (revue dans JOLY, 1968) ont appliqué à d'autres Insectes cette technique qui présente, à l'inverse de l'implantation des corps allates, l'avantage de pouvoir doser exactement l'hormone injectée, mais aussi l'inconvénient d'augmenter brusquement et pour une courte durée seulement le taux de cette hormone dans l'hémolymphe de l'animal expérimenté.

: Technique opératoire :

L'éther méthylique de farnésol (EMF), en solution dans l'huile de tournesol, a été administré par injection à travers la membrane intersegmentaire séparant les deuxième et troisième tergites abdominaux, à une centaine de larves d'Aeschna cyanea du dernier stade, d'âge croissant. Pour un volume constant de solution injectée (10 ul/g de poids frais), nous avons utilisé neuf concentrations différentes d'EMF (de 1,5 à 10 %).

Planche XVII

Fig. a et b : (G x 70) coupes transversales des 2ème (fig. a) et 3ème sternites (fig. b) abdominaux d'une larve permanente

Comparer avec les fig. b, Pl. XIV et c, Pl. XV

Remarquer le dépôt d'endocuticule (flèches) qui a rempli l'espace laissé par le décollement cuticulaire précoce

Fig. c, d, e, f : (G x 70) coupes transversales des 2ème (fig. c et d) et 3ème sternites abdominaux (fig. e et f) de l'adultoïde I.

Comparer les figures c et d avec les figures b, c et h Pl. XIV et les figures e et f avec les figures c et d, Pl. XV

Remarquer (flèches) les cellules trichogènes secrétant des soies de part et d'autre de l'ébauche de la ligule (fig. d) et la cuticule épaisse tapissant la face interne de la gouttière des 2 premiers articles du pénis (fig. f).

a. p.	2 premiers articles du pénis
h. a.	hameçons antérieurs
l.	ligule
v.s.	vésicule séminale



a



b

ap



c

ha



e



d



f

ap



perturbation de la mue imaginale n'est plus observée.

Enfin, l'examen quotidien des larves injectées a permis de suivre la vitesse du développement des sujets soumis à l'EMF par comparaison avec la chronologie de la métamorphose basée sur le critère du débordement oculaire. Il est apparu que l'injection de l'EMF a eu comme effet immédiat, un retard dans le déclenchement de la métamorphose. L'étape 2 de la croissance oculaire est atteinte chez les adultoïdes au bout de neuf à onze jours, au lieu de cinq à six jours chez les témoins. Chez la larve surnuméraire, par contre, la mue a été plus précoce : elle est survenue vingt jours après la mue précédente, contre trente jours environ chez les témoins. SCHALLER (1960) avait fait la même constatation, les larves surnuméraires qu'il a obtenues ayant mué au bout de 17,4 jours, durée intermédiaire entre celles de l'avant-dernier stade (14,7 jours) et du dernier stade (33,1 jours) des témoins.

Etude morphologique de l'appareil copulateur des adultoïdes

Les caractères morphologiques (oeil, masque, ptérothèques, pattes, tergites et pyramide anale) examinés chez les individus obtenus étant tout à fait comparables à ceux décrits par SCHALLER (1960, 1962), autant pour la larve surnuméraire que pour les adultoïdes, nous n'exposons que les résultats relatifs à l'appareil copulateur. Ceux-ci ont porté sur trois adultoïdes présentant un débordement oculaire croissant, correspondant aux étapes 3, 4 et 6 de la métamorphose et que nous avons désignés respectivement par adultoïdes I, II et III. Avant d'être sacrifiés à l'approche de la mue, ces individus ont été soumis à l'action de la colchicine pendant 24 heures, ce qui a facilité le comptage des mitoses dans les deuxième et troisième sternites. Le nombre de ces mitoses, variable selon les adultoïdes, est toujours très réduit en raison de la mue plus ou moins imminente.

a) Adultoïde I

Le débordement oculaire de cet individu équivaut à celui d'une larve témoin arrivée au huitième jour du dernier stade (étape 3) et le développement de l'appareil copulateur est comparable à celui d'une larve témoin âgée de sept jours (c'est-à-dire ayant légèrement dépassé l'étape 2). Il s'agit donc d'un adultoïde de type larvaire dont les caractères sont très proches de ceux d'une larve vraie.

Planche XVIII

Reconstitution topographique des 2ème (fig. a) et 3ème (fig. b et c) sternites abdominaux de l'adultoïde I

Les figures a et b représentent la topographie en vue externe (vers la surface), la figure c en vue interne (vers la cavité abdominale)

Comparer avec les planches IX, X, XI et XVI

- | | |
|-------|------------------------------|
| a. p. | 2 premiers articles du pénis |
| h. a. | hameçons antérieurs |
| l. | ligule |
| l. a. | lame antérieure |
| v. s. | vésicule séminale |

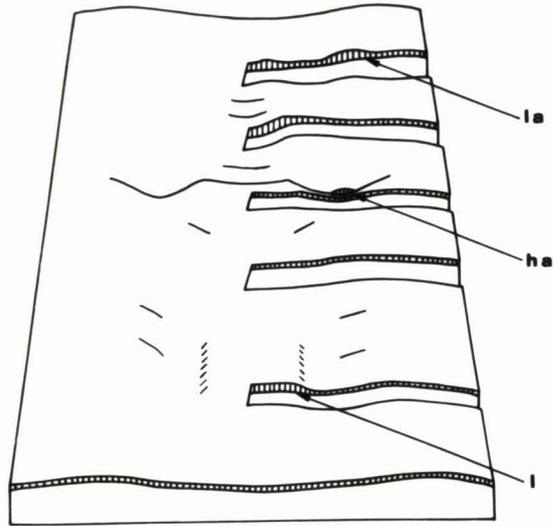
Planche XIX

Reconstitution topographique des 2ème (fig. a) et 3ème (fig. b et c) sternites abdominaux de l'adultoïde II

Les figures a et b représentent la topographie en vue externe (vers la surface); la figure c en vue interne (vers la cavité abdominale)

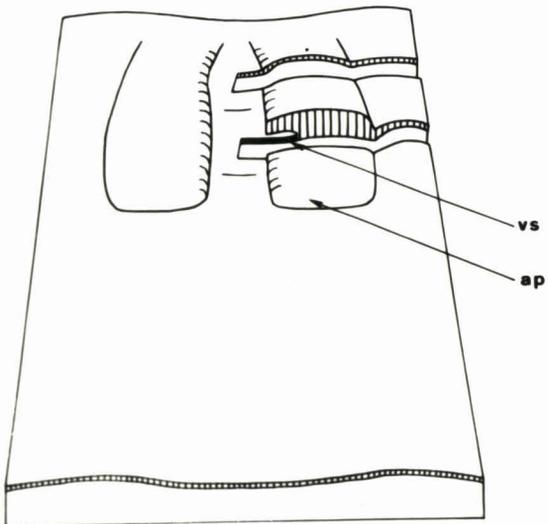
Comparer avec les planches X, XII et XIII

- | | |
|---------|--------------------------------|
| 2 a. p. | 2e article du pénis |
| 3 a. p. | 3e article du pénis |
| c. | corne du gland |
| b. g. | bulbe génital |
| h. a. | hameçon antérieur |
| h. p. | hameçon postérieur |
| e. l. | excroissance latérale du gland |
| l. | ligule |
| l. a. | lame antérieure |
| f. | fenêtre |
| g. | gland |
| m. p. | méat proximal |
| v. s. | vésicule séminale |



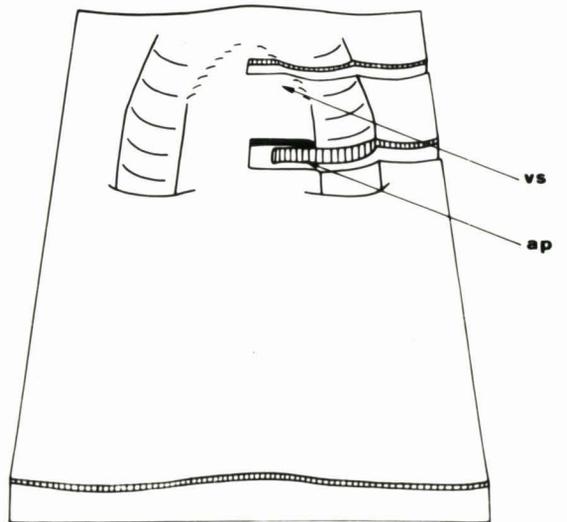
0,5 mm

a



0,5 mm

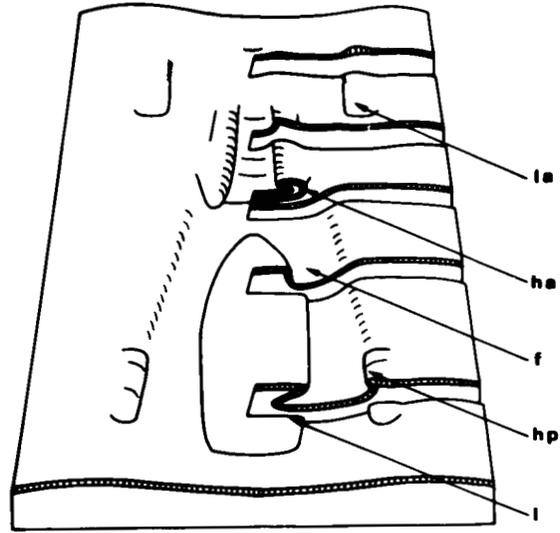
b



0,5 mm

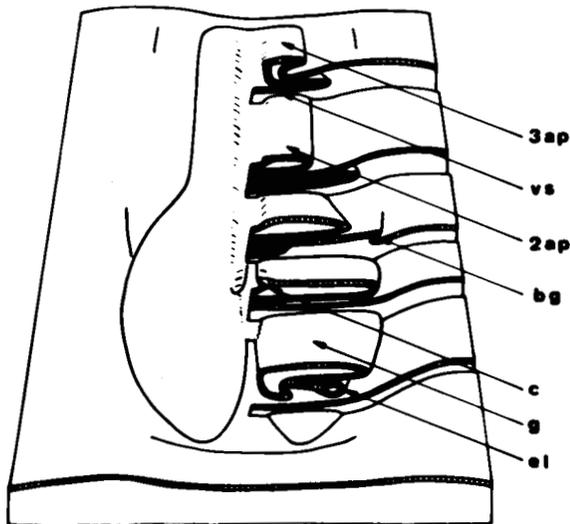
c





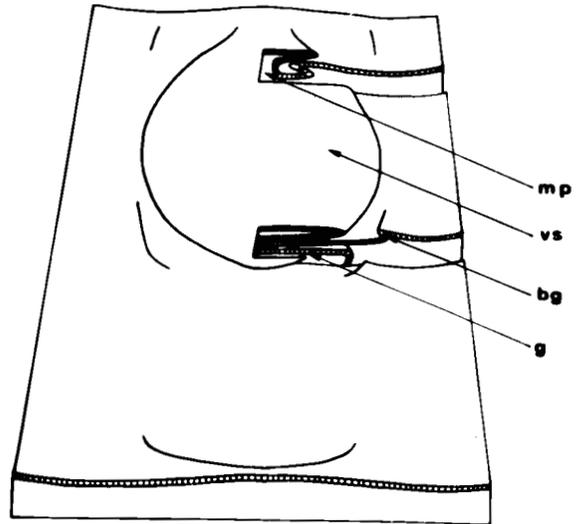
a

0.5 mm



b

0.5 mm



c

0.5 mm



Sur le deuxième sternite (Pl. XVIII, a), les hameçons antérieurs (Pl. XVII, c), ont commencé à bourgeonner vers l'arrière alors que la lame antérieure et la ligule (Pl. XVII, d) ne sont encore que de simples plis épaissis. Les deux premiers articles du pénis (Pl. XVII, f) se sont à peine détachés du troisième sternite (Pl. XVIII, b et c). Cependant, à l'inverse de ce que l'on peut observer sur une larve arrivée à l'étape 2 et sur les larves permanentes, la vésicule séminale (Pl. XVII, e) accuse un retard dans sa morphogenèse sans qu'il semble possible d'interpréter ce phénomène. Elle reste bordée par un épithélium aux cellules tassées les unes contre les autres et ne s'est pas étendue contre la face interne du sternite (Pl. XVIII, c).

Cette forte densité cellulaire caractérise d'ailleurs la totalité des deuxième et troisième sternites de l'adultoïde dont l'épiderme n'a pas subi le "déserrément" cellulaire, ultime étape du développement des différents organes de l'appareil copulateur avant l'émergence. Les multiplications cellulaires et les mouvements morphogénétiques sont interrompus. Par contre, il y a décollement de la cuticule larvaire et sécrétion de la nouvelle cuticule qui est du type imaginal. On observe des poils de type adulte sécrétés de part et d'autre de la ligule, là où se forment normalement les hameçons postérieurs (Pl. XVII, d) ; les deux premiers articles du ~~gland~~^{pénis} forment une gouttière tapissée à l'intérieur par une cuticule très épaisse (Pl. XVII, f) identique à celle décrite chez les larves témoins âgées de vingt jours (étape 7 2/3).

b) Adultoïde II

Il s'agit ici d'un adultoïde de type larvaire mais dont les caractères, contrairement à l'adultoïde I s'éloignent davantage de la larve.

Le débordement oculaire de cet individu équivaut à celui d'une larve témoin arrivée au neuvième jour du dernier stade (étape 4). Sur le deuxième sternite de cet adultoïde (Pl. XIX, a), la morphogenèse des hameçons antérieurs et de la ligule est plus avancée que celle décrite chez une larve arrivée à l'étape 5 de la métamorphose (douzième jour). Bien plus, sur le troisième sternite (Pl. XIX, b et c), la différenciation du gland du pénis est caractéristique de l'étape 6 (treizième jour) alors que le bulbe génital, à peine ébauché (Pl. XX, c) correspond à un témoin

Planche XX

Fig. a, b, c, d : Coupes transversales des 2ème (fig. a et b) et 3ème (fig. c et d) sternites abdominaux de l'adultoïde II (G x 50)

Comparer les figures a et b respectivement avec les figures c et d, et les figures i et j de la planche XIV

Comparer les figures c et d respectivement avec les figures e et f et la figure h de la planche XV

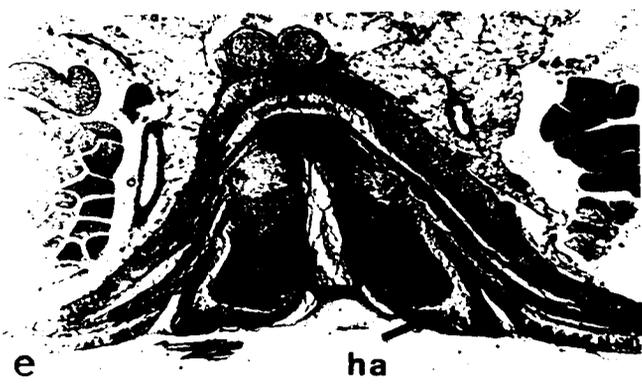
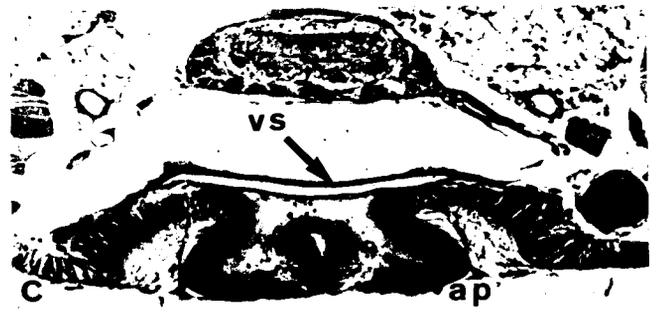
Fig. e, f, g, h : Coupes transversales des 2ème (fig. e et f) et 3ème (fig. g et h) sternites abdominaux de l'adultoïde III (G x 50)

Comparer les figures e et f respectivement avec les figures d et j de la planche XIV

Comparer les figures g et h respectivement avec les figures f et h de la planche XV

- | | |
|-------|--------------------------------|
| a. p. | 3e article du pénis |
| b. | bouclier |
| b. g. | bulbe génital |
| e. l. | excroissance latérale du gland |
| g. | gland |
| h. a. | hameçon antérieur |
| h. p. | hameçon postérieur |
| l. | ligule |
| v. s. | vésicule séminale |





du dixième jour. Ce développement plus important des hameçons antérieurs (Pl. XX, a), de la ligule (Pl. XX, b) et du gland du pénis (Pl. XX, d) semble le résultat du "desserrement" des cellules qui commence dans ces organes, après l'arrêt de l'activité mitotique et avant le dépôt de la cuticule imaginaire. La réponse à l'EMF paraît donc différer selon les organes de l'appareil copulateur. FUKUDA (1964) explique de la même manière la déformation des genitalia externes de Bombyx mori après application de farnesol.

c) Adultoïde III

Le débordement oculaire de cet individu correspond à celui d'une larve témoin arrivée au treizième jour du dernier stade (étape 6) et la métamorphose des deuxième et troisième sternites a atteint un degré sensiblement équivalent à celle de l'étape 7 1/4 (Pl. XXI). En effet la morphologie des hameçons antérieurs (Pl. XX, e), de la ligule et des hameçons postérieurs (Pl. XX, f) est proche de celle d'un adulte normal. De la même façon, le troisième article du pénis portant le méat proximal, le bulbe génital (Pl. XX, g) et le gland du pénis (Pl. XX, h) semblent avoir acquis leur forme définitive. On retrouve enfin chez cet individu un aspect cuticulaire semblable à celui d'un adulte et à celui des adultoïdes précédemment décrits. On peut donc parler dans ce cas d'un adultoïde de type imaginal.

: Discussion :

L'EMF injecté au début du dernier stade larvaire d'Aeschna cyanea a provoqué une nouvelle mue larvaire, reproduisant l'effet juvénilisant de l'hormone des corps allates. Cette action juvénilisante ainsi que les actions gonadotrope, prothoracotrope et chromatotrope de l'EMF ont déjà été maintes fois rapportées, en particulier par WIGGLESWORTH (1963 b). Pour KRISHNAKUMARAN et SCHNEIDERMAN (1965) et SCHNEIDERMAN et coll. (1965), farnesol et EMF sont actifs par eux-mêmes et agissent directement sur le même site cellulaire que l'hormone juvénile. Cependant cet avis n'est pas partagé par NOVAK (1966) qui considère les substances allatomimétiques comme des antimétabolites électifs agissant sur les synthèses protéiques et supprimant la croissance imaginaire, alors que l'hormone juvénile stimulerait la croissance larvaire (théorie du

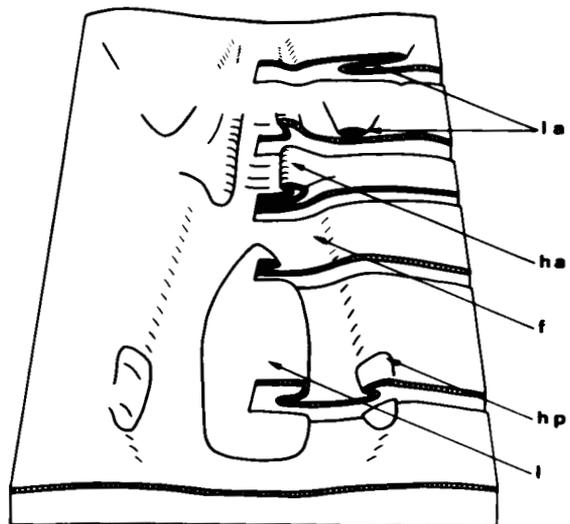
Planche XXI

Reconstitution topographique des 2ème (fig. a) et 3ème (fig. b - c) sternites abdominaux de l'adultoïde III

Les figures a et b représentent la topographie en vue externe (vers la surface), la figure c en vue interne (vers la cavité abdominale)

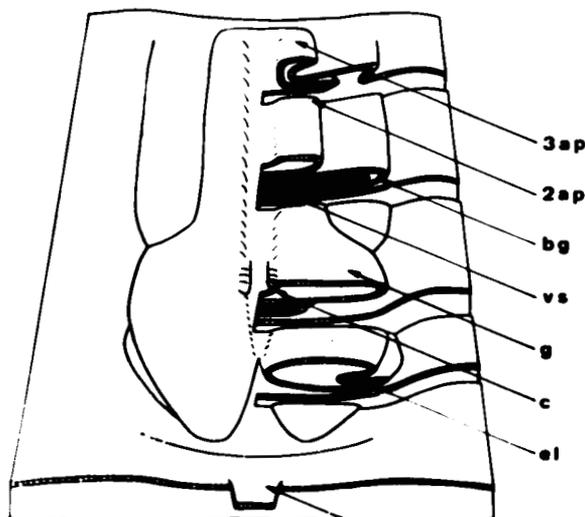
Comparer avec les planches X, XII, XIII

2 a.p.	2e article du pénis
3 a.p.	3e article du pénis
b. g.	bulbe génital
c.	corne du gland
e. l.	excroissance latérale du gland
f.	fenêtre
g.	gland du pénis
h. a.	hameçon antérieur
h. p.	hameçon postérieur
l.	ligule
l. a.	lame antérieure
m. p.	méat proximal
p. c.	processus caudal
v. s.	vésicule séminale



a

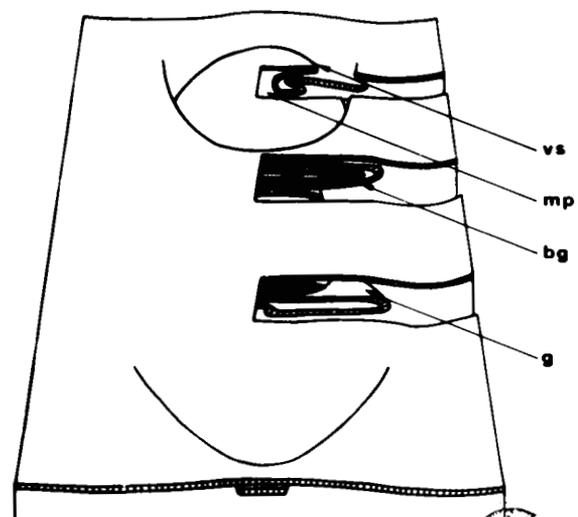
0.5 mm



b

0.5 mm

pc



c

0.5 mm



"gradient-factor"). Outre cette conception du mode d'action de l'hormone juvénile préconisée par NOVAK, deux autres théories ont été émises, l'une par WIGGLESWORTH (1959), l'autre par WILLIAMS (1961). Pour celui-ci, l'hormone juvénile active les gènes larvaires ; pour celui-là, elle inhibe les gènes imaginaires. Afin de faciliter la discussion des résultats obtenus, nous assimilerons EMF et hormone juvénile tout en étant conscients des nombreuses réserves que l'on peut apporter à cette homologation.

⊕ Importance de la dose de l'EMF injecté

Une première constatation qui s'impose est le fait que l'implantation de corps allates actifs à des larves du dernier stade d'Aeschna cyanea venant de muer a pour résultat des stades larvaires surnuméraires dans presque la moitié des cas (SCHALLER, 1960) alors que l'injection d'une dose élevée d'EMF à des sujets d'espèce et d'âge identiques n'a permis d'obtenir qu'une seule mue larvaire surnuméraire. La dose nécessaire correspond environ au 7/10 000ème du poids de la larve (solution à 7 % dans l'huile de tournesol) alors que WIGGLESWORTH (1963), chez Rhodnius prolixus, obtient le même résultat dans des conditions équivalentes avec une dose trente cinq fois plus faible (2/100 000ème du poids de la larve ; solution à 10 % dans l'huile d'olive). Cette différence de sensibilité des larves à l'EMF qui reproduit plus ou moins les effets de l'hormone des corps allates a déjà été rapportée par différents auteurs. Les résultats de WIGGLESWORTH (1969) sur Rhodnius, ceux de ROLLER et DAHM (1968) sur Tenebrio molitor et de GILBERT et GOODFELLOW (1965) sur Hyalophora cecropia montrent que l'EMF a respectivement le 1/4, le 1/300ème et le 1/100 000ème de l'activité de l'huile de Cecropia, c'est-à-dire, d'un produit naturel. WIGGLESWORTH (1969) apporte plusieurs explications à ce phénomène. Selon cet auteur, les mimétiques de l'hormone juvénile agiraient plus par leurs propriétés physiques que par leurs propriétés chimiques et cette action se situerait au niveau des membranes cellulaires, lesquelles ont des structures différentes selon les espèces ; ensuite l'inactivation du mimétique (GILBERT et SCHNEIDERMAN, 1960 ; ROLLER et DAHM, 1968 ; JOLY et coll., 1969) serait différente selon les espèces et les solvants utilisés et enfin selon le degré de dilution dans ces derniers (WIGGLESWORTH, 1963 b ; KRISHNAKUMARAN et SCHNEIDERMAN, 1965).

Il convient de remarquer, en outre, que l'EMF injecté semble être catabolisé très rapidement puisque chez des adultes obtenus après utilisation d'une forte dose au jour 0, la métamorphose n'est retardée que d'environ cinq jours. En effet, l'étape 2 du développement est atteinte au neuvième-onzième jour au lieu du cinquième-sixième jour.

⊕ Effet "prothoracotrope" de l'EMF injecté

SCHALLER (1960) avait déjà constaté la précocité de la mue des larves surnuméraires obtenues par implantation des corps allates. On pouvait donc raisonnablement s'attendre à une action stimulatrice de l'EMF sur les glandes de mue d'Aeschna cyanea. Cette action "prothoracotrope" (appelée ainsi à cause du terme : glande prothoracique, synonyme de glande de mue) des corps allates, des mimétiques de l'hormone juvénile ou de l'huile de Cecropia (extrait du corps de nymphes de l'espèce Hyalophora cecropia) a déjà été signalée, par exemple par GILBERT et SCHNEIDERMAN (1959), WILLIAMS (1961), GILBERT (1962), KRISHNAKUMARAN et SCHNEIDERMAN (1965), SCHMIALEK et DREWS (1965), WIGGLESWORTH (1965), OBERLANDER et SCHNEIDERMAN (1966), OZEKI (1966) et d'autres encore. De même, la dégénérescence des glandes de mue chez la plupart des Insectes, à la fin de la vie larvaire, est le résultat de la baisse du taux de l'hormone juvénile (WILLIAMS, 1952 ; BODENSTEIN, 1953 ; WIGGLESWORTH, 1955, KRISHNAKUMARAN et SCHNEIDERMAN, 1965), la persistance de ces glandes chez certains Insectes, tels des Acridiens, étant sous le contrôle des corps allates (CASSIER et FAIN-MAUREL, 1970).

⊕ Période de sensibilité à l'EMF injecté

L'injection de l'EMF n'a d'effet que si elle est pratiquée au cours des cinq premiers jours du dernier stade ; passé ce délai elle reste sans action. Les résultats des injections pratiquées pendant les cinq premiers jours, diffèrent non seulement selon la dose et le moment de l'injection, mais aussi selon la nature de l'organe considéré. Ainsi, comme l'a montré SCHALLER en 1962 par des implantations de corps allates, le développement des poils adultes (sur la tête, les ailes et la pyramide anale) et la régression du masque, par exemple, sont rarement empêchés à l'inverse de la métamorphose oculaire ou de celle de la pyramide anale, lesquelles sont interrompues à des stades divers chez les adultes.

au cours du dernier stade à la même allure que celui de l'hormone naturelle, mais avec un décalage qui est fonction du moment de l'injection. Par ailleurs, le taux de l'hormone de mue qui ne fait que croître au cours de l'intermue du dernier stade larvaire, à l'inverse de celui de l'hormone juvénile, déclencherait les différents phénomènes épidermiques de morphogenèse et de mue. Enfin, l'hormone juvénile ne doit pas être considérée comme un facteur de morphogenèse et n'interviendrait que pour imprimer son caractère propre aux synthèses déclenchées par l'ecdysone.

- Après une forte injection d'EMF au jour 0 du dernier stade larvaire, les synthèses gouvernées par l'ecdysone s'effectuent en présence d'un taux élevé et inhabituel d'hormone juvénile, le catabolisme de cette dernière ne permettant pas une élimination suffisamment rapide. Ces synthèses sont donc de type larvaire. On se trouve dans les mêmes conditions qu'au début de l'avant-dernier stade par exemple et l'on obtient une mue larvaire surnuméraire précoce. L'EMF a donc manifesté à la fois son action juvénilisante et son action prothoracotrope.

- Dans le cas de l'injection d'une dose d'EMF plus faible, au jour 0, l'élimination catabolique du mimétique devient suffisante pour permettre le déclenchement par l'ecdysone des synthèses imaginaires. Ce phénomène demande cependant un certain temps de latence ; en effet l'étape 2 du débordement oculaire ne se manifeste qu'au bout de neuf à onze jours au lieu de cinq à six jours chez les témoins. Tous les organes n'ont pourtant pas le temps d'achever leur métamorphose complètement car il semble que le taux de l'hormone de mue, devenu trop élevé, empêche la poursuite du développement et déclenche la mue. En effet, pour se métamorphoser, un organe n'aurait pas seulement besoin d'un certain taux d'ecdysone mais aussi d'un certain temps d'exposition à cette hormone. Cette interruption de la métamorphose par l'hormone de mue a déjà été signalée par HALEWACHS et coll. (1957), LUSCHER et KARLSON (1958), BUCKMANN (1959), WIGGLESWORTH (1961), KOBAYASHI et coll. (1967) et WILLIAMS (1968). L'effet juvénilisant d'abord, de durée plus ou moins longue selon la dose en raison de l'allure de son catabolisme, puis l'effet prothoracotrope de l'EMF sont donc responsables de la métamorphose incomplète des adultes.

- Les injections d'EMF tardives, pratiquées entre le troisième et le cinquième jour, même à des doses très fortes n'ont pu éviter le déclenchement des synthèses imaginaires dans les organes très sensibles à

la baisse du taux de l'hormone juvénile intervenue au tout début du stade. Par contre, elles retardent les synthèses imaginale dans les organes moins sensibles, exerçant ainsi leur effet juvénilisant et avancent le moment de la mue par leur effet prothoracotrope. A cet égard ces organes n'auront pas été soumis assez longuement à l'hormone de mue pour leur permettre de se métamorphoser complètement.

- Enfin, après le cinquième jour, la présence de l'EMF n'est plus capable d'empêcher même partiellement la métamorphose ; la phase critique est dépassée et la forme imaginaire est donc irrémédiablement déterminée.

La réponse de l'appareil copulateur à ces différentes conditions hormonales est parfaitement conforme au schéma proposé : d'abord, effet juvénilisant de l'EMF injecté, ensuite catabolisme du mimétique qui permet l'orientation vers la forme imaginaire et le déclenchement de la métamorphose, enfin, effet prothoracotrope et déclenchement de la mue qui interrompt la morphogénèse en cours. Selon la dose et le moment d'application du mimétique de l'hormone juvénile, l'effet juvénilisant affecte pendant un temps plus ou moins long un nombre plus ou moins grand d'évènements. Ainsi les mouvements morphogénétiques sont interrompus à différentes étapes mais la cuticule déposée est toujours du type imaginal. A titre d'exemple et comme le montre surtout l'adultoïde II, toutes les parties de l'appareil copulateur ne sont pas bloquées au même stade de développement. Les cellules du gland du pénis ont commencé à se "desserrer" (phénomène survenant normalement au treizième jour) alors que le bulbe génital est à peine ébauché (développement caractéristique du dixième jour). Ou bien le gland du pénis est plus sensible à la baisse du taux d'hormone juvénile que le bulbe génital et l'EMF injecté tardivement a bloqué la métamorphose du second mais pas celle du premier ; ou bien les cellules du gland ayant subi toutes les mitoses nécessaires à leur croissance sont devenues compétentes à réagir à un certain taux d'ecdysone qui déclenche leur "desserrement" alors que le même taux ne peut avoir d'action sur les cellules du bulbe génital pas encore prêtes à effectuer une certaine morphogénèse.

3 - CONCLUSION DE LA DEUXIEME PARTIE

L'utilisation d'un mimétique de l'hormone juvénile nous a permis de montrer que chez Aeschna cyanea, la différenciation dans le sens imaginal des productions épidermiques, notamment de l'appareil copulateur mâle, était déterminée dès les cinq premiers jours du dernier stade. Pendant cette période représentant un cinquième de la durée de l'intermue, il est donc possible d'infléchir le sens de cette différenciation. De son côté, l'ablation des glandes de mue a montré que pour se manifester, la différenciation nécessitait la présence de l'ecdysone et les résultats d'autres auteurs ont permis de préciser ce fait : le taux d'ecdysone nécessaire et son temps d'application diffèrent selon les processus de différenciation et selon les organes considérés. Dans ces conditions, si la métamorphose se poursuit tout au long du dernier stade, elle est certainement le résultat de l'augmentation du taux d'ecdysone jusqu'au terme de l'intermue, alors que les différenciations progressives observées ont toutes été "programmées" au cours des cinq premiers jours du dernier stade par la baisse du taux de l'hormone juvénile.

Les différentes parties de l'appareil copulateur sont sujettes à un tel contrôle : programmation par la baisse du taux de l'hormone juvénile pendant les cinq premiers jours du dernier stade (l'injection au septième jour n'a plus d'effet), puis différenciation contrôlée par l'hormone de mue (d'abord mitoses et décollement cuticulaire, ensuite mouvements morphogénétiques, enfin dépôt de la cuticule imaginale). Seuls les "sacs élastiques" du bulbe génital font exception : leur développement, semblant lié à la maturation sexuelle de l'imago, est le résultat d'une extraordinaire activité mitotique de cellules épidermiques adultes, à notre connaissance jamais rencontrée chez les Hémimétaboles.

Il convient de remarquer ici que l'activité des massifs d'accroissement de l'oeil et du lobe optique des Odonates semble échapper à l'action de l'ecdysone et que d'après MOUZE (1971 b), leur disparition au cinquième jour du dernier stade pourrait être le résultat direct de la baisse du taux de l'hormone juvénile. Le contrôle hormonal de l'activité de ces organes, essentiellement par l'hormone des corps allates, s'oppose donc à celui du développement de l'appareil copulateur réalisé par la double action de l'hormone de mue et de l'hormone juvénile. La nature embryonnaire des cellules composant les massifs d'accroissement oculaire, pourrait

expliquer leur insensibilité à l'ecdysone (MOUZE, 1971 b).

Il faut souligner que les conclusions relatives au contrôle de la métamorphose de l'appareil copulateur par l'hormone de mue et l'hormone juvénile ont été apportées à la suite d'expériences pratiquées in vivo sur un organisme dont nous ignorons, par ailleurs, le "contexte" hormonal. Dans ces conditions, l'ignorance dans laquelle nous sommes au sujet des interactions endocrines s'exerçant autant chez les larves permanentes que chez les larves "farnésolées" (notamment l'action des hormones cérébrales) doit nous amener à beaucoup de prudence. De même, la parfaite connaissance du métabolisme de la cellule épidermique, qui selon LOCKE en 1970 b effectue des synthèses larvaires en même temps qu'elle est prête à devenir adulte, est nécessaire pour préciser le contrôle de celle-ci par les hormones. Enfin, le mode d'action de ces dernières qui semble très complexe ne sera véritablement élucidé que par l'emploi d'hormones synthétiques pures. La métamorphose de la cellule épidermique et son contrôle endocrine restent donc des champs très ouverts à de nouvelles recherches nécessitant les techniques ultrastructurale, biochimique et de la culture in vitro.

TROISIEME PARTIE

DETERMINATION SEXUELLE DE L'APPAREIL COFULATEUR

L'acquisition de l'appareil copulateur mâle des Odonates s'inscrit parmi les manifestations ultimes d'une organogenèse sexuelle qui se déroule tout au long du développement, tant embryonnaire que post-embryonnaire.

Avant d'aborder l'étude des facteurs qui président à la détermination sexuelle de cet organe, il a semblé utile de préciser le mode de formation de l'appareil génital et d'établir pour les deux sexes une chronologie de cette organogenèse chez les Odonates Anisoptères.

Les données relatives à l'organogenèse des gonades et des voies génitales des Odonates, bien que ne reposant que sur des observations histologiques, ont été insérées dans une discussion générale portant sur le déterminisme de la différenciation sexuelle des Insectes, problème qui jusqu'à présent, n'a reçu de réponse satisfaisante que pour une seule espèce, le Lampyre.

Enfin, la dernière partie de ce travail s'achèvera par l'exposé des résultats expérimentaux relatifs à l'appareil copulateur dont nous avons cherché à perturber la différenciation, sinon à infléchir la détermination sexuelle par des interventions plus ou moins précoces au niveau de son territoire organo-formateur.

1 - ORGANOGÈNESE DE L'APPAREIL GÉNITAL DANS LES DEUX SEXES

Cette étude réalisée sur Aeschna mixta a jeté les bases anatomo-histologiques indispensables à tout travail expérimental sur la détermination sexuelle chez les Odonates. Dans la chronologie de l'organogenèse sexuelle post-embryonnaire, nous avons distingué, d'une part les caractères primordiaux, gonades et gonoductes d'origine mésodermique, qui existent dès l'éclosion, d'autre part, les caractères d'origine ectodermique qui apparaissent plus ou moins tardivement au cours du développement post-embryonnaire.

a - Gonades et gonoductes

. Les gonades des larves néonates d'Aeschna mixta (Pl. XXII, a, d) semblent indifférenciées. L'aspect des gonies, grosses cellules arrondies à noyau volumineux, qui voisinent avec de petites cellules anguleuses ne permet pas de reconnaître un ovaire d'un testicule. Cependant, la situation des gonades à l'intérieur de l'abdomen diffère

selon les individus examinés. Ou bien elles s'étendent du premier au sixième segment abdominal, ou bien elles ne sont présentes que dans les sixième et septième segments. La comparaison avec la position des gonades chez des larves âgées permet d'affirmer qu'il s'agit là respectivement d'ovaires et de testicules. Nous pouvons donc envisager séparément leur évolution.

- Ce n'est que durant le troisième stade que l'ovaire acquiert sa structure caractéristique (Pl. XXII, b). Les petites cellules anguleuses possédant un noyau volumineux à chromatine en mottes se sont multipliées et alignées. Elles remplissent les filaments terminaux des ovarioles et sont à l'origine des ovogonies, grosses cellules arrondies possédant un noyau sphérique et un nucléole unique, et des cellules folliculaires de contour irrégulier. Ovogonies et cellules folliculaires continuent à se diviser dans le germarium des ovarioles. Cette origine des ovogonies et des cellules folliculaires a été admise par MC GILL en 1905 et HOGBEN en 1920 chez les Odonates Anax junius, Plathemis lydia et Libellula depressa. Au cinquième stade larvaire, débute la prémeiose dont on observe les stades successifs jusqu'au diplotène. Les chromosomes prennent alors la forme dite "Lampbrush". A l'instar de SESHACHAR et SHANTA-BAGGA (1963) chez Pantala flavescens, nous n'avons pas observé la diacynèse, contrairement à HOGBEN (1920) qui décrit des corps en tétrades dans les noyaux ovocytaires de Libellula depressa. C'est au huitième stade (APS) que débutent la croissance des ovocytes au niveau du vitellarium et la segmentation de l'ovaire en ovarioles se terminant chacun par un calice ébauché dès les premiers stades à partir de petites cellules terminales (Pl. XXII, c).

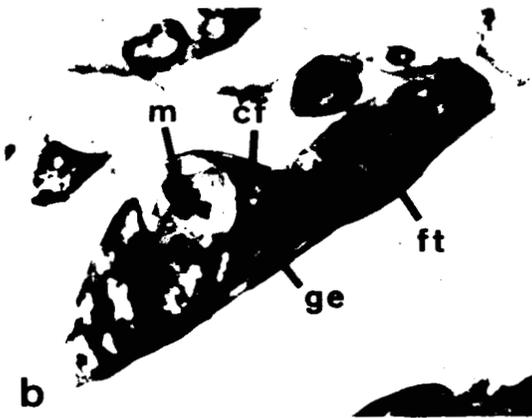
- Au deuxième et au troisième stade, le testicule se présente de la même façon qu'à l'éclosion. Il est toutefois plus volumineux, par suite de la multiplication des petites cellules anguleuses et des spermatogonies dont la structure est identique à celle des éléments correspondants dans la lignée femelle. A partir du quatrième stade (Pl. XXII, e, f), se constitue un tissu, que nous avons nommé apical, formé par des cellules anguleuses très nombreuses dont le cytoplasme réduit contient un noyau de contour irrégulier, à chromatine en paquets. Ces cellules ont le même aspect que celles qui composent le filament terminal des ovarioles. Sous le tissu apical, les spermatogonies s'entourent de quelques cellules

Planche XXII

Organogenèse des gonades au cours de la vie larvaire
d'Aeschna mixta

- Fig. a : ovaire au 2ème stade (G x 1700)
Fig. b : ovaire au 3ème stade (G x 1300)
Fig. c : ovaire à l'avant-dernier stade (G x 400)
Fig. d : testicule au 1er stade (G x 1700)
Fig. e : testicule au 4ème stade (G x 1400)
Fig. f : testicule au 7ème stade (G x 1200)
Fig. g : testicule à l'antépénultième stade (G x 400)
Fig. h : testicule au dernier stade (G x 100)

c.	calice
c. f.	cellule folliculaire
cy.	cyste
d.	dégénérescence d'un cyste
e. s.	ébauche du spermiducte
f. t.	filament terminal
g.	gonie
ge.	germarium
m.	mitose goniale
sp.	spermiducte
t.a.	tissu apical
v.	vitellarium



505
LAL. E.

anguleuses et, à l'opposé, existe un ensemble de petites cellules terminales, ébauche du spermiducte. Les trois zones testiculaires ainsi décrites se développent jusqu'au huitième stade (APS) au cours duquel le testicule se fragmente en cystes (Pl. XXII, g). Toutes les spermatogonies d'un même cyste se développeront alors d'une manière synchrone. Elles se multiplient rapidement pendant l'ADS au cours duquel les cystes deviennent très volumineux et entourent le spermiducte. Ce n'est qu'au dernier stade et chez l'imago que les spermatocytes subissent la méiose et donnent naissance à des spermatozoïdes (Pl. XXII, h). La phase de maturation des cellules germinales est donc bien plus tardive chez le mâle que chez la femelle. La maturation ovocytaire ~~se termine~~^{début} chez Aeschna mixta et Anax imperator respectivement aux cinquième et septième stades ; celle du spermatocyte au dernier stade, pendant la métamorphose, peut-être à la suite de la baisse du taux de l'hormone juvénile comme le suggèrent pour d'autres Insectes, SEHNAL (1968), TAKEUCHI (1969) et BLAINE et DIXON (1970) à l'inverse de DE WILDE (1964). Il n'est pas rare d'observer quelques pycnoses dans les testicules jeunes et la dégénérescence de cystes entiers au cours des deux derniers stades larvaires (Pl. XXII, g). ABOTM (1945), SEILLER (1958), ECHARD (1962) et BOULARD (1968) ont fait la même observation respectivement chez Drosophila melanogaster, Solenobia triquetrella, Gryllus domesticus et Hypoderma bovis. Le tissu apical qui n'a fait que décroître à partir de l'APS, à la suite du développement énorme des cystes, n'est plus visible au dernier stade. Il n'est pas possible de se prononcer sur sa destinée.

- Notre travail expérimental ultérieur portant sur Anax imperator, nous avons repris l'étude du développement post-embryonnaire de l'appareil génital chez cette espèce. Dans l'ensemble nous avons retrouvé une chronologie semblable pour l'évolution des gonades, sauf quelques points de détail, en rapport sans doute avec un nombre de stades larvaires différents. Dans l'ovaire, la préméiose qui a débuté au septième stade (5 APS) est suivie de la croissance ovocytaire dès le neuvième stade (3 APS) en même temps que la segmentation en ovarioles et dans le testicule, la formation des cystes.

. Les spermiductes d'origine mésodermique sont présents chez les larves néonates mâles d'Aeschna mixta et d'Anax imperator sous

forme de cordons massifs dans les huitième et neuvième segments abdominaux. Chez les larves néonates femelles, les oviductes, rattachés à la partie postérieure des ovaires au niveau du huitième segment, ont une extrémité aveugle se terminant au contact de l'épiderme du huitième sternite. HEYMONS (1896) décrit une position identique des gonoductes chez les larves de Libellula quadrimaculata et Epithea binaculata du deuxième stade.

b - Caractères sexuels d'origine épidermique

Ils s'ébauchent à deux moments différents de la vie larvaire. Les uns sont d'apparition très précoce, tel l'orifice génital mâle (Pl. XXIII, c), présent sur le neuvième sternite dès l'éclosion et les valves antérieures (Pl. XXIII, a) et postérieures (Pl. XXIII, b) de l'oviscapte respectivement apparues aux troisième et quatrième stades larvaires dans les deux espèces étudiées. Les autres qui se forment bien plus tardivement, à l'APS chez Aeschna mixta, au 2 APS chez Anax imperator sont, chez la femelle, la spermathèque, les glandes accessoires situées dans le neuvième segment et les valves latérales de l'oviscapte, chez le mâle, l'appendice inférieur et l'ensemble de l'appareil copulateur (Pl. XXIII, d et e). Enfin les glandes annexées à la spermathèque n'apparaissent qu'à l'avant dernier stade.

Toutes ces formations épidermiques ébauchées plus ou moins précocement se développent, se transforment et sont complétées au cours de la métamorphose. Ces observations, quant à l'origine des gonoductes et des autres caractères sexuels, sont en accord avec celles de GEORGE (1929) portant sur un Odonate Zygoptère.

2 - CONTROLE DE LA DETERMINATION SEXUELLE ET DE LA DIFFERENCIATION DE L'APPAREIL GENITAL

Le contrôle de la détermination sexuelle des gonades n'a été élucidé jusqu'à présent que chez un seul insecte, le Lampyre (NAISSE, 1965-1969). Pendant les trois premiers stades larvaires, les gonades de Lampyris noctiluca restent indifférenciées, ainsi que le montrent l'étude de leur structure et les résultats d'expériences d'inversion expérimentale du sexe. La sexualisation des gonades qui semble commandée par le cerveau est plus précoce dans le sexe mâle (quatrième stade) que dans le sexe femelle (cinquième stade) mais reste néanmoins tardive, en égard au faible

Planche XXIII

Ebauches chez Aeschna mixta des valves antérieures et postérieures de l'oviscapte au 4ème stade larvaire (fig. a et b ; G x 400), de l'orifice génital mâle au premier stade (fig. c ; G x 1000), de l'appareil copulateur sur les 2ème et 3ème segments abdominaux à l'APS (fig. d et e ; G x 200)

- a. p. article du pénis
- h. a. hameçon antérieur
- o. g. orifice génital mâle
- s. spermiducte
- v. a. valve antérieure de l'oviscapte
- v. p. valve postérieure de l'oviscapte

Greffes intrahemocoeliennes de fragments de testicules (fig. f ; G x 300) et d'ovaire (fig. g ; G x 300) du 3ème stade dans des larves mâles du 8ème stade

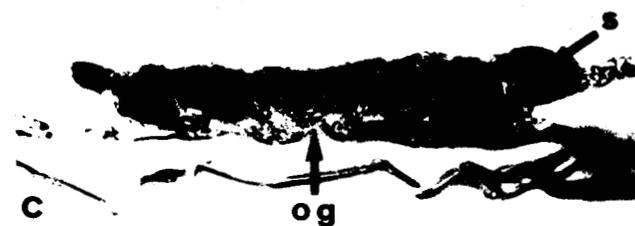
- f. t. filament terminal
- g. germarium
- spc. spermatocytes
- spg. spermatogonies
- v. vitellarium



a



b



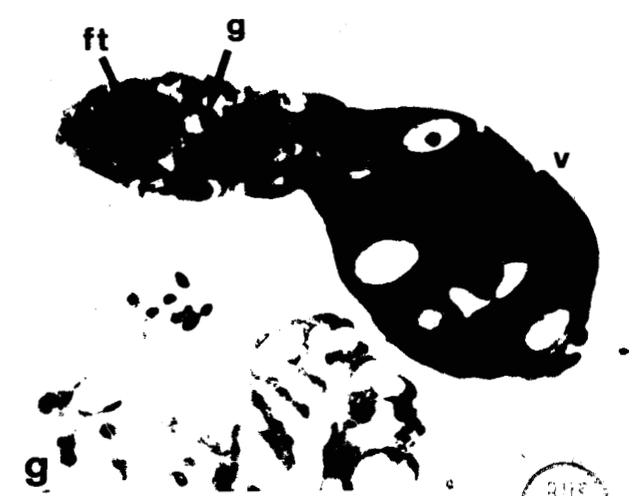
c



d



e



g

BUS
L'LEF

nombre de stades larvaires précédant le stade nymphal (cinq pour le mâle, six pour la femelle).

Il en va bien autrement chez les Odonates dont les gonades se différencient dès le troisième stade d'un développement larvaire qui chez Aeschna mixta est pourtant relativement rapide. Sans que le problème de la différenciation des gonades ait été abordé par la voie expérimentale d'une manière systématique, il semble que cette différenciation soit fixée précocement ainsi que le montre le résultat d'une opération fortuite : des fragments de gonades de larves mâles ou femelles du troisième stade, greffés accidentellement dans la cavité abdominale de larves mâles du huitième stade d'Anax imperator se sont développés normalement et chez l'hôte adulte, on peut observer dans les greffons, soit des spermatocytes en méiose, soit des ovocytes en accroissement (Pl. XXIII, f et g). Au troisième stade, le sexe des gonades est donc définitivement déterminé. Il est, en outre, remarquable de constater que des gonies mâles ou femelles transplantées dans un hôte mâle âgé sont douées d'un développement accéléré. Il faut donc rechercher chez les Odonates, un éventuel contrôle endocrine de la détermination sexuelle des gonades, ou chez les larves néonates, ou chez l'embryon.

Le même problème semble d'ailleurs se poser pour la majorité des Insectes, chez lesquels l'indifférenciation sexuelle est rarement observée : à l'exception du Lampyre, déjà cité, et du cas de l'Hypoderme (BOULARD, 1968), les larves néonates présentent des gonades différenciées, par exemple chez Blatella germanica (NOIROT, 1958), Gryllus domesticus (ECHARD, 1962), Clitumnus extradentatus (MORERE, 1965 ; CAVALLIN, 1969), Drosophila melanogaster (ABOTM, 1945 et LAUGE, 1969 a) et Leptinotarsa decemlineata (RICHARD et CHARNIAUX-COTTON, 1970). Dans la majorité des cas, la gonade indifférenciée ne se rencontre que chez l'embryon : CAVALLIN (1969) la décrit chez Clitumnus extradentatus mais pas chez Carausius morosus espèce à parthénogenèse thélytoque qui présente dès le début de la vie embryonnaire une gonade à "prédisposition femelle". NELSEN (1931, 1934), HOULET (1962) et ECHARD (1968) attribuent une bipotentialité sexuelle aux gonades des embryons de Melanoplus differentialis, Periplaneta americana et Gryllus domesticus respectivement. Enfin, chez Leptinotarsa decemlineata, les gonades sont différenciées au cinquième jour de la vie

embryonnaire qui dure huit jours (RICHARD et CHARNIAUX-COTTON, 1970).

Il est évident que la différenciation sexuelle de la gonade, se réalisant chez de nombreux Insectes au cours du développement embryonnaire, l'étude de son contrôle est d'un abord technique difficile. RICHARD, JUNERA et CHARNIAUX-COTTON (1970) cautérisent la partie antérieure de l'embryon de Leptinotarsa decemlineata au moment de l'individualisation des ganglions nerveux et alors qu'aucune neurosécrétion n'a encore été détectée. A la fin de la vie embryonnaire, les gonades sont cependant sexuellement différenciées et semblent donc échapper à un contrôle endocrine.

Bien qu'il ait été possible de déceler des traces de sécrétion dans les corps cardiaques de très jeunes larves d'Odonates (second stade), la mise en évidence de cellules neurosécrétrices cérébrales, qui s'avère plus délicate n'a été obtenue jusqu'à maintenant que chez des larves âgées d'au moins quatre stades (CHARLET, communication personnelle). Encore qu'il ne faille pas nier un déterminisme endocrinien de la détermination sexuelle des gonades, uniquement au vu d'un test histologique négatif, il importe de mieux connaître le système endocrine des embryons et des jeunes larves des Odonates avant d'espérer résoudre le problème de la différenciation sexuelle des gonades.

Il faut encore remarquer que la position des gonades dans l'abdomen des larves néonates des Odonates est sexuellement différenciée, apparemment avant leur structure. Si nous nous reportons aux connaissances actuelles au sujet de la lignée germinale chez les Insectes, il est connu depuis fort longtemps que chez les Hétérométaboles, la ségrégation des initiales germinales s'effectue au cours du développement embryonnaire, par isolement segmentaire ou non à partir des tissus ectodermiques ou mésodermiques (HEYMONS, 1895 ; SEIDEL, 1924 ; NELSEN, 1934 ; ROONWAL, 1937 ; ECHARD, 1968), les cellules polaires de l'oeuf constituant la lignée germinale des Holométaboles (WEISSMANN, 1863 ; METSCHIKOFF, 1886 ; HEGNER, 1911 ; GEIGY, 1931 ; HAGET, 1952-1969). A notre connaissance, aucune étude n'a porté, chez les Odonates, ni sur l'origine des cellules germinales, ni sur leur mise en place qui ne manque pourtant pas d'intérêt puisqu'elle semble être le premier signe de la différenciation sexuelle.

Enfin, nous avons vu qu'il existait dans le testicule des Odonates, pendant les deux premiers tiers de la vie larvaire, un tissu

qui par sa position anatomique, mérite la qualification de tissu apical. Ce tissu est apparu, alors que certains caractères sexuels sont déjà différenciés chez le mâle (spermiductes et orifice génital) et chez la femelle (ovaire, oviducte et oviscapte). On peut donc affirmer que le tissu apical du testicule des Odonates, à l'inverse de celui du Lampyre (NAISSE, 1966 a), n'est pas responsable de la détermination du sexe des gonoductes et des caractères sexuels épidermiques mâles d'apparition précoce. Cependant, d'autres caractères sexuels épidermiques mâles, l'appareil copulateur par exemple, ne se différencient que tardivement et au moment du plein développement du tissu apical qui pourrait alors avoir une éventuelle action androgène. C'est une des raisons qui nous ont incité à entreprendre l'étude expérimentale de la détermination sexuelle de l'appareil copulateur.

3 - ETUDE EXPERIMENTALE DE LA DETERMINATION SEXUELLE DE L'APPAREIL COPULATEUR

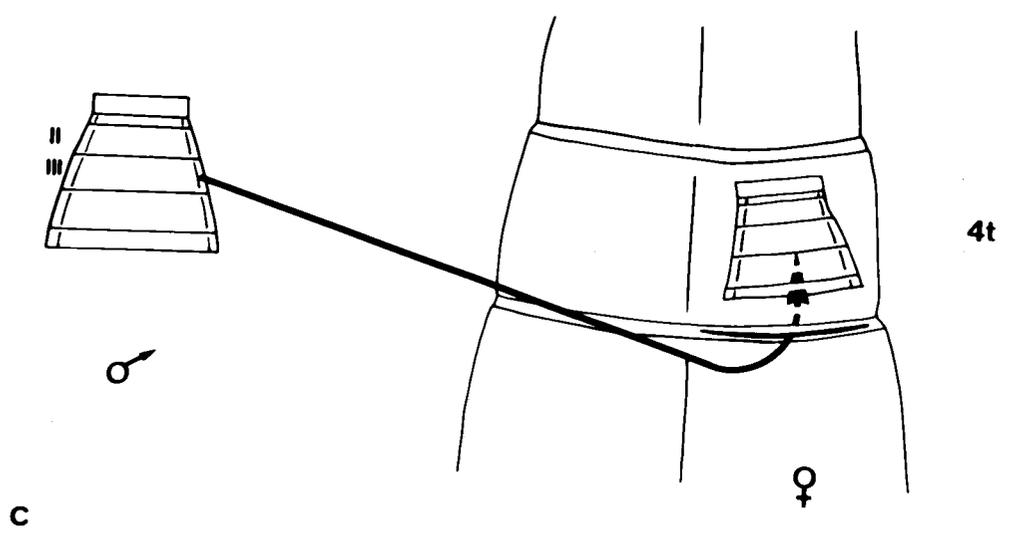
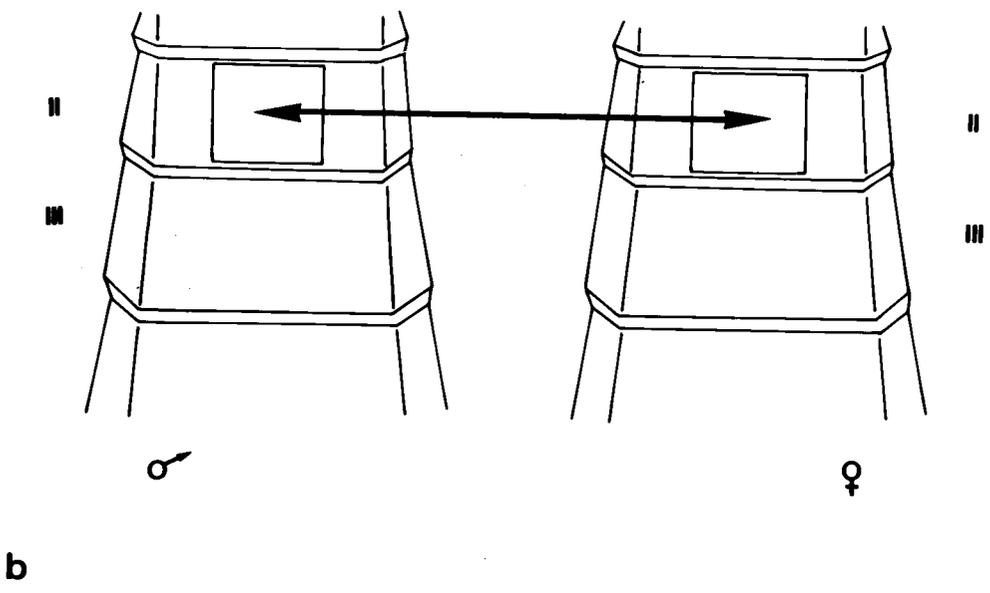
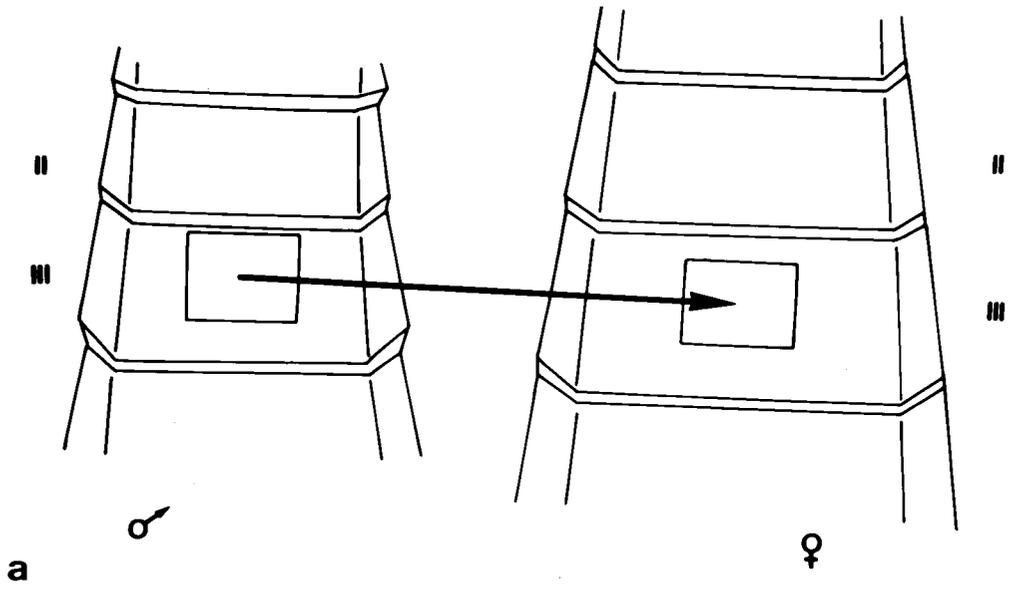
Ainsi que l'a montré l'étude histologique précédente, l'ébauche de l'appareil copulateur n'apparaît chez les larves mâles d'Anax imperator qu'au dixième stade (2 APS). Mais la détermination du territoire épidermique où celui-ci se développe est peut-être plus précoce. Afin de préciser avec le plus d'exactitude possible, le moment de cette détermination au cours de la période larvaire, nous avons réalisé entre les deux sexes, des échanges de deuxième et de troisième sternites. Pour cela, l'un des procédés employés a été la méthode des greffes, soit orthotopes (Pl. XXIV, a et b), le greffon étant implanté conformément à sa position d'origine sur un autre individu, soit hétérotopes (Pl. XXV, a et b), l'implantation étant effectuée ailleurs que dans la position normale. Des fragments de paroi abdominale comprenant les deuxième et troisième sternites ont également été implantés dans la cavité abdominale d'autres individus (Pl. XXIV, c), cette opération constituant le deuxième type de greffe réalisé. Enfin dans le but de préciser la manière dont est déterminé le territoire à l'origine de l'appareil copulateur, nous avons effectué diverses opérations, par exemple des rotations de 90° ou de 180° de portions de deuxième ou de troisième sternites abdominaux (Pl. XXV, d) ou bien des excisions de certaines de ces portions (Pl. XXV, c).

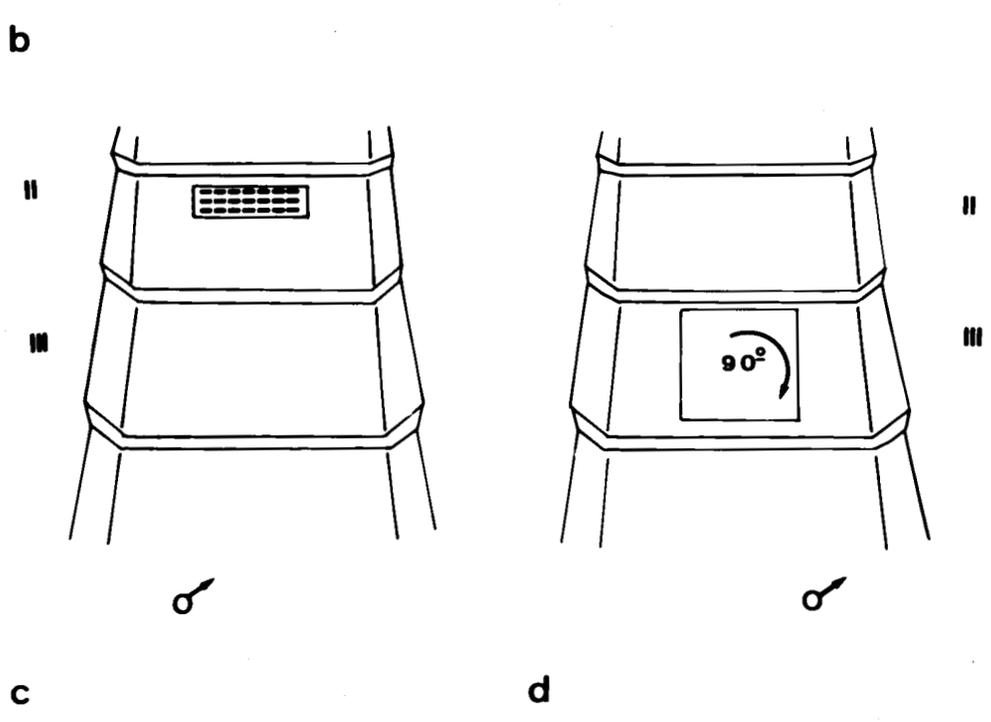
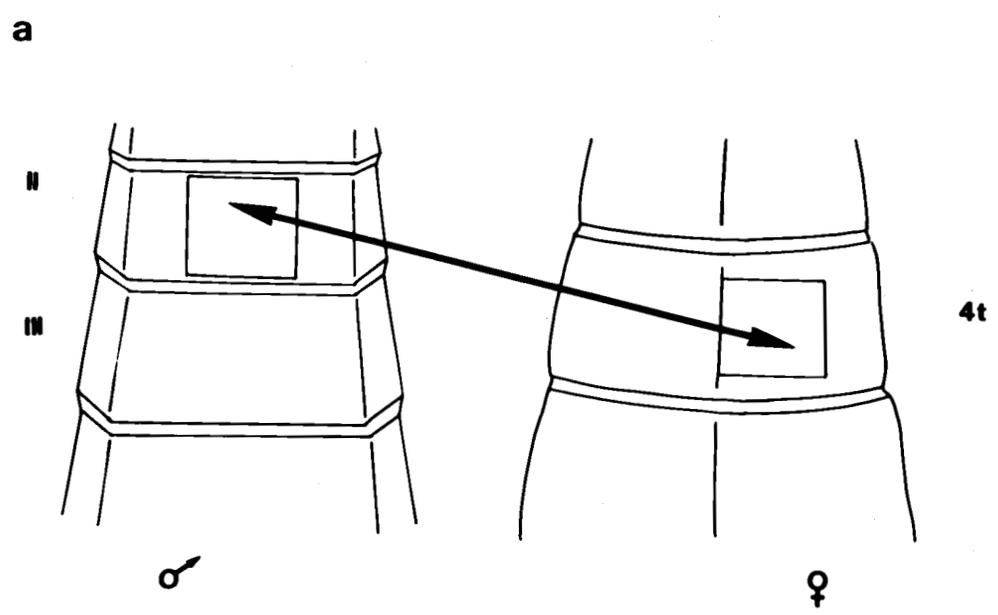
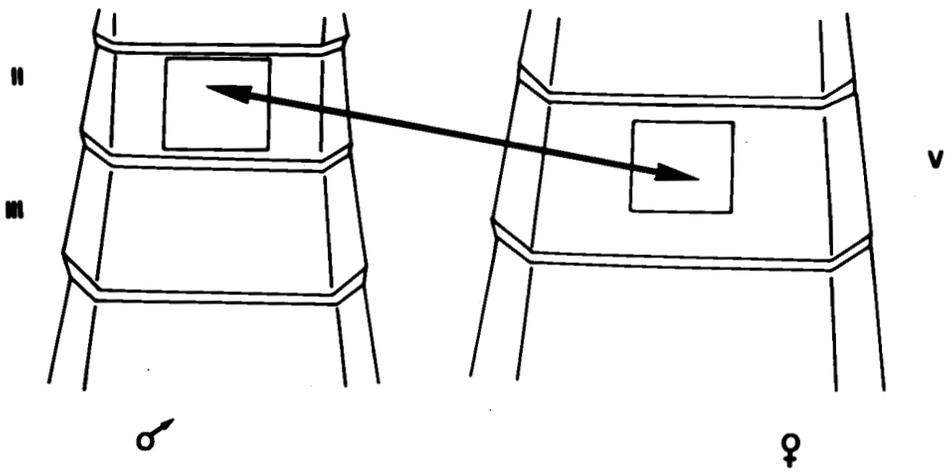
Planche XXIV

- Fig. a : Greffe orthotope du 3ème sternite mâle sur une larve femelle plus âgée.
- Fig. b : Echange orthotope de 2ème sternite entre larves du même âge et de sexe différent
- Fig. c : Greffe intrahémocoelienne des 2ème et 3ème sternites abdominaux d'une larve jeune, dans une larve hôte plus âgée
- II - III 2ème et 3ème sternites abdominaux
4 t. 4ème tergite

Planche XXV

- Fig. a : Echange hétérotope entre le 2ème sternite mâle et le 5ème sternite femelle de larves du même âge
- Fig. b : Echange hétérotope entre le 2ème sternite mâle et le 4ème tergite femelle de larves du même âge
- Fig. c : excision d'une partie du 2ème sternite mâle
- Fig. d : rotation de 90° du 3ème sternite mâle
- II, III, V 2ème, 3ème et 5ème sternites abdominaux
4 t. 4ème tergite





Technique opératoire

Les opérations ont toujours porté sur des larves d'Anax imperator venant de muer, dont les téguments ont le maximum de chances de se cicatriser. Les greffons prélevés sur les larves anesthésiées ont été entreposés dans des saïières contenant du liquide physiologique et des antibiotiques (pénicilline), avant d'être transplantés sur des larves porte-greffes, dans une fenêtre de même dimension que celle du greffon (cas des greffes in situ) ; un carré de papier filtre imbibé de liquide physiologique et d'antibiotiques placé sur la plaie, a servi à maintenir le greffon en place tout en limitant l'hémorragie des larves opérées qui ont séjourné 12 heures en chambre humide.

L'introduction des fragments de paroi abdominale dans la cavité abdominale de porte-greffes a été effectuée par une ouverture pratiquée dans la membrane intersegmentaire séparant les quatrième et cinquième tergites abdominaux ; le séjour des larves opérées en chambre humide n'a été dans ce cas, que de quelques heures.

Résultats

a - Greffes orthotopes de deuxième ou de troisième sternite de jeunes larves mâles sur des larves femelles plus âgées.

Ces expériences constituent la première tentative pour tester l'état de détermination des territoires à l'origine de l'appareil copulateur. Le deuxième ou le troisième sternite abdominal excisé sur des larves mâles du neuvième (3 APS) ou du dixième (2 APS) stade ont été transplantés de manière orthotope sur des larves femelles de l'avant dernier ou du dernier stade. Sur les six porte-greffes arrivés à terme, les greffons ont subi la métamorphose, en même temps que celle de leur hôte. La morphogenèse de l'appareil copulateur s'est donc déroulée prématurément, le greffon ayant parfois "sauté" jusqu'à quatre intermues ; elle a donné naissance à un organe souvent incomplet (sans doute le territoire excisé sur le donneur l'a-t-il été aussi) et de taille réduite (Pl. XXVI, a ; Pl. XXVII, a).

Il convient de remarquer l'étonnante fidélité de la réponse du tissu épidermique aux conditions hormonales déclenchant la métamorphose déjà éprouvée par WIGGLESWORTH (1934) et PIEPHO (1938) qui ont pu provoquer la métamorphose de l'épiderme de larves néonates de Rhodnius et de Galleria.

Planche XXVI

Greffes orthotopes du 2ème sternite abdominal

Fig. a : (G x 10) sternite mâle (2 APS) sur larve femelle (ADS)

Seul le territoire correspondant aux hameçons antérieurs (h. a.) semble avoir été greffé. Remarquer la taille réduite de ces hameçons

p. c. processus caudal du 2ème sternite de l'hôte
s. 2ème sternite de l'hôte

Fig. b : (G x 10) sternite mâle (ADS) sur larve femelle du même âge.

Le territoire correspondant à la ligule et à l'hameçon postérieur gauche n'a pas été greffé

h. a. hameçon antérieur
h. p. hameçon postérieur } provenant du donneur
l. a. lame antérieure

Fig. c : (G x 9) sternite femelle (3 APS) sur larve mâle du même âge.

L'excision incomplète du 2ème sternite mâle a permis le développement des territoires morphogénétiques restés en place : hameçons postérieurs (h. p.) et ligule (l.)

b. g. bulbe génital } sur le 3ème sternite de l'hôte
p. pénis
s. partie du 2ème sternite femelle greffé

Fig. d : (G x 13) sternite femelle (3 APS) sur larve mâle du même âge.

L'excision incomplète du 2ème sternite mâle a permis le développement des territoires morphogénétiques restés en place : hameçon antérieur gauche (h. a.), hameçons postérieurs (h. p.) et ligule (l.)

s. partie du 2ème sternite femelle greffé





Les territoires organoformateurs de l'appareil copulateur sont donc définitivement déterminés dès le neuvième stade (3 APS) ; cette détermination paraît même très précise puisque, semble-t-il, ne se développent que les organes correspondant à la seule parcelle du territoire fournie par le donneur. Il semble donc y avoir une absence totale de régulation. Cependant, celle-ci reste à vérifier car la seule intermue au maximum séparant l'opération de la métamorphose pourrait être un laps de temps insuffisant pour permettre la réalisation d'une possible régulation. Il est donc indispensable, pour préciser le moment où s'effectue la détermination, d'une part, d'opérer sur des stades plus jeunes, d'autre part, de choisir des hôtes plus jeunes également.

b - Echanges orthotopes de deuxième ou de troisième sternite entre larves de même âge et de sexe différent

Les transplantations ont été effectuées du huitième (4 APS) au treizième stade (DS) sur 300 larves environ. Les résultats ont été dépouillés après la métamorphose des 111 imagos obtenues (environ 60 % de mortalité post-opératoire) et sont reportés sur le tableau suivant qui indique les différents types d'opération et leur résultat (les chiffres indiquent le nombre d'imagos obtenues), en fonction de l'âge et du sexe des larves.

Age à 1 ^o opération (n° d'ordre du) stade	Hôte ♀ (nombre d'individus ayant atteint le stade imaginal)		Hôte ♂	
	Nature du greffon ♂		Nature du greffon ♀	
	2 ^{ème} sternite	3 ^{ème} sternite	2 ^{ème} sternite	3 ^{ème} sternite
DS (13)	2	3	2	4
ADS (12)	3	4	3	3
APS (11)	3	10	4	4
2 APS (10)	8	7	8	6
3 APS (9)	7	5	4	8
4 APS (8)	1	2	4	3
5 APS (7)	0	1	1	1

Planche XXVII

Greffes orthotopes du 3ème sternite abdominal

Fig. a : (G x 10) sternite mâle (3 APS) sur larve femelle (DS).

Seul le territoire correspondant au bulbe génital (b. g.) semble avoir été greffé. Remarquer la taille réduite de l'organe obtenu

s. 3ème sternite de l'hôte

Fig. b : (G x 10) sternite mâle (ADS) sur larve femelle du même âge.

La totalité des territoires présomptifs des organes mâles du donneur (b. g. : bulbe génital ; p. : pénis) semble avoir été implantée.

Fig. c : (G x 12) sternite mâle (APS) sur larve femelle du même âge

b. g. bulbe génital

s. partie du 3ème sternite mâle greffé

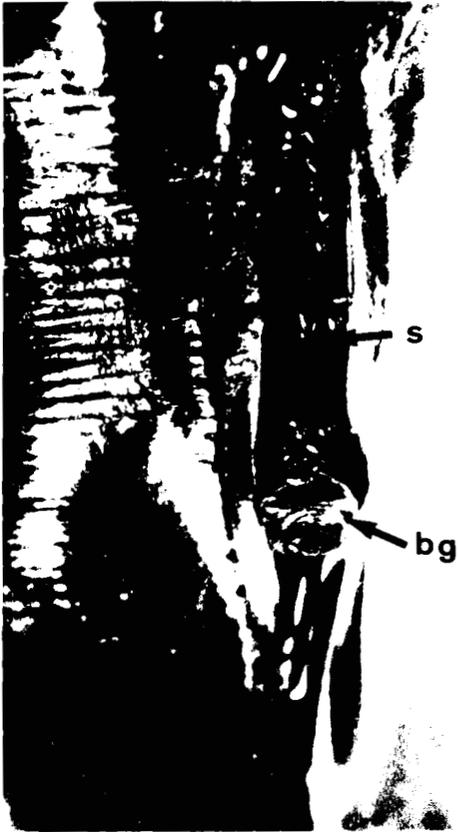
Le territoire correspondant au pénis n'a pas été implanté.

Fig. d : (G x 7) sternite femelle (DS) sur larve mâle du même âge

s. 3ème sternite femelle greffé

L'excision des territoires correspondants au bulbe génital et au pénis a été complète.





BUS
GILLF.

Ces résultats nous montrent que, dans tous les cas, le greffon se développe conformément au sexe du donneur, indépendamment de celui de l'hôte (Pl. XXVI, b, c, d ; Pl. XXVII, b, c, d). La détermination sexuelle des deuxième et troisième sternites est donc fermement acquise dès le septième stade larvaire chez Anax imperator.

Il convient de remarquer qu'il est rare d'obtenir chez une femelle, un deuxième ou un troisième sternite mâle complet comprenant la totalité des parties correspondantes de l'appareil copulateur et inversement chez un mâle, un deuxième ou un troisième sternite de type femelle. Le territoire présomptif des organes mâles du deuxième sternite semble occuper plus du tiers de la surface du sternite larvaire (c'est-à-dire, la longueur du sternite sur plus du tiers médian de la largeur). Son excision souvent incomplète, laisse sur le donneur quelques formations mâles (par exemple la ligule), le receveur acquérant seulement les autres apportées par le greffon (lame antérieure, hameçons antérieurs et postérieurs). La même remarque peut être faite pour le troisième sternite, la surface du territoire présomptif du bulbe génital et du pénis ne comprenant que la moitié antérieure du tiers médian environ. Il semble donc se confirmer que la détermination de ces deux sternites est du type mosaïque dès le septième stade larvaire chez Anax imperator.

Les opérations effectuées sur des larves plus petites ont échoué. En effet, la mortalité opératoire s'est accrue considérablement en raison de la taille réduite des jeunes larves ; elle est due principalement à des lésions de la chaîne nerveuse qui entraînent une paralysie de la pyramide anale et l'asphyxie de la larve.

Afin de tourner cette difficulté, nous avons tenté l'implantation dans la cavité abdominale du porte-greffe, de très jeunes greffons, fragments de la paroi abdominale comprenant les deuxième et troisième sternites, qui se trouvaient ainsi soumis à une culture in vivo. Cette technique de cultures de fragments épidermiques dans la cavité abdominale d'un hôte a été menée avec succès par PIEPHO (1938) et lui a permis d'analyser la réaction de l'épiderme banal de Galleria dans un contexte hormonal varié.

c - Greffes intrahémocoeliennes des deuxième et troisième sternites abdominaux de larves jeunes (stades 1 à 7), dans des larves hôtes âgées d'au moins sept stades

Des deuxième et troisième sternites prélevés au premier, troisième, cinquième ou septième stade ont été introduits dans l'abdomen de larves âgées d'au moins sept stades. Pour cela, il a fallu réaliser deux élevages "ab ovo" décalés dans le temps, l'un fournissant les larves hôtes, l'autre les greffons. Dans de tels élevages, la mortalité est habituellement d'environ 50 %. Un élevage du mois de juin a fourni 110 larves parvenues au septième, huitième ou neuvième stade et qui ont servi de porte-greffes, tandis que les greffons ont été prélevés sur les larves d'un autre élevage commencé en juillet. Les résultats n'ont pu être dépouillés que six à dix mois plus tard, après la métamorphose qui a eu lieu durant l'hiver suivant. Dans l'intervalle, de nombreuses larves opérées ont été perdues en raison de la mortalité normale en cours d'élevage, d'autres rendues inutilisables à la suite d'un rejet du greffon. Une deuxième série expérimentale fut tentée en septembre de la même année avec 300 larves prélevées dans un bassin artificiel qui avait été ensemencé en juin avec des oeufs recueillis dans la nature. Aucune de ces larves, opérées ou non, n'a survécu au laboratoire ; les raisons de cette mortalité anormale n'ont pu être définies avec certitude.

Au total, seize imagos porte-greffes, répartis selon le tableau suivant, ont atteint la métamorphose.

Sexe de l'hôte	Age (stade) au moment de l'opération							
	des greffons de sexe ♂				des greffons de sexe ♀			
	1	3	5	7	1	3	5	7
♂	2	0	0	0	3	3	0	0
♀	2	0	1	4	0	0	1	0

Planche XXVIII

Greffes intrahémocoeliennes des 2ème et 3ème sternites abdominaux de larves jeunes (stades 1 à 7), dans des larves hôtes âgées d'au moins 7 stades

Fig. a : (G x 120) greffon du stade 1 et du sexe mâle ;
hôte du sexe femelle

m. muscles implantés avec l'épiderme

Fig. b : (G x 300) greffon du stade 1 et du sexe mâle ;
hôte du sexe mâle

e. épiderme

ex. exuvies successivement déposées

Fig. c : (G x 500) greffon du stade 3 et du sexe femelle ;
hôte du sexe mâle

e. épiderme bordant la vésicule

c. cuticule

Fig. d : (G x 300) greffon du stade 5 et du sexe femelle ;
hôte du sexe femelle

ex. exuvie

g. ganglion implanté avec l'épiderme





Dans la cavité abdominale de ces imagos, on peut aisément repérer par transparence, la masse des tissus implantés qui est drainée par de nombreuses trachées fournies par le porte greffe. L'examen histologique a permis de reconnaître le développement et la métamorphose de nombreux tissus (muscles, trachées, ganglion nerveux) implantés en même temps que l'épiderme (Pl. XXVIII, a, d ; Pl. XXIX, a, b). Ce dernier forme une vésicule qui mue en même temps que l'hôte et contient les exuvies successivement rejetées (Pl. XXVIII, b et d).

Dans deux cas, l'épiderme du greffon composé d'un épithélium plat aux cellules très espacées, ne semble pas s'être développé (Pl. XXIX, a) et dans trois cas, on ne peut observer qu'un massif fibreux encapsulant des débris cuticulaires (Pl. XXIX, c). Ces cinq cas sont certainement le résultat d'une détérioration de l'épiderme au moment de la greffe et s'opposent aux onze autres vésicules bordées d'un épiderme aux cellules hautes et serrées (Pl. XXVIII, c).

Bien que le nombre des opérations soit faible, il semble que l'on puisse distinguer le comportement des greffons jeunes (sept), de celui des greffons prélevés sur des larves plus âgées (quatre).

Pour les greffons prélevés aux premier, troisième et cinquième stades, quel que soit le sexe du donneur ou de l'hôte, il n'a jamais été possible de constater le moindre développement d'un appareil copulateur ni même une morphogenèse partielle dans ce sens et la dernière cuticule déposée ne montre aucune ornementation particulière (Pl. XXVIII, b, c, d).

Les sternites prélevés sur des larves mâles du septième stade, implantés dans la cavité abdominale de larves femelles âgées d'au moins huit stades, ont formé d'énormes vésicules multilobées dans lesquelles nous avons recherché la présence d'un appareil copulateur (Pl. XXIX, d). Il est certain que ces greffons se sont métamorphosés, car la cuticule imaginale épaisse, hérissée de tubercules, que nous avons décelée, peut correspondre à celle qui tapisse la partie proximale du gland du pénis adulte. Cependant, il faut signaler d'une part que cette structure cuticulaire est proche de celle qui tapisse les pleures de l'imago, lesquelles ont été entraînées avec les deuxième et troisième sternites au moment de la greffe, d'autre part, que la cuticule hérissée d'épines, caractéristique des excroissances latérales du gland du pénis n'a été trouvée dans aucune vésicule. De plus, la déformation des sternites lors de l'agencement

Planche XXIX

Greffes intrahémocoeliennes des 2ème et 3ème sternites abdominaux de larves jeunes (stades 1 à 7), dans des larves hôtes âgées d'au moins 7 stades

Fig. a : (G x 120) greffon du stade 1 et du sexe femelle ; hôte du sexe mâle

Le greffon ne semble pas s'être développé.

- e. épiderme plat
- g. ganglion implanté avec l'épiderme

Fig. b : (G x 300) greffon du stade 1 et du sexe mâle ; hôte du sexe mâle. Trachée implantée avec l'épiderme et ayant déposée des exuvies successives (ex.)

Fig. c : (G x 500) greffon du stade 3 et du sexe femelle ; hôte du sexe mâle. Encapsulement du greffon

- c. débris cuticulaire

Fig. d : (G x 300) greffon du stade 7 et du sexe mâle ; hôte du sexe femelle. Vésicule multilobée

- c. cuticule épaisse hérissée de tubercules irréguliers.



315
100

des vésicules, le hasard du plan de coupe et le faible nombre de résultats obtenus ne permettent pas la reconnaissance formelle d'un appareil copulateur qui aurait pu se développer à partir de ces vésicules.

Etant donné que les greffes orthotopes décrites précédemment et réalisées au septième stade larvaire ont montré la détermination sexuelle des deuxième et troisième sternites abdominaux dès ce stade, l'absence apparente de morphogenèse d'un appareil copulateur dans le cas d'une greffe intrahémocoelienne réalisée à l'aide d'un greffon du même stade semble donc être due à la technique opératoire utilisée.

Pour tenter de tester la capacité de morphogenèse de l'appareil copulateur dans ces conditions expérimentales (greffe intrahémocoelienne), nous avons implanté le deuxième ou le troisième sternite mâle de larves du dernier stade, dans la cavité abdominale de larves du même âge. Ces greffons assez volumineux se plaquent contre le tergite de l'hôte. Chez l'adulte, après la mue imaginale, ils sont incorporés à l'épiderme de l'hôte et se sont développés en surface (Pl. XXX, a, b). Ce phénomène de rejet a donc empêché la formation de vésicules épidermiques dans la cavité abdominale de l'hôte, ce qui ne nous a pas permis de vérifier si la morphogenèse de l'appareil copulateur est possible en culture intrahémocoelienne.

Quoi qu'il en soit, il semble que l'absence de différenciation sexuelle des greffons implantés dans la cavité abdominale de larves du ~~septième~~^{huitième} stade soit due à la technique expérimentale utilisée : la situation aberrante du greffon, sa forme en vésicule peuvent être incompatibles avec des mouvements morphogénétiques indispensables. Cette technique ne nous a pas permis de vérifier si la détermination sexuelle de l'appareil copulateur était antérieure au septième stade chez Anax imperator bien qu'elle ait donnée d'excellents résultats avec, par exemple, le territoire épidermique organoformateur de l'appareil génital de Tenebrio (HUET, 1968) et le disque imaginal de Drosophila (HADORN, 1963...). Il faut noter toutefois qu'un disque imaginal d'Holométabole ne peut pas être assimilé à l'ébauche d'appareil copulateur des Odonates (Insectes Hétérométaboles) constituée à l'origine d'un épithélium plan en continuité avec l'épiderme banal.

Afin de tenter de préciser la manière dont est déterminé le territoire à l'origine de l'appareil copulateur, et de voir dans quelle mesure une structure en vésicule peut constituer le seul obstacle à une différenciation normale de cet organe, nous avons effectué des greffes hétérotopes des deuxième et troisième sternites mâles sur des larves femelles du même âge.

d - Echanges hétérotopes entre le deuxième ou le troisième sternite abdominal ♂ et le cinquième sternite ♀ de larves du même âge

Ces transplantations effectuées du neuvième (3 APS) au treizième stade (DS) ont donné 18 résultats tout à fait comparables à ceux décrits précédemment, à savoir que le développement des greffons s'effectue toujours conformément au sexe du donneur et non du receveur et, de plus, semble du type mosaïque (Pl. XXX, c et d).

Par ailleurs, il convient de remarquer que la situation anormale dans laquelle ont été placés les territoires organoformateurs de l'appareil copulateur et le cinquième sternite n'entrave aucunement leur développement respectif. Enfin, la différence de taille entre les deuxième et troisième sternites, d'une part, et le cinquième sternite d'autre part, a eu pour conséquence, dans le cas des greffes des premiers sur les seconds, un développement des organes constitutifs occupant des positions anormales le long de l'axe longitudinal médian du cinquième sternite. Ainsi le bulbe génital se développe plus postérieurement que lorsqu'il est en place sur le troisième sternite et les organes issus du deuxième sternite se retrouvent au centre du cinquième sternite. L'appareil copulateur des Odonates semble donc échapper à ce stade à l'action d'un éventuel facteur gradient tel qu'il a été décrit chez Rhodnius (LOCKE, 1966), Oncopeltus (LAWRENCE, 1966b) et Galleria (STUMPF, 1968), dirigeant selon son niveau, l'apparition de telle ou telle structure cuticulaire. Seules des expériences de rotations de territoires menées systématiquement pourront apporter des conclusions définitives à ce sujet.

Au cours des greffes intrahemocoeliennes et de la constitution des vésicules, les portions latérales du greffon, qui peuvent être de nature tergale, sont peut-être venues se souder à la partie principale des sternites. Afin de vérifier si ce voisinage d'épidermes d'origine différente (sternale et tergale) n'est pas responsable de l'absence

Planche XXX

Fig. a - b : (G x 12) Greffes intrahemocoeliennes dans une larve du dernier stade, d'un 2ème sternite (fig. a) ou d'un 3ème sternite abdominal (fig. b) d'une larve mâle du même âge.

Les greffons sont rejetés sur le tergite

b. g.	bulbe génital
h. a.	hameçon antérieur
h. p.	hameçon postérieur
l.	ligule
p.	pénis (très déformé)
t.	tergite

Fig. c - d : (G x 12) greffes hétérotopes du 2ème sternite mâle du 3 APS (fig. c) et du 3ème sternite mâle du 2 APS (fig. d) sur le 5ème sternite de larves femelles de même âge.

Remarquer la position décalée en direction postérieure de la lame antérieure (l. a.) et des hameçons antérieurs (h. a.) d'une part, du bulbe génital (b. g.) d'autre part.





apparente de différenciation de l'appareil copulateur, nous avons effectué des greffes hétérotopes de deuxième et troisième sternites ♂ sur des tergites ♀.

e - Echanges hétérotopes entre le deuxième ou le troisième sternite abdominal ♂ et le quatrième tergite ♀ de larves du même âge

Trente huit imagos ont été obtenues à partir de larves opérées entre le huitième (4 APS) et le treizième stade (DS). Dans tous les cas le greffon est rejeté par l'hôte ou du moins un phénomène de rejet est amorcé. Si la transplantation a eu lieu sur des jeunes larves, le rejet est total en raison du nombre suffisant de mues effectuées par le receveur ; si elle a eu lieu sur des larves plus âgées, le rejet n'a pu être mené à bien et le greffon se développe selon son origine, sur une excroissance du tégument. Un phénomène semblable a déjà été observé par LEFEUVRE (1969) après des greffes hétérotopes d'ébauches alaires chez la Blatte. En outre, le rejet du greffon doit s'accompagner d'une régénération des cellules du portegreffe. La régénération complète observée sur le quatrième tergite (Pl. XXXI, a et b), y compris les productions cuticulaires, s'oppose au mode de régénération du sternite qui reste non sclérifié et glabre (Pl. XXXI, c et d) et dont la cuticule est tout à fait comparable à celle produite par exemple, par le territoire de cicatrisation de Galleria (BARBIER, 1965).

De ces deux dernières expériences, greffes hétérotopes sur le cinquième sternite et le quatrième tergite, il ressort que le greffon, sexuellement déterminé, se différencie dans n'importe quel emplacement pour peu qu'il soit implanté en surface dans le tégument. Cependant, en position hétérotope sur un tergite, le développement de l'appareil copulateur est gêné par un phénomène de rejet et il est possible que cette incompatibilité tissulaire existant entre sternite et tergite soit la principale raison de l'absence de développement de l'appareil copulateur à l'intérieur de la cavité abdominale.

Enfin, deux dernières séries expérimentales ont été entreprises, dans le but de vérifier, pour l'une le caractère "mosaïque" de la détermination de l'appareil copulateur, pour l'autre, l'absence d'un

Planche XXXI

Fig. a - b : (G x 12) greffes hétérotopes du 2ème sternite mâle (fig. a) et du 3ème sternite mâle (fig. b) de l'APS, sur le 4ème tergite d'une larve femelle du même âge.

Remarquer le rejet des greffons (flèche : formation paire correspondant peut-être à la lame antérieure ; b. g. bulbe génital) et la régénération du tergite t. (cuticule normale)

Fig. c - d : (G x 12) greffes hétérotopes du 4ème tergite femelle de l'APS sur le 2ème sternite (fig. c) et le 3ème sternite (fig. d) de larves mâles de même âge.

Remarquer le rejet des greffons (t : portion de tergite greffée) et la régénération imparfaite du sternite (c. : cuticule glabre)





300
000

gradient antéro-postérieur des différentes parties de cet appareil.

Seules des expériences de régénération peuvent vérifier l'absence ou non d'une régulation au niveau des deuxième et troisième sternites O_1^1 . En effet, la régulation pourrait être entravée, dans le cas des greffes orthotopes d'une partie du territoire, par la partie adjacente restée en place sur le porte-greffe.

f - Excisions d'une partie du deuxième ou du troisième sternite abdominal mâle

Sur les huit imagos obtenues, aucune d'elles n'a montré de régénération du territoire excisé. La cuticule de régénération est nue et non sclérifiée (Pl. XXXII, c) à la suite des opérations réalisées sur des larves âgées (ADS-DS) alors qu'elle semble en mesure de retrouver son aspect normal (Pl. XXXII, d), après une opération plus précoce (APS). Il nous est impossible d'apporter des conclusions définitives à ce sujet, le nombre d'expériences réalisées étant trop faible. Celles-ci permettent cependant de confirmer la détermination de type "mosaïque" des territoires à l'origine de l'appareil copulateur.

HUET (1968), chez Tenebrio, a abouti à un résultat totalement différent, le territoire épidermique organoformateur de l'appareil génital de Tenebrio faisant preuve d'une grande capacité de régulation au dernier stade larvaire. Par contre, le disque génital de Drosophila, à ce même stade, est une mosaïque de territoires déterminés (HADORN, 1963).

Enfin, pour vérifier s'il y a véritablement absence d'un gradient antéro-postérieur au niveau du sternite des Odonates, il convient de procéder à des expériences de rotations de territoires, inversant ~~leur~~ leur orientation primitive. Des contacts anormaux ainsi établis, provoquant une perturbation du gradient, sont rendues responsables de morphogenèses à des places inhabituelles par LOCKE (1966), LAWRENCE (1966b), STUMPF (1968).

g - Rotations de 90° ou de 180° du deuxième ou du troisième sternite mâle

Le développement des dix greffons implantés pour la plupart à l'APS ou au 2 APS s'effectue conformément à la nouvelle orientation qui leur a été imposée et semble ainsi totalement indépendant du facteur gradient.

Planche XXXII

Fig. a et b : (G x 10) Rotation de 90° du 2ème sternite (fig. a) et du 3ème sternite (fig. b) de larves mâles à l'APS

Remarquer la direction nouvelle imposée et conservée par les greffons et l'aspect de la cuticule de régénération (c.)

Fig. c : (G x 10) excision de la partie postérieure du 2ème sternite d'une larve mâle du DS (absence de la ligule et des hameçons postérieurs). Remarquer la cuticule glabre (c.) qui recouvre l'épiderme sternal régénéré.

Fig. d : (G x 10) excision de la partie antérieure du 2ème sternite d'une larve mâle de l'APS (absence de lame antérieure).

remarquer l'aspect de la cuticule de régénération (c.)

- c. cuticule de régénération
- b. g. bulbe génital
- h. a. hameçon antérieur
- l. ligule
- l. a. lame antérieure
- s. portion de sternite restée en place





Cependant, les territoires greffés paraissent subir un rejet, les cellules voisines ne régénérant qu'imparfaitement et déposant une cuticule non sclérifiée (Pl. XXXII, a, b).

Le changement de direction infligé aux territoires à l'origine de l'appareil copulateur n'empêche donc pas le développement de ce dernier. Celui-ci est cependant perturbé par un phénomène de rejet.

: Discussion et conclusion :

Nos expériences de transplantation des territoires formateurs de l'appareil copulateur des Odonates dont les résultats viennent d'être exposés nous permettent de reconnaître un certain nombre de faits. Ces faits qui seront discutés à la lumière des résultats obtenus par d'autres auteurs, sur des Insectes d'ordres différents sont les suivants :

- la détermination de l'appareil copulateur des Odonates est précoce (avant le septième stade larvaire d'Anax imperator qui en compte en moyenne treize)

- elle est du type "mosaïque", chaque territoire semblant déterminé partie par partie.

- elle n'a besoin pour se réaliser, que d'être placée dans les conditions hormonales de la métamorphose.

- enfin, il n'est possible de la perturber, qu'en plaçant les territoires considérés dans un environnement "hostile" qui les rejette (tergite, hémolymphe).

Il reste à savoir si la précocité et la stabilité de la détermination de ce caractère sexuel secondaire est une règle générale chez les Insectes et si elle s'accorde avec un possible contrôle endocrine par les gonades, plus particulièrement par le tissu apical que nous avons observé dans les jeunes testicules.

a - Précocité de la détermination des caractères sexuels des Insectes

Il semble que cette précocité soit une règle chez la majorité des Insectes, comme l'indiquent les résultats obtenus par de nombreux auteurs utilisant la technique de greffes de territoire, avant leur différenciation sexuelle, sur des larves de sexe opposé. KOPEC (1922), LAVENSEAU (1970) chez Lymantria dispar et LEFEUVRE (1969) chez Byrsotria fumigata au premier stade larvaire réalisent cette expérience avec des

disques imaginaires alaires et constatent que le greffon se développe conformément à son sexe originel. Tout différents sont les résultats de PAUL (1937) qui transplante la région alaire femelle, disque alaire excisé, à la place de la région alaire mâle au quatrième stade larvaire d'Orgyia antiqua : il y a régénération d'une aile mâle. Par contre la région alaire mâle régénère une aile mâle si elle est greffée dans les mêmes conditions sur un hôte femelle. L'hôte mâle, à l'inverse de la femelle, modifie donc le sexe du greffon. SELLIER (1954) réalisant les mêmes opérations du deuxième au cinquième stades larvaires de Gryllus campestris ne réussit jamais à modifier le sexe du greffon et met en doute les résultats de PAUL. Parmi les sept cas de régénération de type mâle à partir du greffon femelle chez Orgyia antiqua, il pourrait y avoir en rejet du greffon et développement de l'aile à partir de l'hôte. LAVENSEAU (1970) a d'ailleurs observé ce phénomène chez les plus petites larves opérées.

b - Rôle de la gonade dans la détermination des caractères sexuels des Insectes

La précocité de la détermination des caractères sexuels chez les Insectes ne signifie pas absence de rôle androgène des gonades même si les nombreuses expériences de castration et de transplantation de gonades n'ont pas donné le résultat escompté.

Ainsi chez les Lépidoptères, la castration suivie ou non de greffe de gonades de sexe opposé, réalisée par OUDEMANS (1899) sur des chenilles de Lymantria dispar au dernier stade larvaire, KELLOG (1904) aux troisième, quatrième et cinquième stades larvaires de Bombyx mori, MEISENHEIMER (1907-1909) chez Lymantria dispar et Orgyia gonostigma et PRELL (1915) chez Cosmotricha potatoria n'a pas modifié la réalisation des caractères sexuels. Le même résultat fut obtenu par KOPEC (1911-1913) qui a castré des chenilles de Lymantria dispar au deuxième stade et transplanté ou injecté dans certaines de ces chenilles, des gonades, du sang ou du suc d'organes génitaux. De même il a observé la régénération d'antennes femelles après leur ablation chez des larves femelles castrées ayant reçu des testicules. Plus récemment, toujours chez Lymantria dispar, SAITOH (1953) par les mêmes expériences d'ablations et de transplantations de gonades, arrive à la même conclusion.

Chez les Orthoptères, REGEN (1910) castré sans résultat Gryllus campestris et JOLY (1968) fait l'échange des gonades entre larves mâles et femelles de Locusta migratoria opérées moins d'une heure après leur éclosion. La gonade implantée se développe selon son sexe d'origine et n'interfère en rien avec la différenciation sexuelle de l'hôte. Ce dernier auteur signale cependant que dès l'éclosion, les caractères sexuels de Locusta migratoria sont nettement différenciés. Enfin, MENON (1969) transplante les gonades de Tenebrio molitor de jeunes larves dans des hôtes encore sexuellement indifférenciés, sans constater d'inversion sexuelle.

Chez les Odonates la castration n'a pu être réalisée du fait de la grande extension des gonades dans la cavité abdominale larvaire (elles couvrent cinq segments chez la femelle, deux segments chez le mâle) et de leur emplacement au contact même du vaisseau dorsal.

Jusqu'à maintenant, seule NAISSE (1965, 1966 a) a obtenu la masculinisation totale de larves femelles castrées ou non de Lampyris nocticula par implantation de testicules de larves de quatrième ou cinquième stade et la masculinisation d'un ovaire larvaire implanté dans des larves mâles de quatrième ou cinquième stade ; cet auteur attribue un rôle androgène au tissu apical du testicule qui serait responsable de la détermination tardive des caractères sexuels.

A l'égal de ce cas unique de détermination tardive du sexe, la détermination précoce des nombreux autres Insectes étudiés pourrait néanmoins résulter de l'action d'un tissu apical présent chez la très jeune larve ou chez l'embryon et qui aurait disparu ou aurait perdu son action très tôt. Le résultat négatif des transplantations s'expliquerait ainsi tout simplement par une intervention trop tardive.

c - Le tissu apical

De nombreux auteurs ont décrit un "tissu apical" caractérisé, comme son nom l'indique, par sa position à l'apex des follicules testiculaires et formé de cellules mésodermiques.

Ainsi chez Musca domestica, les cellules apicales formeront la paroi des cystes comme chez Calliphora erythrocephala (LELOUP communication personnelle) et donneront naissance au cours de la spermiogénèse

aux cellules nourricières (RAMADE, 1961). De même la formation du complexe apical chez les Orthoptères a lieu alors que les gonades sont déjà différenciées, par exemple au quatrième stade larvaire chez Gryllus domesticus (ECHARD, 1962). La cellule apicale des Orthoptères (NELSEN, 1931) comme celle des Lépidoptères (VERSON, 1911) aurait un rôle nourricier.

Par contre chez Drosophila melanogaster (ABOIM, 1945), une dizaine de cellules apicales sont présentes dans le testicule des deux premiers stades et disparaissent au troisième stade larvaire (LAUGE, 1969 a) en même temps qu'apparaissent les autres caractères sexuels à partir du seul disque génital identique dans les deux sexes (LAUGE, 1967). Chez Oscinella pusilla, LAUGE et BORDON (1971) distinguent des cellules apicales différentes des cellules interstitielles ou cystiques.

Enfin, les ébauches des gonoductes des deux sexes sont présentes dans les larves ou embryons sexuellement indifférenciés de diverses Blattes et d'Orthoptères (HEYMONS, 1895 ; NOÏROT, 1958), de Clitumnus extradentatus et Carausius morosus (CAVALLIN, 1969) de Aedes stimulans (HORSFALL et RONQUILLO, 1970). HOULET (1962), ECHARD (1968) et CAVALLIN (1969), étudiant les embryons de Periplaneta americana, Gryllus domesticus et Clitumnus extradentatus notent qu'au moment de leur sexualisation, il y a persistance ou développement de massifs mésodermiques chez le mâle, qui, au contraire, involuent chez la femelle.

Des études histochimiques ou ultrastructurales ont permis à d'autres auteurs de décrire des tissus apicaux sécréteurs dans les testicules de larves non encore sexuellement différenciées. Le tissu apical de Hypoderma bovis et Hypoderma lineatum présente des flaques de sécrétions glycogéniques et mucopolysaccharidiques jusqu'à sa disparition à la fin de la vie larvaire (BOULARD, 1968) ; celui de Tenebrio molitor est constitué de cellules dont l'ultrastructure révèle une possible activité sécrétrice alors que les caractères sexuels sont encore inexistantes (MENON, 1969).

Le terme de tissu apical n'a donc pas de signification physiologique précise puisque il peut désigner des cellules cystiques, des cellules nourricières ou des cellules sécrétrices d'hormone androgène ou susceptibles de l'être.

Quant au tissu apical des Odonates, apparu au début de la vie larvaire (quatrième stade chez Aeschna mixta), il ne présente aucun

indice de sécrétion visible et disparaît au moment de la constitution des cystes. Mais si son plein développement coïncide avec l'apparition de certains caractères sexuels, il n'en reste pas moins qu'aucune démonstration expérimentale ne permet d'infirmer ou de confirmer un rôle éventuel dans la différenciation sexuelle.

4 - CONCLUSION DE LA TROISIEME PARTIE

La détermination sexuelle de l'appareil copulateur des Odonates devant être relativement précoce, nous n'avons pu apporter aucun argument en faveur du contrôle hormonal du sexe chez les Insectes, démontré uniquement chez les Lampyre, à l'inverse des Crustacés où ce contrôle semble la règle (CHARNIAUX-COTTON, 1970 ; LEGRAND et JUCHAULT, 1970).

Il n'est pas certain d'ailleurs que le contrôle de la détermination du sexe par voie endocrine soit la règle chez tous les Insectes. On connaît depuis fort longtemps l'existence des hétérochromosomes ou chromosomes sexuels (GOLDSCHMIDT, 1937 ; BRIDGES, 1939) qui ont été observés chez des Odonates Zygoptères et Anisoptères par DASGUPTA en 1957 (le mâle serait hétérogamétique du type XO) et par KIAUTA en 1969 (l'hétérogamétie mâle peut secondairement être du type XY par fusion du chromosome X avec un autosome). Si l'action des gènes sexuels s'exerce respectivement, au niveau du cerveau des Isopodes selon LEGRAND (1967) et au niveau des glandes androgènes des Amphipodes selon CHARNIAUX-COTTON (1970), cette conception ne semble pouvoir être ^{généralisée} chez tous les Insectes. En effet, elle ne peut s'accomoder chez ceux-ci, ni de la présence d'intersexués qui sont des mosaïques de régions mâle et femelle et dont les cellules de génome identique sont immédiatement déterminées en mâle ou en femelle (SEILER, 1958 ; LAUGE, 1969 b), ni de celle des gynandromorphes, individus composés des mêmes mosaïques mais dont les cellules ont des génomes différents. L'obtention, après action des chocs thermiques, d'intersexués phénotypiques (BERGERARD, 1961 ; HOULET, 1962 ; ANDERSON et HORSFALL, 1963, 1965) et la modification, par la même méthode, des intersexués génotypiques (SEILER, 1958 ; MOSBACHER, 1966 ; LAUGE, 1969 c) apportent des arguments en faveur du contrôle génétique du sexe. Celui-ci agirait directement sur l'effecteur ainsi que l'indique par exemple la modification

des caractères sexuels primaires indépendamment de la nature des gonades (LAUGE) bien qu'il reste difficile de localiser l'action de la température.

En résumé, s'opposent actuellement chez les Arthropodes, deux conceptions du contrôle du sexe : un contrôle génétique indirect impliquant l'existence de relais hormonaux (chez les Crustacés et chez le Lampyre) et un contrôle génétique direct (chez d'autres Insectes). Le premier a été démontré chez des animaux présentant une longue période d'indifférenciation sexuelle qui n'existe pas chez la plupart des Insectes. Chez ceux-ci la différenciation précoce du sexe repousse les interventions expérimentales relatives à la détermination sexuelle sur les très jeunes larves et même sur les embryons, ce qui implique de sérieuses difficultés techniques. Il faut donc maintenant mener l'investigation chez l'embryon au niveau du cerveau, des glandes endocrines et des gonades, bien qu'il ne faille pas à tout prix vouloir généraliser le cas du Lampyre dans ses moindres détails. Il ne faut pas non plus rejeter l'idée du contrôle génétique direct du sexe qui seul peut expliquer le gynandromorphisme.

De toute manière, dans tous les cas, existent des gènes présexuels, situés sur les autosomes, ou bien séparés et constituant les hétérochromosomes. Seuls le moment et le lieu d'action de ces gènes diffèrent selon les espèces ; leur intervention serait tardive et s'exercerait au niveau des glandes androgènes chez les Amphipodes, ou du cerveau chez les Isopodes et chez le Lampyre ; elle serait précoce au niveau de l'oeuf et de chaque cellule du jeune embryon de la Drosophile.

Dans le premier cas, l'existence des gènes des morphogénèses mâle et femelle (gènes prosexuels) expliquerait la facilité de l'inversion du sexe des gonies et du soma alors que dans le second cas toute inversion sexuelle serait le résultat d'une action sur les gènes présexuels eux-mêmes. La spécialisation du génôme sexuel, de plus en plus précise et précoce suivrait la phylogénie (BRIEN, 1970 ; LAUGE, 1970). Il est évident que toutes ces hypothèses ne reposent pas sur des bases solides que seule une analyse morphologique et physiologique pourrait assurer.

CONCLUSION GENERALE

L'appareil copulateur mâle des Odonates est un organe de structure complexe, porté par les deuxième et troisième sternites abdominaux. Son étude anatomique et celle de son fonctionnement ont fait l'objet d'un important travail de PFAU (1971) dont les résultats sont sensiblement conformes aux nôtres. La détermination et la différenciation de cet organe ont plus particulièrement mérité notre attention.

En effet, bien que son développement s'effectue tardivement, à la fin de la vie larvaire, et semble dépendre, de ce fait de l'équilibre hormonal qui contrôle la métamorphose, la détermination de l'appareil copulateur est précoce et doit avoir lieu au cours de la première moitié de la vie larvaire. Certes, cette détermination sexuelle pourrait être contrôlée directement par des gènes portés par les hétérochromosomes ; elle semble cependant coïncider avec le développement dans le testicule, d'un tissu apical, dont on sait qu'il secrète, tout au moins chez le Lampyre, un facteur androgène. L'étude expérimentale que nous avons menée, essentiellement par la technique des greffes de territoires épidermiques n'a pas permis de choisir entre ces deux possibilités.

Par contre, le contrôle endocrinien de la différenciation de l'appareil copulateur pendant la métamorphose a pu être précisé par voie expérimentale. En effet, le développement de cet organe semble placé sous le double contrôle de l'hormone juvénile et de l'ecdysone. Le premier s'effectue au cours des cinq premiers jours du dernier stade larvaire à la suite de la baisse du taux de l'hormone juvénile et a pour effet l'orientation des cellules vers le sens imaginal. Le second est le résultat de l'activation de ces cellules par l'ecdysone qui dévoile leur nouvelle orientation. Cette action de l'hormone de mue est modulée selon son taux, son temps d'application et les organes considérés.

Le développement de l'appareil copulateur des Odonates, organe complexe et unique chez les Insectes semble donc placé sous le même contrôle endocrinien que l'épiderme banal.

RESUME

L'emplacement original et la structure complexe de l'appareil copulateur mâle des Odonates sont à l'origine du mode d'accouplement très particulier de ces Insectes. L'étude anatomique de cet organe a servi de base, non seulement à l'interprétation de son rôle au cours de l'accouplement, mais aussi à l'analyse de son développement.

Ce dernier ne s'effectue qu'à la fin de la vie larvaire et semble placé sous le double contrôle de l'hormone juvénile et de l'hormone de mue. La baisse du taux de l'hormone juvénile (expérience d'injection d'un de ses mimétiques) agirait au tout début du dernier stade larvaire en orientant les cellules vers le sens imaginal. La différenciation de ces cellules serait le résultat de l'action de l'hormone de mue pendant toute la durée du dernier stade (expérience d'ablation des glandes de mue).

L'étude expérimentale de la détermination sexuelle de l'appareil copulateur a été menée par la méthode des greffes hétérosexuées des territoires organoformateurs. Cette détermination est précoce et ne peut plus être modifiée à la fin de la première moitié de la vie larvaire. Son contrôle devra être analysé chez la jeune larve et chez l'embryon.

BIBLIOGRAPHIE

- ABOIM A.N., 1945 - Développement embryonnaire et post-embryonnaire des gonades normales et ~~o~~rgamétiques de Drosophila melanogaster. Rev. Suisse Zool., 52, 53-154.
- AGUI N., YAGI S., FUKAYA M., 1969 - Induction of moulting of cultivated integument taken from a diapausing rice than stem borer larva in the presence of ecdysterone. Appl. entomol. Zool., 4, 156-157.
- ANDERSON J.F., HORSFALL W.R., 1963 - Thermal stress and anomalous development of Mosquitoes (Diptera Culicidae). I Effect of constant temperature on dimorphism of adults of Aedes stimulans. J. exper. Zool. U.S.A., 154, 67-107.
- ANDERSON J.F., HORSFALL W.R., 1965 - Thermal stress and anomalous development of Mosquitoes (Diptera Culicidae). V Effect of temperature on embryogeny of Aedes stimulans. J. exper. Zool. U.S.A., 158, 211-222.
- ARMY L., GABE M., 1953 - Données histologiques sur les formations endocrines rétro-cérébrales de quelques Odonates. Ann. Sci. nat. Zool., 14, 345-375.
- ASAHINA S., 1954 - Morphology of Epiophlebia superstes (Odonata Anisozygoptera). The Japan Society for the Promotion of Science Tokyo, 53 p.
- ASHBURNER M., 1970 - Effects of juvenile hormone on adult differentiation of Drosophila melanogaster. Nature, 227 (5254), 187-189.
- BACKHOFF P., 1910 - Die Entwicklung des Copulationsapparates von Agrion-Ein Beitrag zur postembryonalen Entwicklungsgeschichte der Odonaten. Z. wiss. Zool., (95), 647-706.

- BARBIER R., 1965 - Etude de la différenciation du tégument de Galleria mellonella L. (Lepid. Pyralidae) par la technique des autogreffes. C. R. Acad. Sci., 261, 1413-1417.
- BERGERARD J., 1961 - Intersexualité expérimentale chez Carausius morosus. Bull. Biol. Fr. Belg., 95, 272-300.
- BERREUR P., 1965 - Etude expérimentale de l'action de l'hormone de mue sur l'évolution des acides nucléiques au cours de la métamorphose de Calliphora erythrocephala Meig. Arch. Zool. Gen. exp., 106, 531-624.
- BERREUR P., FRAENKEL G., 1969 - Puparium formation in flies : contraction to puparium induced by ecdysone. Science, 164, (3884), 1182-1183.
- BERRY S.J., KRISHNAKUMARAN A., OBERLANDER H., SCHNEIDERMAN H.A., 1967 - Effects of hormones and injury on RNA synthesis in Saturniid moths. J. Insect Physiol., 13 (10), 1511-1537.
- BHASKARAN G., SIVASUBRAMANIAN P., 1969 - Metamorphosis of imaginal disks of the housefly : evagination of transplanted disks. J. exper. Zool., 171 (4), 385-395.
- BLAINE W.D., DIXON S.E., 1970 - Hormonal control of spermatogenesis in the cockroach Periplaneta americana. Canadian journal of Zool., 48, (2), 283-289.
- BODENSTEIN D., 1957 - Humoral dependance of growth and differentiation in insects. In Recent Advances in Invertebrate Physiol., SCHEER B.T., Ed. 197-211, Oregon Univ. Press.
- BOOHAR R.K., BUCKLIN D.H., 1963 - Possible ecdysone activity in the embryo of the grasshopper Melanoplus differentialis. Ann. Zool., 3, 496.
- BORROR D.J., 1945 - A key to the New World genera of Libellulidae (Odonata). Ann. Entomol. Soc. Amer., 38 : 168-194.

- BOUHNIOL J.J., 1952 - L'achèvement de la métamorphose et la mue imaginale seraient commandés par le cerveau à la fin de la vie larvaire chez Bombyx mori. C.R.Acad. Sci., 235, 671-672.
- BOULARD C., 1968 - Différenciation et développement des gonades mâles et femelles chez les larves d'Hypoderma bovis et Hypoderma lineatum (Diptères Oestriiformes). Ann. Soc. entomol., Fr., 4, 349-364.
- BRIDGES C.B., 1939 - Cytological and genetical basis of sex. In Sex and Internal Secretions. Ed. by Allen II Baltimore, 15-63.
- BRIEN P., 1970 - Gamétogenèse et sexualisation. Ann. Biol., 9 (7-8-9-10), 373-394.
- BUCKMANN D., 1959 - Die Auslösung der Umfärbung durch das Häutungshormon bei Cerura vinula L. J. Insect Physiol., 3, 159-189.
- BULLIERE D., BULLIERE F., 1970 - Régénération et facteurs endocriniens chez les Insectes. C. R. Acad. Sci., 271 (3), 353-356.
- BULLIERE F., BULLIERE D., 1971 - Régénération, différenciation et ecdysones chez l'embryon de Blabera craniifer (Insecte Dictyoptère) en culture in vitro. C. R. Acad. Sci., 273 (11), 955-958.
- CASSIER P., FAIN-MAUREL M.A., 1970 - Contrôle plurifactoriel de l'évolution post-imaginale des glandes ventrales chez Locusta migratoria L. Données expérimentales et infrastructurales. J. Insect Physiol., 16 (2), 301-319.
- CAVALLIN M., 1969 - Etude descriptive du développement et de la différenciation sexuelle de l'appareil génital chez les embryons de phasmes Clitumnus extradentatus et Carausius morosus. C.R.Acad. Sci., D, Fr, 268, (17), 2189-2192.
- CHAO H.F., 1953 - The external morphology of the dragonfly Onycogomphus ardens. Smithsonian Misc Coll. 122 (6), 1-56.

- CHARNIAUX-COTTON H., 1970 - Sexualité et activité génitale mâle chez les Crustacés supérieurs. Bull. Soc. Zool. Fr., 95 (3), 565-594.
- CHASE A.M., 1970 - Effects of antibiotics on epidermal metamorphosis and nucleic acid synthesis in Tenebrio molitor. J. Insect Physiol., 16 (5), 865-884.
- CHERBAS L., CHERBAS P., 1970 - Distribution and metabolism of ecdysone in pupae of the silkworm Antheraea polyphemus. Biol. Bull., 138, 115-128.
- CLARKE K.V., LANGLEY P.A., 1963 - Studies on the initiation of growth and moulting in Locusta migratoria m. R et F. I The time and nature of the initiating stimulus. J. Insect Physiol., 9, 287-292.
- CLEVER V., ROMBALL C.G., 1966 - RNA and protein synthesis in the cellular response to a hormone, ecdysone. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 56, 1470-1476.
- CORBET P.S., 1957 - The life story of the emperor dragonfly Anax imperator. J. Animal Ecol., 26, 1-65.
- DASGUPTA J., 1957 - Cytological studies on the Indian dragonflies. II A study of the chromosomes during meiosis in thirty species of Indian Odonata (Insecta). Proc. Zool. Soc. Calcutta 10 (1), 1-65.
- DEFOSSEZ A., 1970 - Organogenèse et différenciation de l'appareil génital durant la vie post-embryonnaire des Insectes Odonates. Ann. Biol., IX (7-8-9-10), 465-477.
- DE WILDE J., 1964 - The physiology of Insects. Vol. I. Ed. M. ROCKSTEIN, Acad. Press, N.Y.-London, 80-81.
- ECHARD G., 1962 - Développement post-embryonnaire de l'ovaire et du testicule chez Gryllus domesticus (Orthoptère). Bull. Soc. Zool. Fr., 87 (1), 52-70.

- ECHARD G., 1968 - Développement embryonnaire des gonades chez Gryllus domesticus (Orthoptère). Ann. Soc. entomol. Fr., 4, (3), 679-702.
- EMMERICH H., 1968 - Beeinflussung der Imaginalentwicklung von Tenebrio molitor durch farnesylmethyläther und Actinomycin. Verh. Dtsch., Zool. Ges., 56, 519-526.
- FAIN-MAUREL M.A., CASSIER P., 1968 - Etude infrastructurale des glandes de mue de Locusta migratoria m. (R et F.). I Evolution cyclique au cours des stades larvaires et genèse du produit de sécrétion, l'ecdysone. Arch. Zool. exp. gén. Fr., 109, (3), 445-476.
- FEIR D., WINCKLER G., 1969 - Ecdysone titres in the last larva and adult stages of the milweed bug. J. Insect Physiol., 15, 5, 899-904.
- FOGAL W., FRAENKEL G., 1969 - The role of bursicon in melanization and endocuticle formation in the adult fleshfly Sarcophaga bullata. J. Insect Physiol., G.B., 15 (7), 1235-1247.
- FRAENKEL G., HSIAO C., 1965 - Bursicon, an hormone which mediates tanning of the cuticle in the adult fly and other insects. J. Insect Physiol. 11, 513-556.
- FRAENKEL G., ZDAREK J., 1970 - The evaluation of the "Calliphora test" as an assay for ecdysone. Biol. Bull. U.S.A., 139 (1) 138-150.
- FRASER F.C., 1940 - A comparative study of the penes of Gomphidae. Trans. Roy. Entomol. Soc. London, 60, 541-550.
- FUKUDA S., 1964 - Effect of farnesol on pupae of the silkworm Bombyx mori. Ann. Zool. Jap., 37 (2), 86-93.
- FUZEAU-BRAESCH S., 1968 - Action of the synthetic juvenile hormone in morphogenesis and pigmentogenesis of Gryllus bimaculatus (Orthoptère) C. R. Soc. Biol. 162, (5-6) 1086-1095.

- GARMAN P., 1917 - The Zygoptera of Illinois. Bull. Ill. Lab. Nat. Hist., 12, 412-587.
- GEIGY R., 1931 - Action de l'ultraviolet sur le pôle germinal dans l'oeuf de Drosophila melanogaster (castration et mutabilité). Rev. Suisse Zool., 38, 187-288.
- GEORGE C.J., 1929 - Morphology and development of the genitalia and genital ducts of Homoptera and Zygoptera as shown in the life stories of Philoenus and Agrion (Homoptère and Zygoptera). Quart. Journ. Micr. Sci., 72, 447-485.
- GEYER A., HERDA G., SCHMIALEK P., 1968 - Beeinflussung der metamorphose von Tenebrio molitor L. durch. Juvenil hormon wicksame isoprenoide. Acta entomol. bohemoslov. 65, 161-165.
- GILBERT L.I., 1962 - Maintenance of the prothoracic gland by the juvenile hormone in Insects. Nature, 193, 1205-1207.
- GILBERT L.I., GOOD-FELLOW R.D., 1965 - Endocrinological significance of sterols and isoprenoïds in the metamorphosis of the american silkmoth, Hyalophora cecropia. Zool. Jb, (Physiol.) 71, 718-726.
- GILBERT L.I., SCHNEIDERMAN H.A., 1959 - Prothoracic gland stimulation by juvenile hormone extracts of insects. Nature, 184, 171-173.
- GILBERT L.I., SCHNEIDERMAN H.A., 1960 - The development of a bio^assay for the juvenile hormone in insects. Trans. Amer. Micr. Soc., 79, 38-67.
- GILLOTT C., 1969 - Morphology and histology of the cephalic endocrine glands of the damselfly Coenagrion angulatum (Odonata Zygoptera). Cand. J. Zool., 47, 6, 1187-1192.
- GODDARD M.F., 1896 - On the second abdominal segment in a few Libellulidae. Proc. Amer. Philos. Soc., 35, 205-22.

- GOLDSCHMIDT R., 1937 - Le déterminisme du sexe et l'intersexualité .
Félix Alcan Paris, 192 p.
- HADORN E., 1963 - Differenzierungsleistungen wiederholt fragmentierter
Teilstücke manlicher Genitalscheiben von Drosophila melanogaster
nach Kultur in vivo. Develop. Biol., 7, 617-29.
- HAGET A., 1952 - Analyse expérimentale des conditions d'édification d'une
gonade embryonnaire chez le Coleoptère Leptinotarsa. CR Soc. Biol.
Fr. 147, 673-75.
- HAGET A., 1969 - Séparation expérimentale du soma et du germen de la gonade
par la transplantation des initiales germinales en position ectopique
chez les embryons du Coléoptère Leptinotarsa. CR Acad. Sci. 269 (22)
2226-30.
- HALBWACHS M.C. JOLY L. JOLY P. , 1957 - Résultat d'implantation de glande
ventrale à Locusta migratoria L. J. Insect Physiol. 1, 143-9.
- HEGNER R.W., 1911 - The effects of killing parts of the eggs of Leptinotarsa
decemlineata. Biol. Bull. 20, 237.
- HERMAN W.S., 1967 - The ecdysial glands of Arthropods. Intern. Rev. Cytol.
U.S.A., 1967, 22, 269-347.
- HEYMER A., 1971 - Comportement et évolution des Calopterygida: (Odonata),
Abstr. 1st Europ. Symp. Odonatology Gent, 1971, 21-26.
- HEYMONS R., 1895 - Die Embryonalentwicklung von Dermapteren und Orthopteren
unter besonderer Berücksichtigung der Keimblätterbildung.
Fisher, Iena, 136 p.
- HEYMONS R., 1896 - Grundzüge der Entwicklung und des Körperbaues von Odonaten
und Ephemeren. Abh. Akad. Math. Naturwiss. Kl Berlin, Anhang 66p.
- HINTZE - PODUFAL C., FRICKE F., 1971 - The effects of farnesol derivatives on
the nature larva of Cerura vinula L. (Lepidoptère). J. Insect Physiol.
17, 10, 1925-32.

- HOFFMAN J., 1970 - Régulations endocrines de la production et de la différenciation des hémocytes chez un insecte Orthoptère : Locusta migratoria migratorioïdes (R. et F.). Gen. Comp. Endocr. 15 (2), 198-219.
- HOGBEN L., 1920 - The nuclear organisation of the germ cells in Libellula depressa. Roy. Soc. Proc. B. 92, 61-79.
- HORSFALL W.R., RONQUILLO M.C., 1970 - Genesis of the reproductive system of mosquitoes. II mâle of Aedes stimulans. J. Morphology U.S.A. 131, (3), 329-57.
- HOULET A., 1962 - Bipotentialité sexuelle de Periplaneta americana (Blattidoe-Dictyoptères) au cours de la deuxième partie du développement embryonnaire. Action d'une élévation de température. Diplôme d'études supérieures - Faculté des Sciences - Paris.
- HUET C., 1968 - Etude du pouvoir de régulation dans le territoire génital larvaire de Tenebrio molitor femelle. Ann. Embryol. Morphogénèse, 1, (2), 161-7.
- HUET C., 1971 - Différenciation en culture in vitro des ébauches présomptives de l'appareil génital ♀ de Tenebrio molitor L en présence d'ecdysone. C.R. Acad. Sci. 272, (14), 1896-1900.
- INGENITZKI J., 1893 - Zur Kenntnis der begattungsorgane der Libelluliden. Zool. Anz. 16, (432), 405-7.
- JOLY L., 1960 - Fonction des corpora allata chez Locusta migratoria L. Thèse Fac. Sci. Strasbourg, 1-103.
- JOLY P., 1968 - Endocrinologie des Insectes. Masson et Cie, Edit. Paris. 344p.
- JOLY L., JOLY P., PORTE A., 1969 - Remarques sur l'ultrastructure de la glande ventrale de Locusta migratoria L. (Orthoptère) en population dense. C.R. Acad. Sci. 269, (9), 917-8.
- JOLY L., JOLY P., PORTE A., GIRARDIE A., 1969 - Analyse ultrastructurale de l'activité des corps allates de Locusta migratoria et ses conséquences sur la structure que l'on doit attribuer au mécanisme humoral contrôlant la métamorphose. Arch. Zool. exp. gen. 110, (4), 617-28.

- JUDY K.J., 1969 - Cellular response to ecdysterone in vitro. Science U.S.A., 165, (3900), 1374-5
- KARLSON P., BODE C., 1969 - Die inaktivierung des Ecdysons bei der Schmeissfliege Calliphora erythrocephala Meig. J. Insect. Physiol. 15, 111-8.
- KARLSON P., SEKERIS C.E., 1966 - Ecdysone, an insect steroïde hormone, and its mode of action. Rec. Progr. Horm. Res. 22, 473-502.
- KARLSON P., STAMM-MENENDEZ M.D., 1956 - Notiz über den Nachweis von Metamorphosehormone in den Imagines von Bombyx mori. Hoppe-Scyl. Z. 306, 110-11.
- KELLOG V.L., 1904 - Influence of the primary reproductive organs on the secondary sexual characters. J. exp. Zool. 1, 601-5.
- KENNEDY C.H., 1917 - Notes on the penes of zygoptera (Odonata), n° 2 The close relations inter se of Hawaiian Agrionines. Ent. News, 28, 9-14.
- KENNEDY C.H., 1922 - The morphology of the penes in the genus Libellula. Ent. News 33, 33-40.
- KIAUTA B., 1969 - Sex chromosomes and sex determinating mechanisms in Odonata with a review of the cytological conditions in the family gomphidae and references to the karyotypic évolution in the order. Genetica 40, 127-57.
- KOBAYASHI M., TAKEMOTO T., OGAWA S., NISHIMOTO N., 1967 - The moulting hormone activity of ecdysterone and inokosterone isolated from Achryranthis radix. J. Insect Physiol 13, 1395-9.
- KOPEC S., 1911 - Untersuchungen über Kastration und Transplantation bei Schmetterlingen. Ronx'Archiv 33, 1-116.
- KOPEC S., 1913 - Nochmals über die Unabhängigkeit der Ausbildung sekundärer geschlechtscharaktere von den gonaden bei Lepidopteren. Zool. Anz. 43, 465-73.
- KOPEC S., 1922 - Physiological self differentiation of the wing germs grafted on caterpillar of the opposite sex. J. Exp. Zool. 36, 479-75.

- KRISHNAKUMARAN A., BERRY S.J., OBERLANDER H., SCHNEIDERMAN H.A., 1967 - Nucleic acid synthesis during insect development. II Control of DNA synthesis in the Cecropia silkworm and other saturniid moths. J. Insect Physiol., 13, 1-57.
- KRISHNAKUMARAN A., SCHNEIDERMAN H.A., 1965 - Prothoracotropic activity of compounds that mimic juvenile hormone. J. of Insect Physiol., 11 (2) 1517-1532.
- KROEGER H., 1966 - Elektrophysiologische und cytologische untersuchungen an den Speicheldrüsen von Chironomus thummi. Exp. Cell. Research, 41, 64-80.
- LAUGE G., 1967 - Origine et croissance du disque génital de Drosophila melanogaster. C. R. Acad. Sci., 265, (11), 814-7.
- LAUGE G., 1969 a - Etude des gonades des intersexués triploïdes de Drosophila melanogaster. Description morphologique. Ontogenèse des structures histologiques. Ann. Soc. entomol., Fr., (5), 253-314.
- LAUGE G., 1969 b - Origine et croissance du disque génital chez les Intersexués triploïdes de Drosophila melanogaster. C.R. Soc. Biol. Fr., 163, 5, 1073-8.
- LAUGE G., 1969 c - Relation entre le facteur thermique et l'intersexualité chez les Insectes. Discussion des faits observés chez Drosophila melanogaster Bull. Soc. Zool. Fr., 94 (2) 341-62.
- LAUGE G., 1970 - Relations entre le déterminisme génétique du sexe et le contrôle hormonal de sa différenciation chez les Arthropodes. Comparaison avec les Vertébrés. Ann. Biol., 9 (34) 189-230.
- LAUGE G., BORDON J., 1971 - Principales étapes du développement post-embryonnaire des gonades mâles d'Oscinella pusilla (Dipt.). C. R. Acad. Sci., 272, (18), 2330-33.

- LAVENSEAU L., 1970 - Développement et différenciation des ébauches alaires de Lymantria dispar (Lepidoptère) après leur transplantation sur des chenilles du sexe opposé. C. R. Acad. Sci., 270, (4), 638-41.
- LAWRENCE P.A., 1966 a - The hormonal control of the development of hairs and bristles in the milkweed bug Oncopeltus fasciatus. J. exp. Biol., 44, 507-22.
- LAWRENCE P.A., 1966 b - Gradients in the insect segment. J. exp. Zool., 44, 607-20.
- LAWRENCE P.A., 1968 - Mitosis and the cell cycle in the metamorphic moult of the milkweed bug, Oncopeltus fasciatus. A radioautographic study. J. Cell Sci., 3, 391-404.
- LEFEUVRE J.C., 1969 - Recherches sur la morphogenèse et le polymorphisme alaire des Blattaria. Thèse doct. Sc. Nat., Rennes, 390 p.
- LEGRAND J.J., 1967 - Contribution à l'étude du contrôle génétique et humoral de l'inversion du sexe chez les Crustacés Isopodes. Notion de balance génique sexuelle. Ann. Biol., 6, 241-58.
- LEGRAND J.J., JUCHAULT P., 1970 - Contrôle de la sexualité chez les Crustacés Isopodes gonochoriques et hermaphrodites. Bull. Soc. Zool. Fr., 95, (3) 551-64.
- LOCKE M., 1965 - The hormonal control of wax secretion in an insect Calpodes ethlius. J. Insect Physiol., 11, 641-58.
- LOCKE M., 1966 - The development of patterns in the integument of Insects. Adv. Morph. 6, 33-88.
- LOCKE M., 1969 - The ultrastructure of the oenocyte in the molt-intermolt cycle of an insect. Tissue and cell, 1, 103-54.

- LOCKE M., 1970 a - The molt-intermolt cycle in the epidermis and other tissues of an insect Calpodes ethlius (Lepid. Hesperidae). Tissue and cell, 2 (2), 197-223.
- LOCKE M., 1970 b - The control of activities in insect epidermal cells. Mem. Soc. endocrinol., G.B., 18, 285-99.
- LÜSCHER M., KARLSON P., 1958 - Experimentelle Auslösung von Häutungen bei der Termite Kaloterme flavicollis. J. Insect Physiol., 1, 341-5.
- MADHAVAN K., SCHNEIDERMAN H.A., 1969 - Hormonal control of imaginal disc regeneration in Galleria mellonella (Lepidoptera). Biol. Bull. 137, 2, 321-32.
- MARKS E.P., LEOPOLD R.A., 1970 - Cockroach leg regeneration : effects of ecdysterone in vitro. Science U.S.A., 167 (3914) 61-2.
- MARKS E.P., LEOPOLD R.A., 1971 - Deposition of cuticular substances in vitro by leg regenerates from the cockroach Leucophaea maderae. Biol. Bull, 140 (1) 73-83.
- MARSHALL W.S., 1914 - On the anatomy of dragonfly, Libellula quadrimaculata. Madison Trans. Wis. Acad. Sci., 17, 755-90.
- MC GILL C., 1905 - The behavior of the nucleoli during oogenesis of the dragonfly with special references to synapsis. Zool. Jahrb, 23, 207-30.
- MEISENHEIMER J., 1907 - Ergebnisse einiger Versuchreihen über extirpation und transplantation der Geschlechtsdrüsen bei Schmetterlingen. Zool. Anz. 32, 393-400.
- MEISENHEIMER J., 1909 - Experimentelle studien zur Soma und Geschlechtsdifferenzierung. I. Experimentelle Untersuchungen über den Zusammenhang primärer and sekundäre Geschlechtsmerkmale beiden Schmetterlingen. Iena, Fischer.

- MENON M., 1969 - Structure of the apical cells of the testis of the Tenebrionid beetles : Tenebrio molitor and Zophobas rugipes. J. Morphology U.S.A., 127 (4) 409-30.
- METSCHNIKOFF E., 1886 - Embryologische Studien an Insekten. Zeit. f. wiss. Zool., 16, 389-493.
- MORERE J.L., 1965 - Contribution à l'étude du développement post-embryonnaire de l'appareil génital mâle de Clitumnus extradentatus. Bull. Soc. Entomol. Fr., 70, 239-50.
- MOSBACHER G.C., 1966 - Ueber den Einfluss der Temperatur auf den Intersexualitätsgrad bei Lymantria dispar L. Ver. Dtsch. Zool. Gesellsch. Göttingen 30, 509-21.
- MOUZE M., 1971 a - Etude expérimentale des facteurs morphogénétiques et hormonaux réglant la croissance oculaire des Insectes Odonates. Thèse de 3ème cycle, 1-85.
- MOUZE M., 1971 b - Rôle de l'hormone juvénile dans la métamorphose oculaire de larves d'Aeschna cyanea (Odonate). C. R. Acad. Sci., 273, 2316-9.
- MOUZE M., SCHALLER F., 1971 - Métamorphose oculaire de larves d'Aeschna cyanea (Odonate) privées d'ecdysone. C. R. Acad. Sci., 273, 2122-5.
- NAISSE J., 1965 - Contrôle endocrinien de la différenciation sexuelle chez les Insectes. Arch. Anat. microsc. et Morphol. exp. Fr., 54, (1) 417-28.
- NAISSE J., 1966 a - Contrôle endocrinien de la différenciation sexuelle chez l'Insecte Lampyris noctiluca (Coléoptère). I Rôle androgène des testicules. Arch. Biol., 77 (1), 139-201.
- NAISSE J., 1966 b - Contrôle endocrinien de la différenciation sexuelle chez Lampyris noctiluca (Coléoptère). II Phénomènes neurosécrétoires et endocrines au cours du développement postembryonnaire chez le mâle et la femelle. Gen. comp. Endocr. 7 (1) 85-104.

- NAISSE J., 1966 c - Contrôle endocrinien de la différenciation sexuelle chez Lampyris noctiluca (Coléoptère). III Influences des hormones de la pars intercerebralis. Gen. comp. Endocrinology, 7, 1, 105-10.
- NAISSE J., 1968 - Rôle des neurohormones dans la formation du tissu apical androgène chez Lampyris noctiluca révélé par des expériences de parabiose. C. R. Acad. Sci., 267, (17) 1409-12.
- NAISSE J., 1969 - Rôle des neurohormones dans la différenciation sexuelle de Lampyris noctiluca. J. Insect Physiol., 15 (5) 877-93.
- NELSEN O.E., 1931 - Life cycle, sexe differentiation and testis development in Melanoplus differentialis (Acrididae Orthoptères). J. of Morph. U.S.A., 31 (51) 469-509.
- NELSEN O.E., 1934 - The development of the ovary in the grasshopper Melanoplus differentialis (Acrididae, Orthoptera). J. Morph. U.S.A., 55, 515-44.
- NEUFELD G.J., THOMPSON J.A., HORN D.S.H., 1968 - Short term effects of crustecdysone (2L hydroxyecdysone) on protein and RNA synthesis in third instar larvae of Calliphora. J. Insect Physiol., 14, 789-804.
- NOIROT CH., 1958 - Sur l'apparition des gonoductes hétérologues au cours du développement des Termites, des Blattes et des Orthoptères. Proceedings 30th international congress of entomology, 1, 557-9.
- NOVAK V.J.A., 1966 - Les effets morphogénétiques de l'hormone juvénile chez les Insectes. Ann. Endocrin. 27 (3 b) 371-6.
- OBERLANDER H., 1969 a - Effects of ecdysone, ecdysterone and inokosterone on the in vitro initiation of metamorphosis of wing disks of Galleria mellonella. J. Insect Physiol., 15, 297-304.
- OBERLANDER H., 1969 b - Ecdysone and DNA synthesis in cultured wing disks of the wax moth Galleria mellonella. J. Insect Physiol., 15, 1803-6.

- OBERLANDERH., SCHNEIDERMAN H.A., 1966 - Juvenile hormone and RNA synthesis in pupal tissues of saturniid moths. *J. Insect Physiol.*, 12, 37-42.
- OHTAKI T., MILKMAN R.D., WILLIAMS C.M., 1968 - Dynamics of ecdysone secretion and action in the fleshfly Sarcophaga peregrina. *Biol. Bull.* 135, 322-34.
- OHTAKI T., WILLIAMS C.M., 1970 - Inactivation of ecdysone and cyasterone by larvae of the fleshfly, Sarcophaga peregrina and pupæ of the silkworm Samia cynthia. *Biol. Bull.* 138 (3) 326-33.
- OUDEMANS J. Th., 1899 - Fälter ans castrierten ~~P~~ranpen, wie sie aussehen und wie sich benehmen. *Zool. Jb.* 12, 71-88.
- OZEKI K., 1963 - Further studies on the secretion of juvenile hormone by the corpus allatum in the earwig Anisolabis maritima. *Sci. Pap. Coll. Gen. Educ.* 13, 213-221.
- OZEKI K., 1966 - Experimental studies on the function of the ventral glands of the earwig, Anisolabis maritima. *Sci. papers Coll. gen. Educ. Univ. Tokyo*, 16, 255-64.
- PATEL N., MADHAVAN K., 1969 - Effects of hormones on RNA and protein synthesis in the imaginal wing disks of the ~~P~~ricini silkworm. *J. Insect Physiol.*, 15, 2141-50.
- PAUL H., 1937 - Transplantation und Regeneration der Flügel zur Untersuchungen ihrer Formbildung bei einem Schmetterling mit Geschlechtsdimorphisms Orgyia antiqua L. *Arch. f. Entwickl. Mech. Org.*, 136, 64-111.
- PFAU H.K., 1970 - Die Vesica Spermalis von Aeschna cyanea Mill. und Cordulegaster annulatus Latr., ihre Anatomie, Funktion und phylogenetische Bedeutung. *Tombo*, 13, (1-4) 5-11.
- PFAU H.K., 1971 - Struktur und Funktion des sekundären Kopulationsapparates der Odonaten (Insecta Paleoptera), ihre Wandlung in der Stammesgeschichte und Bedeutung für die adaptive Entfaltung der Ordnung. *Z. Morph. Tiere*, 70, 281-371.

- PFLUGFELDER O., 1947 - Über die Ventralendrüsen und eisuge andere inkretorische organe des Insektenkopfes. Biol. Zbl. 66, 212-35.
- PIEPHO H., 1938 - Wachstum und totale Metamorphose an Hautimplantaten bei der Wachsmotte Galleria mellonella L. Biol. Zbl. 58, 356-66.
- PIEPHO H., 1950 - Über die Hemmung der Falterhaftung durch Corpora allata. Untersuchungen an der Wachsmotte Galleria mellonella L. Biol. Zbl. 69, 261-71.
- PIEPHO H., HEIMS A., 1952 - Das Kutikulamuster der Schmetterlingslarve und die hormonale Grundlage seiner Entstehung. Untersuchungen an der Wachsmotte Galleria mellonella L. Z. Naturf. 76, 231-7.
- POONAWALLA Z.T., 1966 - The structure and musculature of the secondary male genitalia of the Odonata and the functional significance of the muscle disposition. Ann. Entomol. Soc. Amer., 59, (4), 810-8.
- POSTLETHWAIT J.H., SCHNEIDERMAN H.A., 1968 - Effects of an ecdysone on growth and cuticle formation of Drosophila imaginal discs cultured in vivo. Biol. Bull. 135, 431-2.
- PRASAD S.N., SRIVASTAVA B.K., 1960 - The morphology of the male reproductive organs of Pantala flavescens (Odonate). Proc. Nat. Acad. Sci. India, (B) 30, 203-16.
- PRELL H., 1915 - Über die Beziehungen zwischen der primären und sekundären sexualcharakteren bei Schmetterlingen I, II. Zool. Jahrb. Allg. Zool., 35 I 183-224, et II 593-602.
- RAMADE F., 1961 - Etude du développement post-embryonnaire du testicule et de la spermatogenèse chez l'asticot de Musca domestica L. Thèse 3ème cycle Sci. Paris 60 p.
- RATHKE M.H., 1832 - Miscellanea anatomico physiologica. Fasc. 1 De libellarum partibus genitalibus. Regimonti 38.

- REGEN J., 1910 - Kastration und ihre Folgenscheinungen bei Gryllus campestris.
Zool. Anz. 35, 427-32.
- REINECKE J.P., ROBBINS J.D., 1971 - Reaction of an insect cell line to ecdys-
terone. Exper. Cell. Res. U.S.A., 64 (2) : 335-8.
- RICHARD N., CHARNIAUX-COTTON H., 1970 - Conséquence de la destruction expéri-
mentale du pôle antérieur de l'embryon sur le développement des gonades
du Doryphore Leptinotarsa decemlineata. C.R. Acad. Sci., 270, (12),
1595-8.
- RICHARD N., JUNERA H., CHARNIAUX-COTTON H., 1970 - Différenciation des gonades
mâles et femelles chez les embryons de Doryphore Leptinotarsa decemli-
neata privés de leur ébauche céphalique. Etude de la neurosécrétion au
cours des premiers stades larvaires et chez l'embryon. Bull. Soc. Zool.
Fr., 95 (3) 387-92.
- RINTERKNECHT E., 1967 - Etude de la reconstitution de la cuticule à la suite
d'une excision tégumentaire chez Locusta migratoria. Arch. zool. exp.
gén. Fr., 108 (3) 461-502.
- RINTERKNECHT E., PORTE A., JOLY P., 1969 - Contribution à l'étude ultrastructu-
rale de l'oénocyte chez Locusta migratoria. C. R. Acad. Sci., 269, (21)
2121-5.
- ROBERT P.A., 1958 - Les Libellules. Ed. Delachaux Niestlé S.A., Neuchâtel
(Suisse) 364 p.
- ROLLER H., DÄHM K.H., 1968 - The chemistry and biology of juvenile hormone.
Rec. Prog. Horm. Res., 24, 651-80.
- ROMER F., 1969 - DNS synthesesmuster bei einem Käfer während eines Häutungszyklus
Naturwissenschaften, Dtsch, 56, 8, 420-1.
- ROMER F., 1971 a - Die Prothorakaldrüsen der Larve von Tenebrio molitor L.
(Tenebrionidae Coleopt.) und ihre Veränderungen während eines Häutungs-
zyklus. Z. Zellf. Mikr. Anat. 122 (4) 425-55.

- ROMER F., 1971 b - Häutungshormone in den oenocyten des Mehlkäfers. Die Naturwissenschaften, 6, 324-5.
- ROONWAL M.L., 1937 - Studies on the embryology of the african migratory locust. II Organogeny. Phil. Trans. Roy. Soc. London, sér. B, 543, (227) 175-244
- SAHOTA T.S., MANSINGH A., 1970 - Cellular response to ecdysone : RNA and protein synthesis in larval tissues of oak silkworm Antheraea pernyi. J. Insect Physiol., 16 (8) 1649-55.
- SAINT-QUENTIN, 1962 - Der Eilegeapparat der Odonaten. Z. Morph. Okol. Tiere 51 165-89.
- SAITOH K., 1953 - Experiments of gonadotectomy and gonadal transplantation carried out in the larvae of the strong and weak races of Lymantria dispar. Jap. Journal Genetics 28 (2) 69-78.
- SCHALLER F., 1960 - Etude du développement post-embryonnaire d'Aeschna cyanea Müll. . Ann. Sci. nat. Zool., 12, 754-868.
- SCHALLER F., 1962 - Phénomènes d'inhibition de la métamorphose chez des larves âgées de Aeschna cyanea Müll. (Ins. Odonate). Bull. Soc. Zool. Fr., 87, 582-600.
- SCHALLER F., ANDRIES J.C., 1970 - Effets d'une inhibition de la métamorphose sur l'activité des nids de régénération dans l'intestin moyen d'Aeschna cyanea (Insectes Odonates). C. R. Acad. Sci. Fr., 270, 3079-82.
- SCHALLER F., MOUZE M., 1970 - Effet des conditions thermiques agissant durant l'embryogenèse sur le nombre et la durée des stades larvaires d'Aeschna mixta (Odonates). Ann. Soc. ent. Fr. (N.S.) 6 (2) 339-46.
- SCHMIALEK P., DREWS G., 1965 - Wirkung von Farnesylmethyläther auf die Atmung von Tenebrio molitor puppen. Z. Naturf. 20 b, 214-15.
- SCHMIDT E., 1915 - Vergleichende Morphologie des 2 und 3 Abdominalsegments bei männlichen Libellen. Zool. Jahrb. (Anat), 39, 87-200.

- SCHNEIDERMAN H.A., GILBERT L.I., 1958 - Substances with juvenile hormone activity in Crustacea and invertebrates. Biol. Bull. 115, 530-5.
- SCHNEIDERMAN H.A., GILBERT L.I., 1964 - Control of growth and development in Insects. Science, 143, 325-33.
- SCHNEIDERMAN H.A., KRISHNAKUMARAN A., KULKARNI V.G., FRIEDMAN L., 1965 - Juvenile hormone activity of structurally unrelated compounds. J. Insect Physiol., 11, 1641-9.
- SEHNAL F., 1968 - Influence of the corpus allatum on the development of the internal organs in Galleria mellonella L. J. Insect Physiol., 14, 97-103
- SEHNAL F., NOVAK V.J.A., 1969 - Morphogenesis of the pupal integument in the wax moth (Galleria mellonella) and its analysis by means of juvenile hormone. Acta entomol. bohemoslov. 66, 137-45.
- SEIDEL F., 1924 - Die Geschlechtsorgane in der embryonalen Entwicklung von Pyrrhocoris apterus. Zeit. Morph. und Ökol. Tiere, 1, 429-506.
- SEILER J., 1958 - Die Entwicklung des Genitalapparates bei triploiden Intersexen von Solenobia triquetrella (Lepid.) Arch. Entwickl. Mech. Organ. 150, 199-372.
- SELLIER R., 1954 - Recherches sur la morphogenèse et le polymorphisme alaires chez les Orthoptères Gryllides. Ann. Sci. nat. Zool., 16, 595-739.
- SESHACHAR B.R. SHANTA-BAGGA, 1963 - A cytochemical study of oogenesis in dragonfly Pantala flavescens. Growth, 27, 225-46.
- SRIVASTAVA V.S., GILBERT L.I., 1969 - The influence of juvenile hormone on the metamorphosis of Sarcophaga bullata. J. Insect Physiol., 15 (2), 77-89.
- STELLWAG, KITTLER F., 1954 - Zur Physiologie der Käferhäutung. Untersuchungen am Mehlkäfer Tenebrio molitor L. Biol. Zbl. 73 (1-2) 12-49.

- STRICH-~~HALEWACHS~~ M.C., 1959 - Contrôle de la mue chez Locusta migratoria L. Ann. Sci. nat. Zool., Biol. anim., 1 (4) 483-570.
- STUMPF H.F., 1968 - Further studies on gradient dependant diversification in the pupal cuticle of Galleria mellonella. J. exp. Biol., 49, 49-60.
- VERSON E., 1911 - Ueber die Versonsche Zelle in den Hodenflächen der Lepidopteren. Zool. Anz. 39, 515-19.
- VINCENT J.F.V., 1971 - Effects of bursicon on cuticular properties in Locusta migratoria migratorioides. J. Insect Physiol., G.B., 17 (4) 625-36.
- TAKEUCHI S., 1969 - Hormonal regulation of spermatogenesis in the silkworm Bombyx mori L. Devt. Growth Differ. Jap., 11, 8-28.
- THOMPSON O.S., 1908 - Appendages of the second abdominal segment of male dragonflies (Odonata). Bull. New York State Museum, 124, 249-63.
- TILLYARD R.J., 1917 - The biology of Dragonflies. Cambridge Univ. Press, 396 p.
- WALKER E.M., 1953 - The Odonata of Canada and Alaska. Univ. Toronto Press, vol. 1, 292 p.
- WATSON J.A.L., 1966 - Genital structure as an isolating mechanism in Odonata. Proc. r. entomol. Soc. London, (A), 41 (10-12), 171-4.
- WEIR S.B., 1970 - Control of moulting in an insect. Nature G.B., 228 (5271), 580-1.
- WEISSMANN A., 1863 - Die Entwicklung der Dipteren im Ei nach Beobachtungen an Chironomus sp, Musca vomitaria und Pulex canis. Z. wiss. Zool., 13, 107-220.
- WHEDON A.D., 1918 - The comparative morphology and possible adaptations of the abdomen in the Odonata. Trans. Amer. Entomol. Soc., 44, 373-447.

- WIGGLESWORTH V.B., 1934 - The physiology of ecdysis in Rhodnius prolixus (Hemiptera). II Factors controlling moulting and "metamorphosis". Quart. J. Micr. Sci., 77, 191-222.
- WIGGLESWORTH V.B., 1955 - The breakdown of the thoracic gland in the adult insect, Rhodnius prolixus (Hemiptera). J. exp. Biol., 32, 485-91.
- WIGGLESWORTH V.B., 1959 - The control of growth and form : a study of the epidermal cell in an insect. Cornell Univ. Press - Ithaca, N.Y., 140 p.
- WIGGLESWORTH V.B., 1961 - Some observations on the juvenile hormone of farnesol in Rhodnius prolixus (Hemiptera). J. Insect Physiol., 7, 73-8.
- WIGGLESWORTH V.B., 1963 a - The action of moulting hormone and juvenile hormone at the cellular level in Rhodnius prolixus. J. exp. Biol., 40 (1), 231-245.
- WIGGLESWORTH V.B., 1963 b - The juvenile hormone effect of farnesol and some related compounds : quantitative experiments. J. Insect Physiol., 9, 105-19.
- WIGGLESWORTH V.B., 1964 - The hormonal regulation of growth and reproduction in insects. Adv. Insect Physiol., 2, 247-344.
- WIGGLESWORTH V.B., 1965 - The juvenile hormone. Nature, 208, 522-4.
- WIGGLESWORTH V.B., 1969 - Chemical structure and juvenile hormone activity : comparative tests on Rhodnius prolixus. J. Insect Physiol., 15, 73-94.
- WIGGLESWORTH V.B., 1970 - Structural lipids in the insect cuticle and the function of the oenocytes. Tissue and cell. G.B., 2 (1) 155-79.
- WILLIAMS C.M., 1952 - Morphogenesis and the metamorphosis of insects. Harvey Lectures 47, 126-55.

WILLIAMS C.M., 1961 - The juvenile hormone. II Its role in the endocrine control of molting pupation and adult development in the Cecropia silkworm. Biol. Bull., 121, 572-85.

WILLIAMS C.M., 1968 - Ecdysone and ecdysone analogues : Their assay and action on diapausing pupae of the Cynthia silkworm. Biol. Bull. 134 (2) 344-55.

WILLIAMS C.M., SLAMA K., 1966 - The juvenile hormone. VI Effects of the "paper factor" on the growth and metamorphosis of the Bug Pyrrhocoris apterus. Biol. Bull., 130, 247-53.

WILLIAMSON E.B., 1906 - Copulation of Odonata. Ent. News, 17, 143-48.