

50376  
1977  
43-1

N° d'ordre : 369

50376  
1977  
43-1

UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

---

**T H È S E**

présentée à l'Université des Sciences et Techniques de Lille  
pour obtenir le grade de Docteur ès Sciences Naturelles

par

**Jean-Claude ANDRIES**



**CONTRÔLE DE LA DYNAMIQUE CELLULAIRE  
ET DES**

**REMANIEMENTS DE L'ÉPITHÉLIUM MÉSÉNTÉRIQUE  
AU COURS DE LA MUE ET DE LA MÉTAMORPHOSE  
D'AESHNA CYANEA MULL. (INSECTE, ODONATE)**

Soutenue le 18 Février 1977, devant la Commission d'Examen.

Président, Co-Directeur du Travail et Rapporteur : M. M. DURCHON  
Co-Directeur du Travail et Rapporteur : M. F. SCHALLER  
Rapporteurs : M. A. HAGET  
M. C. NOIROT  
Examineurs : M. A. BART  
M. J. GOURANTON

A N D R I E S JEAN-CLAUDE

LABORATOIRE DE BIOLOGIE ANIMALE

DE L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

ET

LABORATOIRE ASSOCIÉ AU C.N.R.S. N° I48 :

"ENDOCRINOLOGIE COMPARÉE DES INVERTÉBRÉS"

DIRECTEUR : M. LE PROFESSEUR M. DURCHON

DOYENS HONORAIRES de l'Ancienne Faculté des Sciences

MM. R. DEFRETIN, H. LEFEBVRE, M. PARREAU.

PROFESSEURS HONORAIRES des Anciennes Facultés de Droit  
et Sciences Economiques, des Sciences et des Lettres

M. ARNOULT, Mme BEAUJEU, MM. BROCHARD, CHAPPELON, CHAUDRON, CORDONNIER, CORSIN, DEHEUVELS, DEHORS, DION, FAUVEL, FLEURY, P. GERMAIN, HEIM DE BALSAC, HOCQUETTE, KAMPE DE FERIET, KOUGANOFF, LAMOTTE, LASSERRE, LELONG, Mme LELONG, MM. LHOMME, LIEBAERT, MARTINOT-LAGARDE, MAZET, MICHEL, NORMANT, PEREZ, ROIG, ROSEAU, ROUBINE, ROUELLE, SAVART, WATERLOT, WIEMAN, ZAMANSKI.

PRESIDENTS HONORAIRES DE L'UNIVERSITE  
DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

MM. R. DEFRETIN, M. PARREAU.

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE  
DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

M. J. LOMBARD.

PROFESSEURS TITULAIRES

M. BACCHUS Pierre	Astronomie
M. BEAUFILS Jean-Pierre	Chimie Physique
M. BECART Maurice	Physique Atomique et Moléculaire
M. BILLARD Jean	Physique du Solide
M. BIAYS Pierre	Géographie
M. BONNEMAN Pierre	Chimie Appliquée
M. BONNOT Ernest	Biologie Végétale
M. BONTE Antoine	Géologie Appliquée
M. BOUGHON Pierre	Algèbre
M. BOURIQUET Robert	Biologie Végétale
M. CÉLET Paul	Géologie Générale
M. CONSTANT Eugène	Electronique
M. DECUYPER Marcel	Géométrie
M. DELATTRE Charles	Géologie Générale
M. DELHAYE Michel	Chimie Physique
M. DERCOURT Michel	Géologie Générale
M. DURCHON Maurice	Biologie Expérimentale
M. FAURE Robert	Mécanique
M. FOURET René	Physique du Solide
M. GABILLARD Robert	Electronique
M. GLACET Charles	Chimie Organique
M. GONTIER Gérard	Mécanique
M. GRUSON Laurent	Algèbre
M. GUILLAUME Jean	Microbiologie
M. HEUBEL Joseph	Chimie Minérale
M. LABLACHE-COMBIER Alain	Chimie organique
M. LANSRAUX Guy	Physique Atomique et Moléculaire
M. LAVEINE Jean-Pierre	Paléontologie
M. LEBRUN André	Electronique
M. LEHMANN Daniel	Géométrie

Mme	LENOBLE Jacqueline	Physique Atomique et Moléculaire
M.	LINDER Robert	Biologie et Physiologie Végétales
M.	LOMBARD Jacques	Sociologie
M.	LOUCHEUX Claude	Chimie Physique
M.	LUCQUIN Michel	Chimie Physique
M.	MAILLET Pierre	Sciences Economiques
M.	MONTARIOL Frédéric	Chimie Appliquée
M.	MONTREUIL Jean	Biochimie
M.	PARREAU Michel	Analyse
M.	POUZET Pierre	Analyse Numérique
M.	PROUVOST Jean	Minéralogie
M.	SALMER Georges	Electronique
M.	SCHILTZ René	Physique Atomique et Moléculaire
Mme	SCHWARTZ Marie-Hélène	Géométrie
M.	SEGUIER Guy	Electrotechnique
M.	TILLIEU Jacques	Physique Théorique
M.	TRIDOT Gabriel	Chimie Appliquée
M.	VIDAL Pierre	Automatique
M.	VIVIER Emile	Biologie Cellulaire
M.	WERTHEIMER Raymond	Physique Atomique et Moléculaire
M.	ZEYTOUNIAN Radyadour	Mécanique

PROFESSEURS SANS CHAIRE

M.	BELLET Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M.	BODARD Marcel	Biologie Végétale
M.	BOILLET Pierre	Physique Atomique et Moléculaire
M.	BOILLY Bénoni	Biologie Animale
M.	BRIDOUX Michel	Chimie Physique
M.	CAPURON Alfred	Biologie Animale
M.	CORTOIS Jean	Physique Nucléaire et Corpusculaire
M.	DEBOURSE Jean-Pierre	Gestion des entreprises
M.	DEPREZ Gilbert	Physique Théorique
M.	DEVRAINNE Pierre	Chimie Minérale
M.	GOUDMAND Pierre	Chimie Physique
M.	GUILBAULT Pierre	Physiologie Animale
M.	LACOSTE Louis	Biologie Végétale
Mme	LEHMANN Josiane	Analyse
M.	LENTACKER Firmin	Géographie
M.	LOUAGE Francis	Electronique
Mlle	MARQUET Simone	Probabilités
M.	MIGEON Michel	Chimie Physique
M.	MONTEL Marc	Physique du Solide
M.	PANET Marius	Electrotechnique
M.	RACZY Ladislas	Electronique
M.	ROUSSEAU Jean-Paul	Physiologie Animale
M.	SLIWA Henri	Chimie Organique

MAITRES DE CONFERENCES (et chargés d'Enseignement)

M.	ADAM Michel	Sciences Economiques
M.	ANTOINE Philippe	Analyse
M.	BART André	Biologie Animale
M.	BEGUIN Paul	Mécanique
M.	BKOUCHE Rudolphe	Algèbre
M.	BONNELLE Jean-Pierre	Chimie
M.	BONNEMAIN Jean-Louis	Biologie Végétale
M.	BOSCQ Denis	Probabilités
M.	BREZINSKI Claude	Analyse Numérique
M.	BRUYELLE Pierre	Géographie

M. CARREZ Christian	Informatique
M. CORDONNIER Vincent	Informatique
M. COQUERY Jean-Marie	Psycho-Physiologie
M <sup>lle</sup> DACHARRY Monique	Géographie
M. DEBENEST Jean	Sciences Economiques
M. DEBRABANT Pierre	Géologie Appliquée
M. DE PARIS Jean-Cláude	Mathématiques
M. DHAINAUT André	Biologie Animale
M. DELAUNAY Jean-Claude	Sciences Economiques
M. DERIEUX Jean-Claude	Microbiologie
M. DOUKHAN Jean-Claude	Physique du Solide
M. DUBOIS Henri	Physique
M. DYMENT Arthur	Mécanique
M. ESCAIG Bertrand	Physique du Solide
M <sup>e</sup> EVRARD Micheline	Chimie Appliquée
M. FONTAINE Jacques-Marie	Electronique
M. FOURNET Bernard	Biochimie
M. FORELICH Daniel	Chimie Physique
M. GAMBLIN André	Géographie
M. GOBLOT Rémi	Algèbre
M. GOSSELIN Gabriel	Sociologie
M. GRANELLE Jean-Jacques	Sciences Economiques
M. GUILLAUME Henri	Sciences Economiques
M. HECTOR Joseph	Géométrie
M. HERMAN Maurice	Physique Spatiale
M. JOURNEL Gérard	Physique Atomique et Moléculaire
M <sup>lle</sup> KOSMAN Yvette	Géométrie
M. KREMBEL Jean	Biochimie
M. LAURENT François	Automatique
M <sup>lle</sup> LEGRAND Denise	Algèbre
M <sup>lle</sup> LEGRAND Solange	Algèbre
M. LEROY Jean-Marie	Chimie Appliquée
M. LEROY Yves	Electronique
M. LHENAFF René	Géographie
M. LOCQUENEUX Robert	Physique Théorique
M. LOUCHET Pierre	Sciences de l'Education
M. MACKE Bruno	Physique
M. MAHIEU Jean-Marie	Physique Atomique et Moléculaire
M <sup>e</sup> N'GUYEN VAN CHI Régine	Géographie
M. MAIZIERES Christian	Automatique
M. MALAUSSENA Jean-Louis	Sciences Economiques
M. MESSELYN Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M. MONTUELLE Bernard	Biologique Appliquée
M. NICOLE Jacques	Chimie Appliquée
M. PAQUET Jacques	Géologie Générale
M. PARSY Fernand	Mécanique
M. PECQUE Marcel	Chimie Physique
M. PERROT Pierre	Chimie Appliquée
M. PERTUZON Emile	Physiologie Animale
M. PONSOLLE Louis	Chimie Physique
M. POVY Lucien	Automatique
M. RICHARD Alain	Biologie
M. ROGALSKI Marc	Analyse
M. ROY Jean-Claude	Psycho-Physiologie
M. SIMON Michel	Sociologie
M. SOMME Jean	Géographie
M <sup>lle</sup> SPIK Geneviève	Biochimie
M. STANKIEWICZ François	Sciences Economiques
M. STEEN Jean-Pierre	Informatique

M. THERY Pierre  
M. TOULOTTE Jean-Marc  
M. TREANTON Jean-René  
M. VANDORPE Bernard  
M. VILLETTE Michel  
M. WALLART Francis  
M. WERNIER Georges  
M. WATERLOT Michel  
Mme ZINN-JUSTIN Nicole

Electronique  
Automatique  
Sociologie  
Chimie Minérale  
Mécanique  
Chimie  
Informatique  
Géologie Générale  
Algèbre

## AVANT-PROPOS

Qu'il me soit permis en premier lieu de remercier Monsieur le Professeur F. SCHALLER à qui revient le mérite de m'avoir initié à la recherche et de m'avoir conseillé tout au long de ce travail. Qu'il sache combien ses qualités humaines et sa constante disponibilité m'ont grandement facilité la tâche.

Il m'est tout aussi agréable de remercier Monsieur le Professeur M. DURCHON, à qui je suis aussi redevable de ma carrière scientifique, ne serait-ce que par l'ambiance de recherche qu'il a su créer au sein de notre laboratoire.

Monsieur le Professeur A. BART a, depuis toujours, témoigné de l'intérêt pour mes recherches. Je ne saurais l'oublier et lui sais gré d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse.

Ma reconnaissance va également à Monsieur le Professeur C. NOIROT qui, à mes débuts en microscopie électronique, a eu la gentillesse de me prodiguer ses conseils éclairés. En acceptant de juger ce travail, je le remercie de l'intérêt qu'il y porte.

Monsieur le Professeur A. HAGET me fait l'honneur de participer à mon jury de thèse, je le prie de bien vouloir trouver ici l'expression de ma respectueuse gratitude.

Mes plus sincères remerciements vont de même à Monsieur le Docteur J. GOURANTON pour la bienveillance qu'il m'a manifestée en acceptant de juger ce manuscrit.

Enfin, je ne saurais oublier tout le personnel du laboratoire. Qu'il me soit permis cependant de remercier plus particulièrement : Madame DERACHE qui a tapé ce manuscrit, Madame AUGER et Monsieur LAZARECKI qui ont assuré le tirage des photographies, Monsieur DOBIN responsable de l'entretien des élevages, Monsieur MONTAGNE à qui je suis redevable de bon nombre de grilles de microscopie électronique.

SOMMAIRE



INTRODUCTION.....	p.	1
MATERIEL ET METHODES.....		4
CHAPITRE I : ULTRASTRUCTURE DU MESENTERON		6
I - LA TUNIQUE CONJONCTIVO-MUSCULAIRE.....		6
1) La musculature.....		6
2) Le système trachéen.....		8
3) Les fibres nerveuses.....		10
4) Les cellules de type hémocytaire.....		10
II - L'EPITHELIUM INTESTINAL.....		12
1) Les cellules de régénération.....		13
2) Les cellules épithéliales principales.....		13
3) Les cellules de type endocrine et exocrine.....		15
III - VARIATIONS MORPHOLOGIQUES ET ULTRASTRUCTURALES DES CELLULES MESENTERIQUES EN FONCTION DE LA PRISE DE NOURRITURE.....		18
1) Variations morphologiques.....		19
2) Variations ultrastructurales.....		20
IV - STRUCTURE ET GENESE DE LA MEMBRANE PERITROPHIQUE.....		23
1) Etude ultrastructurale.....		23
2) Données autoradiographiques.....		24
V - VARIATIONS MORPHOLOGIQUES ET ULTRASTRUCTURALES DES CELLULES MESENTERIQUES AU COURS DE LA MUE.....		26
1) Variations morphologiques.....		28
2) Variations ultrastructurales.....		29
CONCLUSION DU CHAPITRE I.....		31
CHAPITRE II : PROLIFERATION DES CELLULES MESENTERIQUES		32
I - PROLIFERATION CELLULAIRE AU COURS D'UN CYCLE DIGESTIF.....		32
1) Mise en évidence par comptage de mitoses.....		32
2) Mise en évidence par comptage de cellules marquées.....		34
II - PROLIFERATION CELLULAIRE AU COURS DE LA MUE.....		37
1) Activité des nids de régénération.....		38
2) Nombre de cellules par nid de régénération.....		39

III - PROLIFERATION CELLULAIRE AU COURS DE LA METAMORPHOSE.....	40
1) Mise en évidence par comptage de mitoses.....	40
2) Mise en évidence par injection de thymidine 3H.....	41
CONCLUSION DU CHAPITRE II.....	44

### CHAPITRE III - DIFFERENCIATION DES CELLULES MESENTERIQUES 45

I - EVOLUTION NUCLEAIRE.....	45
1) Début de la différenciation cellulaire.....	45
2) Différenciation cellulaire en cours.....	46
3) Différenciation cellulaire achevée.....	46
II - EVOLUTION DES ORGANITES CYTOPLASMIQUES.....	47
1) Mitochondries.....	47
2) Dictyosomes.....	48
3) Réticulum endoplasmique.....	48
4) Microtubules.....	48
III - FORMATION DE JONCTIONS ET CONTACTS INTERCELLULAIRES.....	49
1) Entre les futures cellules imaginaires.....	49
2) Entre les cellules du tissu réticulé et celles de l'épithélium imaginal.....	49
IV - ACCROISSEMENT DE LA LAME BASALE.....	51
V - GENESE DES MICROVILLOSITES.....	53
1) La coiffe.....	53
2) Les microvillosités.....	54
CONCLUSION DU CHAPITRE III.....	58

### CHAPITRE IV - DEGENERESCENCE DES CELLULES MESENTERIQUES 59

I - DEGENERESCENCE ET REJET CELLULAIRE ISOLE.....	59
1) Lors d'une intermue larvaire.....	59
2) Lors de la métamorphose.....	60
II - DEGENERESCENCE DE L'EPITHELIUM LARVAIRE ET DU TISSU RETICULE.....	62

1) Evolution nucléaire.....	62
2) Evolution des organites cytoplasmiques.....	63
3) Etude autoradiographique.....	65
III - FRAGMENTATION DE LA LAME BASALE ET REJET DE L'EPITHELIUM LARVAIRE ET DU TISSU RETICULE.....	68
CONCLUSION DU CHAPITRE IV.....	69

## CHAPITRE V - CONTROLE HORMONAL DE LA METAMORPHOSE MESENTERIQUE 72

1) Taux des hormones au cours du dernier stade larvaire..	73
2) Principe de la manipulation.....	73
I - ROLE DE L'HORMONE JUVENILE : EFFET DE L'INJECTION DE L'E.M.F.....	74
1) Les larves surnuméraires.....	75
2) Les animaux en métamorphose.....	76
II - ROLE DE L'ECDYSONE.....	77
1) Induction expérimentale de la multiplication cellulaire dans les nids de régénération.....	78
a) Effet de l'ablation des glandes ventrales et de leur réimplantation.....	80
b) Effet de l'injection simultanée de $\beta$ -ecdysone et de thymidine 3H en début de l'intermue.....	81
c) Effet de l'injection de $\beta$ -ecdysone à des larves jeunes non impliquées dans la métamorphose.....	82
2) Induction expérimentale de la métamorphose mésentérique	83
a) Morphogenèse mésentérique.....	84
$\alpha$ - Chez des larves injectées d' $\alpha$ - ou de $\beta$ - ecdysone en début d'intermue.....	84
. Genèse de l'épithélium imaginal.....	84
. Genèse du tissu réticulé.....	87
$\beta$ - Chez des larves permanentes injectées d' $\alpha$ - ou de $\beta$ -ecdysone.....	89
b) Dégénérescence de l'épithélium larvaire.....	92
$\alpha$ - Chez les animaux dépourvus d'un épithélium imaginal.....	92
$\beta$ - Chez les animaux pourvus d'un épithélium imaginal.....	93
CONCLUSION DU CHAPITRE V.....	94

INTRODUCTION

Les Insectes constituent le groupe d'Invertébrés le plus étudié. Aussi n'est-il pas surprenant que ce soit celui où les mécanismes neuro-hormonaux et hormonaux soient les mieux connus. Nos connaissances à ce sujet restent cependant très inégales : si le tégument a fait l'objet de très nombreux travaux, nous ne possédons que peu d'informations relatives au déterminisme hormonal des organes internes exception faite des disques imaginaires des insectes holométaboles. Notre choix de l'intestin moyen comme matériel d'étude s'explique pour deux raisons essentielles :

1) L'intestin moyen est un organe de nature endodermique qui, par son origine embryologique, diffère profondément des organes étudiés couramment dans le contrôle de la mue et de la métamorphose.

2) L'intestin moyen est un modèle très favorable pour l'étude des phénomènes de prolifération, de différenciation et de dégénérescence cellulaires.

a - Au cours des intermues successives les cellules de l'épithélium larvaire sont soumises à un remplacement continu à partir de cellules embryonnaires, les cellules de régénération.

b - Lors de la métamorphose il y a formation d'un épithélium imaginal pouvant lui-même être précédé de la genèse d'un épithélium nymphal. Il faut noter également que chez certaines espèces le renouvellement épithélial s'effectue d'une manière globale à chaque mue.

Le choix de notre matériel de recherche, un représentant des Odonates, *Aeshna cyanea*, s'explique :

1) Par les connaissances précises de son développement post-embryonnaire et du contrôle de ce dernier (SCHALLER, 1960).

2) Par l'originalité de sa métamorphose mésentérique (STRAUB, 1943) où, après une crise mitotique importante, il y a formation de deux épithéliums successifs : le tissu réticulé, puis l'épithélium imaginal (figure 1).

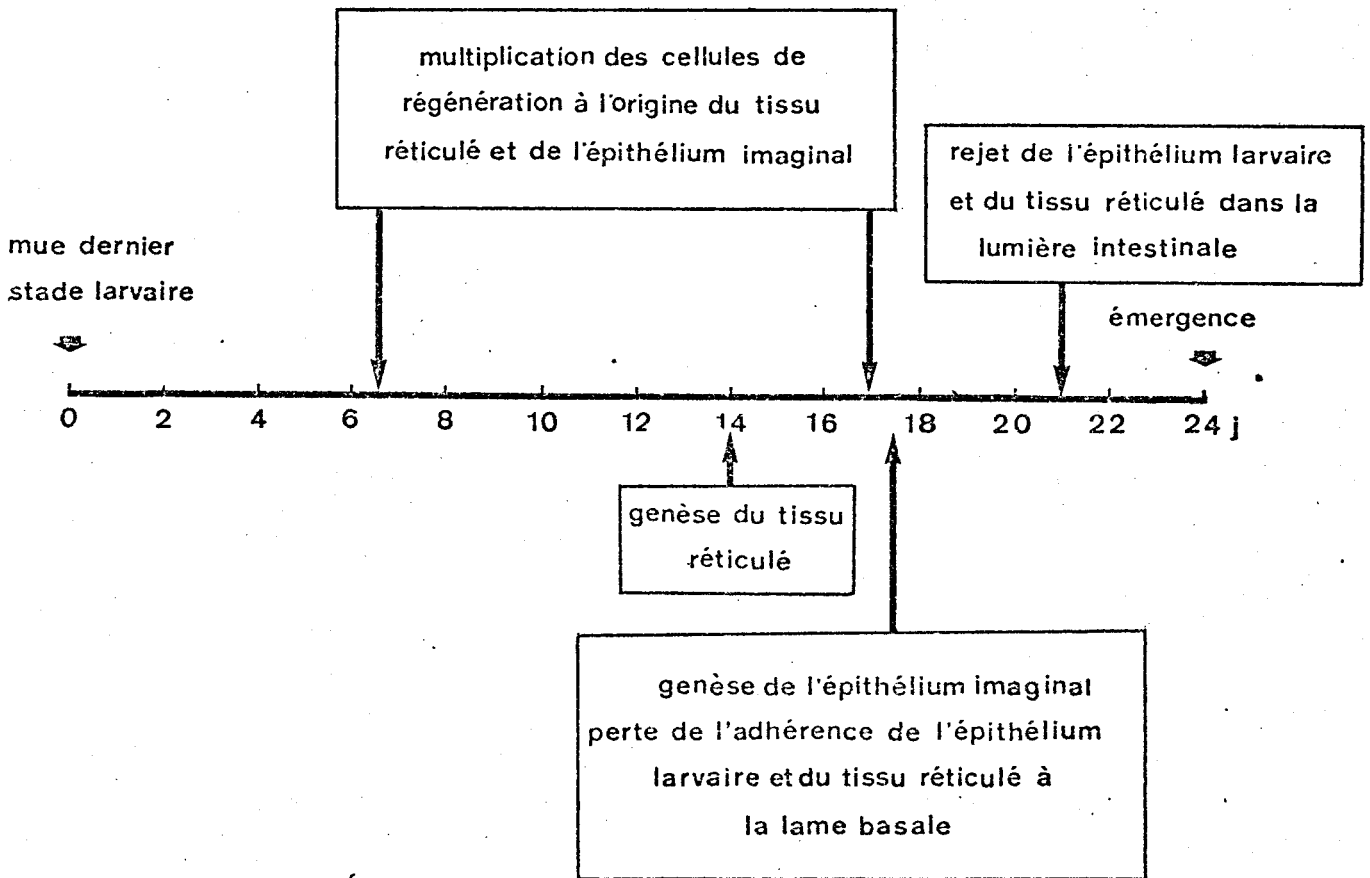


Figure 1 : Principales étapes des transformations de l'intestin moyen au cours de la dernière intermue d'*Aeshna cyanea*.

Il faut cependant admettre que l'aeshne n'est pas un animal de laboratoire tels que le sont, par exemple, certains Diptères ou Lépidoptères. Le cycle complet de l'animal qui s'étend sur deux ans est marqué par une diapause embryonnaire obligatoire, suivi d'un développement post-embryonnaire qui, lorsqu'il n'est pas entrecoupé d'une diapause larvaire, compte au minimum 5 à 6 mois. Si la capture des larves dans la nature est souvent aléatoire, leur élevage n'offre pas de difficultés notables.

Le premier chapitre est consacré à l'étude ultrastructurale de l'intestin moyen. Une connaissance précise des types cellulaires et de leur fonction, ainsi que des modifications ultrastructurales qui peuvent en résulter nous semble nécessaire avant d'aborder l'étude des phénomènes de prolifération (chapitre II), de différenciation (chapitre III) et de dégénérescence cellulaires (chapitre IV). Enfin le chapitre V analyse le déterminisme hormonal de ces processus au moment où s'opèrent les plus profonds remaniements de l'intestin moyen, c'est-à-dire au cours de la métamorphose.

## MATERIEL ET METHODES



### 1) Matériel

Les larves d'*Aeshna cyanea* Müller ont été capturées en automne et au printemps principalement dans la région de St-Omer (les "dormes" de Blendecques) et dans les mares de la forêt de Marchiennes. Il s'agit, dans la très grande majorité, de larves du 8e au 11e (dernier) stade larvaire. Celles capturées en automne (fin octobre), malgré un éclaircissement de 16 H sur 24, une température de l'eau voisine de 18°C et une alimentation copieuse en larves de chironome, entrent fréquemment en diapause. Pour rompre celle-ci, il est nécessaire de placer les larves pendant trois semaines à un mois dans une pièce dont la température est de l'ordre d'une dizaine de degrés et dont l'éclaircissement est celui de la photopériode naturelle.

### 2) Méthodes d'étude

Avant le prélèvement du tube digestif les larves sont décapitées, puis épinglées dans une cuvette à fond de liège. Deux incisions latérales permettent de soulever un volet dorsal mettant à nu l'intestin qui est prélevé dans sa totalité, puis plongé dans le fixateur.

#### a) Méthodes d'observations topographiques

En microscopie optique le fixateur est le Bouin alcoolique ou le Carnoy, les colorations étant faites soit au glychémalun-éosine, soit au picro-indigo-carmin.

En microscopie électronique le matériel est fixé à froid (4°C) pendant deux à trois heures par de la glutaraldéhyde à 6,25 ou 2,5 % dans un tampon phosphate 0,1 M (SABATINI et coll., 1963) ; l'intestin est disséqué dans le fixateur, puis postfixé au tétr oxyde d'osmium-tampon phosphate 0,1 M. Par ailleurs, afin d'éviter d'éventuels artéfacts, en particulier au niveau des enclaves lipidiques et des vacuoles, les solutions de fixation et de rinçage, d'osmolarité voisine de celle de l'hémolymphe, ont été enrichies en  $\text{CaCl}_2$  (BUSSON-MABILLOT, 1971, 1972). Dans ce cas, le liquide fixateur dont l'osmolarité est de 360 mOs correspond à une solution de glutaraldéhyde à 1,9 % dans du tampon cacodylate 0,1 M auquel nous avons adjoint 0,05 % de  $\text{CaCl}_2$ . Le même liquide vecteur renfermant du sucrose 0,18 M sert de liquide de rinçage après la fixation glutaraldéhydrique ou la postfixation osmiée (1 % d' $\text{OsO}_4$  dans du tampon cacodylate 0,1 M +  $\text{CaCl}_2$  0,05 % + sucrose 0,12 M).

## b) Méthodes cytochimiques

### . Recherche de l'ADN

En microscopie optique la recherche de l'ADN a été réalisée par la réaction de Feulgen, tandis que la démonstration simultanée de l'ADN et de l'ARN est assurée par la double coloration au vert de méthyle et à la pyronine. En microscopie électronique la mise en évidence de l'ADN a été menée selon la technique de BERNHARD (1969) et selon celle de MOYNE (1973).

### . Recherche des lipides

La détection cytochimique des lipides par la coloration au noir Soudan B a été effectuée en microscopie optique sur coupes à congélation.

### . Recherche des polysaccharides

En microscopie optique nous avons pratiqué la coloration à l'APS et au bleu Alcian.

En microscopie électronique la recherche des polysaccharides a été effectuée soit par la méthode de SELIGMANN et coll. (1965), modifiée par THIERY (1967), sur du matériel ayant subi la double fixation glutaraldéhyde-osmium et inclus dans l'araldite, soit par la méthode de RAMBOURG (1967) à l'acide phosphotungstique-acide chromique à pH 0,3 sur du matériel fixé à la glutaraldéhyde-tampon phosphate et inclus dans le glycol métacrylate suivant la technique de LEDUC et BERNHARD (1967).

### . Recherche de la phosphatase acide

Elle a été conduite en microscopie électronique selon la méthode de MILLER et PALADE (1964) sur les plus petites sections possibles d'intestin moyen, afin d'éviter les artefacts dûs à la congélation (HOURDRY, 1971).

## c) Méthodes autoradiographiques

Après incorporation du précurseur tritié, les pièces sont fixées au Carnoy ou au formol à 10 %. Après déparaffinage, les coupes sont plongées dans une solution d'acide perchlorique à 1 % à froid, afin d'éliminer les molécules de précurseur non incorporées.

Les lames sont recouvertes de l'émulsion Gel Ilford K<sub>5</sub> selon la technique de FICQ (1961) et, après exposition, sont révélées au D 19 b Kodak et colorées par le picro-indigo-carmin.

CHAPITRE I

ULTRASTRUCTURE DU MESENTERON

L'intestin moyen de la larve d'*Aeshna cyanea* s'étend sur les quatre premiers segments abdominaux, alors que chez l'adulte il se prolonge jusqu'au milieu du septième segment. Sa forme est celle d'un tronc de cône allongé dont la base élargie est située antérieurement. Le passage de l'intestin antérieur à l'intestin moyen est marqué par une invagination ectodermique dans la lumière de l'intestin moyen au niveau de la valvule oesophagienne. L'intestin moyen diminue nettement de calibre en direction postérieure, en particulier au niveau de la valvule pylorique où l'insertion des tubes de Malpighi marque sa séparation de l'intestin postérieur.

La paroi intestinale est formée d'une part d'une tunique conjonctivo-musculaire externe et d'autre part d'un épithélium simple s'insérant sur une lame basale.

## I - LA TUNIQUE CONJONCTIVO-MUSCULAIRE

Une vue à faible grossissement (Pl. I, fig. a) illustre les différents constituants de cette tunique externe : musculature circulaire interne et longitudinale externe, trachées et ramifications trachéolaires, fibres nerveuses et cellules de type hémocytaire au sein du tissu conjonctif.

### 1) La musculature

#### a) Structure des fibres musculaires

En section transversale les fibres apparaissent soit circulaires (6 à 8  $\mu$  de diamètre), soit ovoïdes (3 à 5  $\mu$  de large sur 7 à 10  $\mu$  de long). On n'observe généralement, par section de fibres, qu'une seule section nucléaire, fréquemment en position latérale. Toutefois certaines sections de fibres présentent 2 noyaux en position latérale diamétralement opposée. Quoique l'aspect souvent très lobé du noyau puisse expliquer de telles images, il semble bien qu'une même fibre renferme plusieurs noyaux. Ces noyaux sont entourés par les myofilaments qui arrivent au contact de l'enveloppe nucléaire (Pl. 2, fig. a). Les fibres contiennent aussi des mitochondries de forme irrégulière, à matrice dense, situées sous la membrane plasmique ou parmi les éléments contractiles (Pl. 1, fig. a). Dans la région corticale des fibres on observe des invaginations du sarcolemme correspondant au système T (Pl. 1, fig. a, b) au voisinage desquelles se trouvent des microtubules. Parfois certaines invaginations de ce système peuvent s'incurver et rejoindre la surface cellulaire à un endroit éloigné de son départ, découpant un secteur complet de la fibre (Pl. 1, fig. a). On observe fréquemment un saccule du réticulum sarcoplasmique appliqué contre la membrane du système T, en particulier vers les extrémités internes de ce dernier. Ces formations caractérisent les dyades décrites dans de nombreux muscles striés transversalement

(Pl. 1, fig. c ; Pl. 2, fig. a).

Les myofilaments ne constituent pas de véritables myofibrilles, mais sont groupés en faisceaux irréguliers, plus ou moins développés (Pl. 1, Fig. a, b ; Pl. 2, fig. a). Dans la zone corticale des fibres, ces faisceaux apparaissent délimités par les invaginations du système T (Pl. 1, fig. b). Généralement, les filaments occupent presque tout le volume de la fibre, le sarcoplasme étant très réduit.

En section transversale les myofilaments épais apparaissent agencés selon un modèle hexagonal peu régulier, contrairement à ce que l'on observe dans les muscles alaires par exemple (SMITH, 1961 a et b, 1966 ; AUBER, 1965, 1967). Leur diamètre est d'environ 140 Å et ils présentent souvent un axe clair (Pl. 2, fig. a). Les myofilaments fins forment autour de chaque myofilament épais des orbites irrégulières de 8 à 12 filaments (contrairement à la proportion moyenne de 6 fins pour 1 épais) et s'insèrent sur des stries Z irrégulières. Parfois un matériel comparable à celui des stries Z s'associe à des formations du type desmosome, au niveau d'invaginations appartenant au système T (Pl. 2, fig. b) et plus fréquemment à des hémidesmosomes à la périphérie des fibres (Pl. 1, fib. b).

#### b) Evolution au cours de la métamorphose

Chez des larves sacrifiées en cours de métamorphose le sarcoplasme de certaines fibres est très développé, de volume égal à celui occupé par le matériel contractile (Pl. 1, fig. c, d et e). Ce sarcoplasme peu dense contient des invaginations du système T, des saccules du réticulum sarcoplasmique, de rares mitochondries et corps golgiens, des granulations de tailles diverses, des microtubules souvent parallèles et rarement perpendiculaires aux myofilaments (Pl. 1, fig. d et e). Fréquemment, des groupes de 5 à 20 myofilaments épais entourés de myofilaments fins apparaissent isolés au sein du sarcoplasme (Pl. 1, fig. d et e). De telles figures ne sont pas sans rappeler certaines phases évolutives de fibres intersegmentaires de l'abdomen de *Rhodnius* (AUBER-THOMAY, 1967 ; TOSELLI et PEPE, 1968 a et b ; WARREN et PORTER, 1968). D'après ces auteurs, les fibres subissent une involution puis, après un repas de sang, se différencient avec apparition des filaments des deux types en petits groupes au voisinage de microtubules. Il semble donc qu'au cours de la métamorphose d'*Aeshna cyanea* nous assistions à un processus d'accroissement et de myofibrillogénèse des fibres intestinales. Nous n'avons cependant pas observé les premières phases de la myofibrillogénèse, à savoir, la présence de faisceaux de fins filaments précurseurs de 40 à 50 Å de diamètre tels que les a décrits AUBER (1969) lors de la myofibrillogénèse des muscles alaires de *Calliphora*.

Par ailleurs, la tunique conjonctivo-musculaire de l'intestin en métamorphose présente, en dehors des formations habituelles (fibres musculaires, axones, trachées, hémocytes), de nombreuses sections de cytoplasme peu dense aux électrons (Pl. 1, fig. a). Certaines de ces sections correspondent selon toute vraisemblance à des expansions sarcoplasmiques faisant extrusion hors de la lame basale (Pl. 2, fig. c et d).

Au niveau de la zone d'émission on observe des filaments fins de 60 Å environ de diamètre et des filaments épais, plus rares, d'un diamètre de 140 Å. Ces filaments sont disposés très irrégulièrement et souvent perpendiculairement au trajet des myofilaments constitutifs des bandes A et I (Pl. 2, fig. c et d).

#### CONCLUSION

Les fibres de l'intestin moyen d'*Aeshna cyanea* apparaissent semblables aux fibres viscérales décrites chez d'autres Insectes (SMITH et coll., 1966 ; SANDBORN et coll., 1967 ; SCHAEFER et coll., 1967 ; ANDERSON et ELLIS, 1967 ; ODHIAMBO, 1970 ; RICE, 1970 ; GOLDSTEIN et BURDETTE, 1971 ; NAGAI et GRAHAM, 1974 ; GARTNER, 1976). Ces fibres ont des caractéristiques structurales de fibres à contractions lentes : longueur importante des sarcomères, irrégularité des stries Z, disposition peu géométrique (s'éloignant d'un véritable réseau hexagonal) des myofilaments épais, absence de bande M, orbites de 8 à 12 filaments fins, faible développement du réticulum sarcoplasmique.

La myofibrillogenèse qui a lieu au cours de la métamorphose ne présente guère de particularité. Plus surprenante est la formation d'expansions sarcoplasmiques dont le rôle, pour l'instant, est inconnu, d'autant qu'elles n'ont pas été décrites, à notre connaissance, dans la musculature viscérale d'autres Insectes.

#### 2) Le système trachéen

Des coupes de la tunique conjonctivo-musculaire montrent des sections trachéennes de différents calibres, allant des grandes trachées à leurs ramifications ultimes, les trachéoles.

Nous avons étudié la structure de ces formations, les modifications qu'elles subissent au cours de la mue et enfin leur genèse lors de la métamorphose.

a) Structure

Les tubes trachéens sont entourés par une seule assise de cellules trachéennes (Pl. 3 , fig. a) qui reposent sur la lame basale et sont réunies entre elles par des jonctions septées. L'intima cuticulaire qui comprend l'épicuticule et la ténidie (Pl. 3 , fig. a et b) est renforcée dans les grandes trachées par un matériel fibrillaire (endocuticule ou procuticule cf BEAULATON, 1964) disposé parallèlement et au contact de la membrane plasmique qui à ce niveau peut former des villosités (Pl. 3, fig. a). L'épicuticule est formée d'une lame de cuticuline sous laquelle se trouve une mince couche de matériel dense granulaire (Pl. 4, fig. a), alors que le matériel de la ténidie est peu dense aux électrons après fixation aldéhydique et postfixation osmiée (Pl. 3, fig. a et b).

Les trachéoles ont sensiblement l'aspect des petites trachées, l'intima cuticulaire présentant généralement des plissements hélicoïdaux correspondant aux ténidies.

La structure des trachées mésentériques est donc conforme à celle décrite chez divers insectes par différents auteurs (LOCKE, 1957, 1958, 1964, 1966 ; EDWARDS et coll., 1958 ; SHAFIQ, 1963 ; SMITH, 1963, 1968 ; BEAULATON, 1964, 1968 a ; GUPTA et BERRIDGE, 1966 ; WALL et OSCHMANN, 1973 ; BORDEREAU, 1975).

b) Modifications trachéennes au cours de la mue

Lors de la mue l'intima cuticulaire des trachées est rejetée, alors que celle des trachéoles persiste (WIGGLESWORTH, 1954 ; MILLER, 1964).

Plusieurs étapes peuvent être discernées :

- 1 - rejet de l'ancienne intima cuticulaire
- 2 - formation de petites plaques de cuticuline à la surface de la membrane plasmique (Pl. 4, fig. b)
- 3 - soulèvement de la couche de cuticuline devenue continue probablement par accrétion, en vue de former les replis correspondant à l'ébauche des ténidies
- 4 - différenciation de la ténidie (Pl. 3, fig. c et Pl. 4, fig. c).

Les étapes du renouvellement de l'intima cuticulaire définies au niveau des trachées mésentériques confirment les résultats de BEAULATON (1968 a).

c) Genèse des trachéoles lors de la métamorphose

Bien que de nouvelles petites trachées et trachéoles se forment

à chaque mue autour de l'épithélium intestinal, c'est au cours de la métamorphose que ce processus est le mieux observable. De très nombreuses trachéoles apparaissent en effet juste en dessous de la lame basale, particulièrement dans les indentations de celle-ci (Pl. 4, fig. d).

Ici encore plusieurs étapes peuvent être observées :

1 - présence de nombreux prolongements cellulaires caractérisés essentiellement par de très nombreux microtubules (Pl. 5, fig. a) et accessoirement par de rares mitochondries et quelques vésicules.

2 - apparition d'une lumière centrale au contour légèrement plissé et à contenu fibrillaire au sein de ces prolongements cellulaires (Pl. 5, fig. b). Au voisinage de la lumière trachéenne il y a présence de petites vésicules ; certaines à membrane lisse renferment un matériel dense, d'autres à membrane hérissée un matériel identique à celui de la lumière trachéenne (Pl. 5, fig. b). Bien que des images de continuité entre la lumière et ces vésicules soient observables particulièrement en ce qui concerne les vésicules hérissées (Pl. 5, fig. c), leur rôle demeure incertain quant à leur participation dans la genèse de la lumière trachéenne comme le suppose LOCKE (1966).

3 - formation de plaques de cuticuline juste au-dessus de la membrane plasmique (Pl. 5, fig. b) ; le processus se poursuivant de la manière décrite lors de la mue des trachées.

### 3) Les fibres nerveuses

Des fibres nerveuses, parfois isolées, mais fréquemment réunies en faisceaux (Pl. 5, fig. d) sont observables au sein du tissu conjonctif. Elles sont caractérisées par la présence de nombreuses vésicules denses atteignant 1250 Å de diamètre et renferment, en outre, quelques lames de réticulum endoplasmique, de petites mitochondries et de nombreux microtubules.

Selon WRIGHT et coll. (1970) les cellules neurosécrétrices situées autour de l'intestin moyen seraient susceptibles, par la libération de leurs produits de neurosécrétion de contrôler le mouvement de l'eau à travers l'épithélium intestinal.

### 4) Les cellules de type hémocytaire

Le tissu conjonctif forme un réseau lâche de lamelles effilochées réunissant entre elles les lames basales des cellules trachéennes et musculaires à celle de l'épithélium intestinal. Cette trame enserre, en plus des formations déjà étudiées, deux autres types cellulaires.



a) Premier type

Les caractéristiques en sont :

- le développement du réticulum endoplasmique granulaire dont les citernes dilatées renferment un matériel fibrillaire (Pl. 6, fig. a)
- la richesse ribosomale
- la petite taille des dictyosomes (Pl. 6, fig. b). Généralement ceux-ci émettent de petites vésicules. Beaucoup plus exceptionnellement des vésicules de grande taille (0,5  $\mu$  de diamètre) à contenu dense sont présentes à proximité des dictyosomes (Pl. 6, fig. b)
- d'assez nombreux microtubules, de rares mitochondries et d'exceptionnels corps résiduels

La caractéristique essentielle de ces cellules, à savoir, la dilatation et le développement des citernes ergastoplasmiques, traduit l'existence d'une active synthèse protéique. C'est un caractère que ces cellules ont en commun avec les fibroblastes de Vertébrés, mais aussi avec des cellules d'insectes engagées dans la synthèse du tissu conjonctif. Ainsi les cellules décrites par BEAULATON (1968b) à l'origine de la *tunica propria* des glandes prothoraciques des Lépidoptères ou celles intervenant dans les synthèses de tissu conjonctif chez les Orthoptères (SCHARRER, 1972) sont caractérisées par le développement de leur réticulum endoplasmique. Selon ces auteurs il s'agirait d'hémocytes "sessiles". De même, selon WIGGLESWORTH (1973), les hémocytes participeraient à la formation de la lame basale des cellules épidermiques de *Rhodnius prolixus*.

Si le rôle de ces cellules paraît établi, leur nature reste incertaine. S'agit-il d'hémocytes du type plasmatocyte ou, comme le suppose FRANCOIS (1973, 1975), de fibroblastes similaires à ceux décrits chez les Vertébrés ? Nos données ne nous permettent pas de conclure d'autant que, comme le note FRANCOIS (1973) : "les relations entre les fibroblastes et les hémocytes, ainsi que l'origine de ces fibroblastes reste encore à élucider".

b) Deuxième type

De forme allongée et pouvant émettre des pseudopodes (Pl. 6, fig. c), ce type cellulaire est caractérisé par la présence d'inclusions denses, homogènes et de grande taille. En section, celles-ci apparaissent parfois circulaires quoiqu'elles soient fréquemment allongées (jusqu'à 1,5  $\mu$  de longueur). Le hyaloplasme renferme outre du réticulum endoplasmique granulaire peu dilaté, des corps golgiens et de nombreux ribosomes.

Ces cellules ont les caractères des hémocytes granulaires tels qu'ils ont fréquemment été décrits chez les Insectes (HOFFMANN, 1966 ; SMITH, 1968 ; BAERWALD et BOUSCH, 1970 ; HAGOPIAN, 1971 ; MORAN, 1971 ; SCHARRER, 1972 ; FRANCOIS, 1975). Comme le note HAGOPIAN (1971) il existe une certaine analogie de structure (sans que l'on puisse en dire davantage) entre ces corps denses et les mélanosomes des Vertébrés. Pour SMITH (1968) et MORAN (1971) ces inclusions pourraient, au contraire, correspondre à des lysosomes.

## II - L'ÉPITHELIUM INTESTINAL

Alors que l'intestin des Mammifères est caractérisé par la diversité des types cellulaires (voir revues par TONER, 1968 ; GABE, 1973 ou SOLCIA et coll., 1975), la structure de l'épithélium mésentérique des insectes apparaît, comparativement beaucoup plus simple puisqu'il est généralement admis qu'il n'existe qu'un seul type cellulaire correspondant aux cellules fonctionnelles, elles-mêmes soumises à un remplacement continu à partir de petites cellules indifférenciées situées à la base de l'épithélium, les cellules de régénération (figure 2).

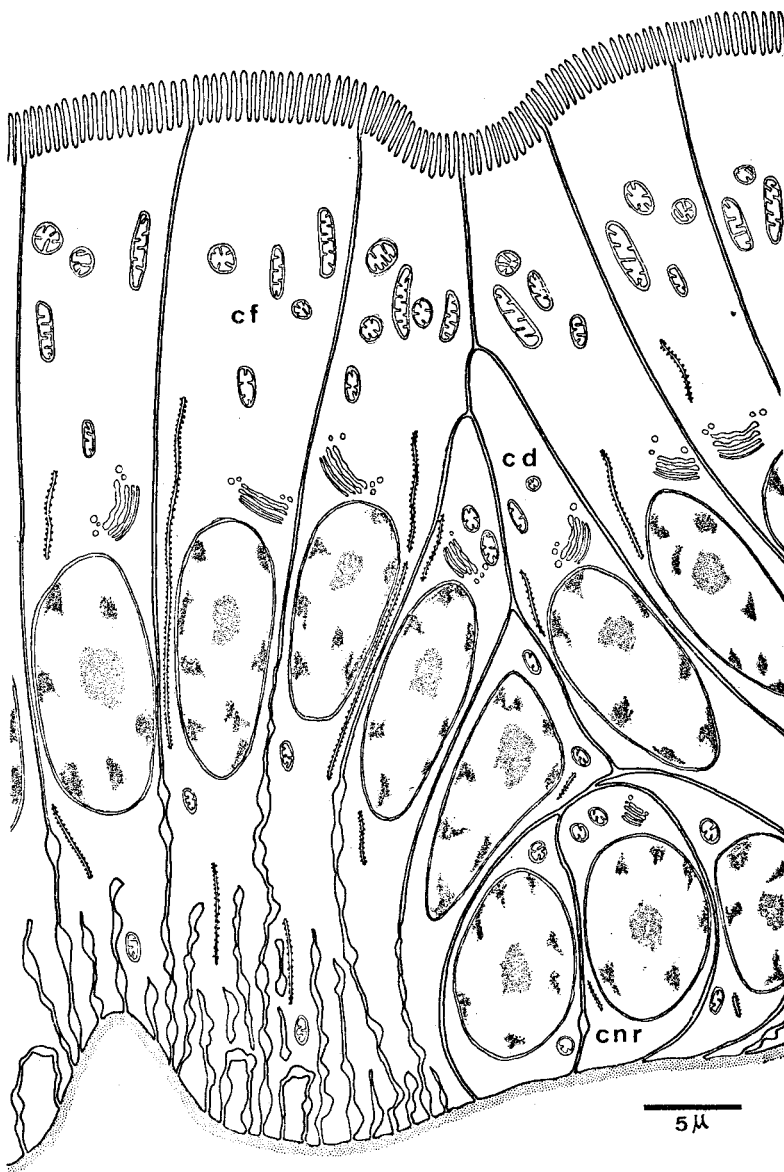


Figure 2 : Schéma montrant la disposition des cellules des nids de régénération (c.n.r.), des cellules en voie de différenciation (c.d.) et des cellules fonctionnelles (c.f.).

Cette apparente simplicité de l'épithélium mésentérique semble cependant de nos jours devoir être remise en question à la suite de la découverte de plus en plus fréquente de nouveaux types cellulaires révélés par la microscopie électronique dont l'un, en particulier, semble être de nature endocrine (PLATZER-SCHULTZ, 1969 ; De PRIESTER, 1971 ; CASSIER et coll., 1972 ; FAIN-MAUREL et coll., 1973 ; PAPILLON et coll., 1974 ; AUBRY, 1975).

Chez *Aeshna cyanea* existe un certain nombre de cellules dont les particularités ultrastructurales les font distinguer des cellules de régénération et des cellules "principales". Leur description fera suite à celle des types cellulaires classiques.

#### 1) Les cellules de régénération

L'intestin moyen des insectes présente des cellules indifférenciées ou cellules de régénération qui, chez les Odonates, font partie de nids plaqués contre la lame basale (figure 2). Comme toutes les cellules indifférenciées, elles présentent un rapport nucléocytoplasmique élevé et un nombre restreint d'organites : mitochondries, saccules ergastoplasmiques, petits dictyosomes et de très nombreux ribosomes libres (Pl. 7, fig. a). Ces cellules, qui sont seules à présenter des mitoses, se différencient, au fur et à mesure des besoins, en cellules épithéliales fonctionnelles (figure 2).

#### 2) Les cellules épithéliales principales

Sous le nom de cellules épithéliales principales nous entendons la grande majorité des cellules épithéliales qui, caractérisées par leurs microvillosités apicales, jouent un rôle dans l'absorption des produits de la digestion, mais aussi dans la sécrétion des enzymes digestives.

Il est très difficile de donner une idée d'ensemble de la structure d'une cellule épithéliale fonctionnelle, celle-ci subissant des variations de forme, mais aussi de structure, en particulier en fonction de la prise de nourriture.

Aussi avons-nous choisi de décrire les constituants de la cellule mésentérique chez l'animal à jeun (ANDRIES, 1976 a).

#### . Les microvillosités

Hautes et fines (2  $\mu$  de longueur, 0,11  $\mu$  de diamètre) et à "cell coat" réduit, elles s'insèrent par un axe filamentaire dans la région apicale (Pl. 8, fig. b).

#### . L'apex cellulaire

Il est caractérisé, comme chez tous les Insectes (NOIROT et NOIROT-TIMOTHEE, 1972), par la présence de vésicules de forme irrégulière appartenant au réticulum endoplasmique lisse (Pl. 8, fig. b). Chez les larves à jeun, ces vésicules étirées sont disposées bout à bout et parallèlement au grand axe de la cellule. Cet alignement est également observable chez les mitochondries de forme allongée qui sont situées juste en arrière de la zone d'ancrage des filaments radiculaires des microvillosités. Des granules denses relativement nombreux (au moins une douzaine par section et par cellule, parfois bien davantage chez les animaux à jeun depuis longtemps) sont présents dans toute la région supranucléaire et ont tendance à s'accumuler juste en dessous de la membrane plasmique apicale (Pl. 8, fig. a).

Dans la région apicale les cellules mésentériques sont réunies entre elles par une *zonula continua* (NOIROT et NOIROT-TIMOTHEE, 1967) (Pl. 8, fig. e) de nature glycoprotéique (DALLAI, 1970) (Pl. 8, fig. f). La jonction continue est interrompue de place en place par de petits desmosomes sur lesquels s'insèrent de façon très oblique de très fins filaments pouvant former (Pl. 8, fig. c), du moins dans la région apicale, un anneau plus ou moins continu (NOIROT et NOIROT-TIMOTHEE, 1972).

#### . Les systèmes lamellaires

Ces formations dérivées du réticulum endoplasmique granulaire (Pl. 9, fig. a) ont fait l'objet d'une publication antérieure (ANDRIES, 1976d).

Celle-ci a montré que les systèmes lamellaires localisés dans et en deçà de la zone d'ancrage des racines des microvillosités (Pl. 9, fig. b) sont formés généralement de 6 à 10 saccules parallèles entre eux, séparés les uns des autres par un espace de 300 à 400 Å renfermant une fine ligne dense (Pl. 9, fig. a) qui, en fait, correspond à de fins filaments reliant les membranes de citernes adjacentes comme le prouve une coupe tangentielle (Pl. 9, fig. c).

#### . L'appareil de Golgi

Il est localisé à la périphérie du noyau, particulièrement dans la zone supranucléaire. Les dictyosomes sont formées de 4 à 6 saccules atteignant 1,5  $\mu$  de long. Généralement, il n'existe que 2 saccules dilatés constituant la face de formation et 2 à 4 saccules nettement plus rétrécis correspondant à la face de maturation au voisinage immédiat desquels se trouvent une ou deux vésicules denses qui en dérivent. L'activité golgienne, bien que réelle, semble cependant restreinte.

. Le réticulum endoplasmique granulaire

Une des caractéristiques de ces cellules est leur richesse en réticulum endoplasmique granulaire dont les lames nombreuses, alignées parallèlement au grand axe de la cellule, sont observables autant dans la partie basale que dans la région supranucléaire.

. La région basale

Dans la partie basale les espaces intercellulaires sont très faiblement dilatés et la membrane plasmique basale forme de nombreuses invaginations, l'aspect obtenu étant celui d'un labyrinthe.

La lame basale se présente sous forme d'un treillis de nature glycoprotéinique (Pl. 8, fig. d) constitué de bandes sombres irrégulières, anastomosées et séparées par des espaces plus clairs.

CONCLUSION

La structure des cellules mésentériques principales d' *Aeshna cyanea* ne diffère guère de celle des cellules de l'intestin moyen des autres insectes étudiés, si ce n'est par la présence de systèmes lamellaires particuliers. Comme toutes les cellules jouant un rôle dans le transport d'ions et de molécules, les cellules mésentériques principales montrent une très nette polarité entre le pôle apical et leur région basale. Elles sont, en outre, caractérisées par une grande surface de contact avec la lumière intestinale, grâce aux nombreuses microvillosités et, de même avec le milieu intérieur, grâce aux nombreux replis formés par la membrane plasmique basale. Dès 1965, NOIROT-TIMOTHEE et NOIROT mettaient l'accent sur l'importance physiologique de ces différenciations apicale et basale dans les phénomènes d'absorption intestinale.

3) Les cellules de type endocrine et exocrine

La description de ces cellules a fait l'objet d'une publication récente (ANDRIES, 1976 b) dont nous donnons ici les résultats essentiels.

a) Cellules de nature endocrine

Sur des critères morphologiques, deux types ont pu être discernés.

. Cellules à granules denses

Ces cellules (Pl. 10, fig. a) situées au contact ou à l'intérieur même des nids de régénération adhérent, comme toutes les cellules, à la lame basale. Elles sont caractérisées par la présence de très nombreux granules sphériques, uniformément denses, limités par une membrane et dont le diamètre atteint 0,3  $\mu$ . Nous n'avons jamais pu observer de prolongements cellulaires se dirigeant vers la lumière intestinale.

Le rapport nucléocytoplasmique de ces cellules est élevé, similaire à celui des cellules de régénération voisines, dont elles ont sensiblement la taille. Le fond hyaloplasmique apparaît très clair, du fait de sa pauvreté relative en ribosomes. Les mitochondries peu nombreuses et de petite taille ont une matrice modérément dense, alors que le réticulum endoplasmique granulaire est limité à un nombre restreint de citernes. Les dictyosomes, au contraire nombreux et bien développés sont entourés de nombreux granules denses qui en dérivent (Pl. 10, fig. b). Ces granules, répartis au sein de toute la cellule, sont susceptibles de décharger leur contenu au niveau de la lame basale à la suite d'un processus d'exocytose (Pl. 10, fig. c).

. Cellules à vésicules claires

De forme allongée, leur prolongement s'immiscant entre les cellules de régénération, ces éléments s'évasent au voisinage de la lame basale, leur noyau étant toujours situé à la base de la cellule.

Ces cellules sont caractérisées par une abondance de vésicules très claires à contenu légèrement flocculeux (Pl. 10, fig. d) ou à noyau dense souvent excentrique (Pl. 10, fig. e).

Ces vésicules peuvent être en contigüité avec des saccules dilatés du réticulum endoplasmique agranulaire. Particulièrement nombreux dans la région effilée de la cellule, ceux-ci sont fréquemment alignés parallèlement au grand axe de la cellule, de même que les nombreux microtubules. Par ailleurs, il y a similitude morphologique entre le contenu des vésicules et celui des saccules du réticulum endoplasmique lisse.

Les corps golgiens sont relativement nombreux en particulier dans la partie effilée de la cellule. Si, au niveau de la face de maturation des dictyosomes il est possible d'observer assez exceptionnellement des granules denses de taille et d'aspect similaires à ceux décrits dans le type précédent, il est par contre très fréquent de constater l'émission de nombreuses petites vésicules (Pl. 10, fig. f) atteignant 500 Å de diamètre. Ces vésicules sont également observables au voisinage de vésicules claires de grande taille avec lesquelles elles pourraient fusionner.

Comme dans le cas des cellules à granules, il nous semble qu'il y ait exocytose du contenu des vésicules vers la lame basale. Le soulèvement fréquent de la membrane plasmique basale au voisinage de ces vésicules (Pl. 11, fig. a) suggère un tel processus.

## CONCLUSION

Le phénomène du rejet de matériel vers le milieu intérieur qui caractérise à la fois les cellules à granules et celles à vésicules claires permet de qualifier ces 2 types de cellules endocrines. Le fait que, reposant sur la lame basale, elles n'atteignent pas la lumière intestinale est un argument supplémentaire en faveur de leur nature endocrine.

Les cellules à granules denses ont été décrites depuis peu dans de nombreux épithéliums mésentériques d'Insectes (voir Introduction du II) et de ce fait semblent constituer un élément caractéristique du mésentéron des Insectes. Les cellules à vésicules claires n'ont, par contre, été observées que par AUBRY (1975) qui suppose que les vésicules claires ne sont que la "gaine sphérique" des granules. Nous ne partageons pas cette interprétation, bien des critères morphologiques (ANDRIES, 1976 b) opposant ces deux types cellulaires.

Quant au rôle de ces cellules il demeure tout à fait hypothétique. Rappelons simplement que selon CASSIER et coll. (1972) les cellules à granules denses pourraient être impliquées dans le contrôle de l'activité protéasique.

### b) Cellules de nature exocrine

Ces cellules renflées à leur base et à leur apex ont la forme d'une bouteille à col très fin (Pl. 11, fig. b), particulièrement lorsque l'épithélium est élevé.

#### . La région basale

C'est dans la région basale, au voisinage des cellules de régénération, que se situe le noyau. A proximité de ce dernier, de nombreux et volumineux dictyosomes sécrètent des granules denses (Pl. 11, fig. d). Au voisinage des dictyosomes et des granules qu'ils engendrent, il y a présence de nombreuses vésicules atteignant 0,5  $\mu$  de diamètre, à matériel plus ou moins fibrillaire dont l'opacité aux électrons est inversement proportionnelle à leur taille (Pl. 11, fig. d). Par ailleurs, de petites vésicules claires de 500 Å de diamètre sont également présentes.

#### . Le col

Il est caractérisé par un flux de microtubules courant parallèlement à son grand axe (Pl. 11, fig. b) entre lesquels des vésicules transitent. Le réticulum endoplasmique toujours bien développé est essentiellement constitué de petits saccules agranulaires chevauchant, probablement du fait de l'épaisseur des préparations, les microtubules. Généralement allongés parallèlement au grand axe de la cellule, ils peuvent, beaucoup plus exceptionnellement, être disposés perpendiculairement.

. L'apex

C'est à son niveau que s'accumulent les vésicules à matériel fibrillaire (Pl. 11, fig. c). Ses microvillosités sont originales par :

- leur taille : elles sont 2 à 3 fois plus courtes que celles des cellules voisines ;
- leurs racines qui s'enfoncent très profondément à l'intérieur du cytoplasme apical ;
- leur "cell coat" très ramifié et très développé.

CONCLUSION

L'accumulation de vésicules à l'apex cellulaire rappelle l'aspect fourni par les cellules caliciformes des Vertébrés sans que nous puissions homologuer les cellules en bouteille à des mucocytes. L'apex des cellules en bouteille rappelle également celui des cellules caliciformes de *Petrobius* (FAIN-MAUREL et coll., 1973), avec lesquelles elles ne semblent avoir en commun que leur nature exocrine.

Les cellules en bouteille décrites dans l'intestin moyen de la larve d'*Aeshna cyanea* constituent donc un type cellulaire dont l'originalité réside dans la présence d'un pôle basal où ont lieu les synthèses et d'un pôle apical où s'accumulent les produits de sécrétion et à partir duquel ceux-ci sont vraisemblablement évacués dans la lumière intestinale. Ces deux pôles sont reliés par une zone cytoplasmique très riche en microtubules dont le rôle probable est de faciliter la migration des produits de sécrétion d'une extrémité à l'autre de la cellule.

III - VARIATIONS MORPHOLOGIQUES ET ULTRASTRUCTURALES DES CELLULES MESENTERIQUES EN FONCTION DE LA PRISE DE NOURRITURE

L'intestin moyen des Insectes est le siège de deux fonctions essentielles : sécrétion enzymatique et absorption intestinale (WATERHOUSE, 1957). Si de nombreux auteurs (ANDERSON et BEAMS, 1956 ; WATERHOUSE et WRIGHT, 1960 ; BACETTI, 1961, 1962 ; BERTRAM et BIRD, 1961 ; NOIROT-TIMOTHEE et NOIROT, 1965 ; DALLAI, 1966 ; STAÜBLI et coll., 1966 ; PEHANI et coll., 1968 ; SMITH et coll., 1969 ; AKAI, 1970 ; De PRIESTER, 1971 ; HECKER et coll., 1971 ; NOIROT et NOIROT-TIMOTHEE, 1972 ; FAIN-MAUREL et coll., 1973 ; CSOKNYA et HALASZ, 1973 ; HEINRICH et ZEBE, 1973 ; PAPIILLON et coll., 1974 ; NOPANITAYA et MISH, 1974 ; LEHANE, 1976) ont décrit



l'ultrastructure de l'intestin moyen des Insectes, on ne dispose cependant que de peu de données sur les phénomènes de sécrétion ou d'absorption en fonction de la prise de nourriture et sur les changements ultrastructuraux que celle-ci entraîne au niveau de la cellule intestinale.

Après avoir mis l'accent sur les changements de forme subies par l'intestin moyen après la pénétration de la nourriture, nous essaierons de définir le rôle des différents organites impliqués dans le transfert de substances nutritives à travers l'épithélium intestinal et dans la synthèse des enzymes digestives.

1) Variations morphologiques

Elles ont été traitées dans une publication antérieure (ANDRIES, 1970 b) dont nous nous bornons à donner les résultats essentiels.

Des larves de l'avant dernier stade soumises au jeûne pendant 4 jours ont été alimentées le huitième jour de l'intermue, et sacrifiées 1 h., 6 h. après la prise de nourriture, puis de 6 en 6 heures jusqu'à la 36e heure après le dernier repas.

a) Diamètre intestinal et hauteur épithéliale

Les valeurs représentatives des deux paramètres : diamètre de l'intestin moyen et hauteur épithéliale, notées dans la région moyenne, varient en raison inverse (figure 3). En effet, dès que la nourriture pénètre dans l'intestin moyen, provoquant sa dilatation, la hauteur de l'épithélium diminue fortement.

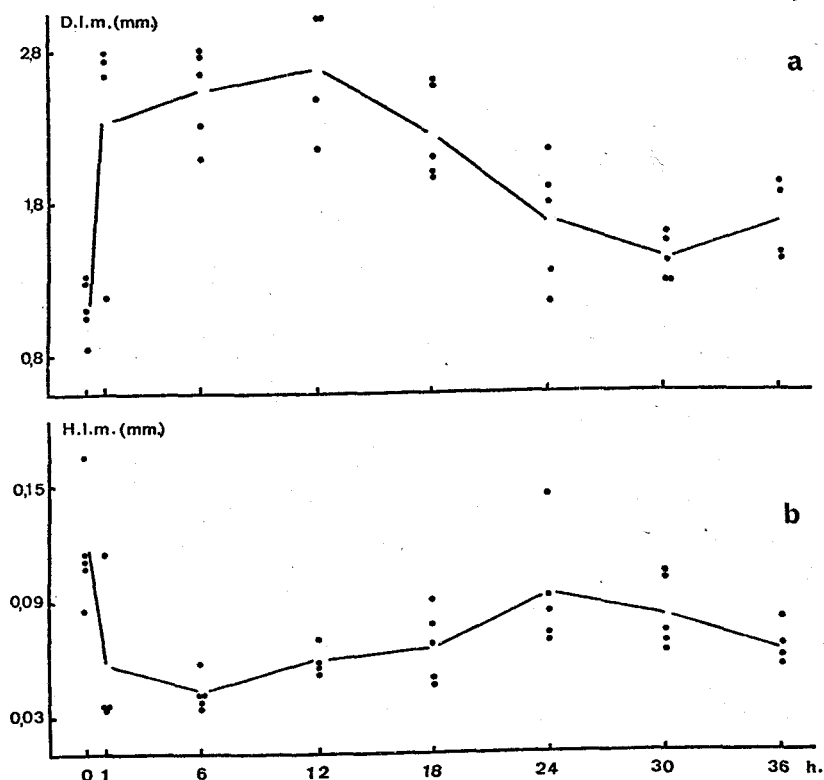


Figure 3 : Variations dans la région moyenne de l'intestin moyen en fonction du temps (en h) après la prise de nourriture : (a) du diamètre intestinal ; (b) de la hauteur épithéliale.

b) Longueur de l'intestin moyen

Les variations de longueur de l'intestin moyen sont représentées par un graphique (figure 4) tenant compte du nombre total de coupes sériées transversales obtenues à partir de larves fixées à intervalles réguliers après la prise de nourriture.

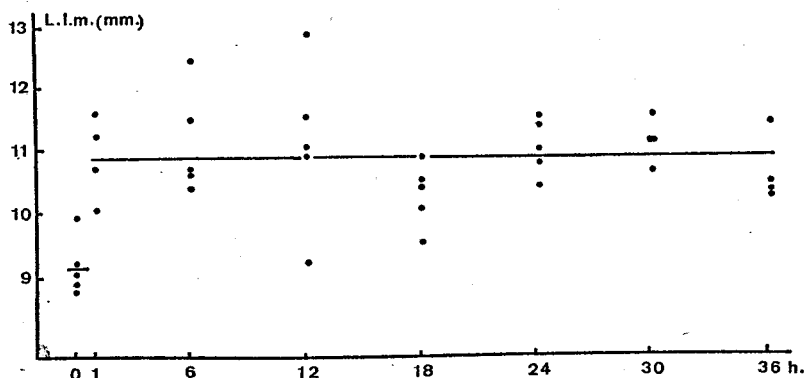


Figure 4 : Variations de la longueur de l'intestin moyen (en mm) en fonction du temps (en h.) après la prise de nourriture.

On constate que l'ensemble des valeurs comprises entre 1 et 36 h. après le repas diffère significativement des valeurs obtenues pour les animaux jeûnant depuis 4 jours. Il semble donc que, corrélativement à un relâchement de la musculature circulaire, il y ait relâchement de la musculature longitudinale, ces deux phénomènes intervenant au moment de la pénétration de la nourriture dans l'intestin moyen.

2) Variations ultrastructurales

Elles ont fait l'objet d'une publication récente (ANDRIES, 1976 a) dont nous rapportons ici les faits essentiels.

Pour cette étude nous avons utilisé des larves de l'avant-dernier stade, nourries de façon identique pendant les trois premiers jours de l'intermue, puis soumises au jeûne pendant 4 jours et enfin sacrifiées le huitième jour à intervalles de temps variables (30 minutes, 1 h., 1 h. et demie, 2 h., 3 h., 7 h. et 24 h.) après le repas. Les animaux à jeûn, dont certains durant 1 mois, servent de témoin.

L'aspect des organites cytoplasmiques observé dans les cellules mésentériques des animaux nourris depuis 24 heures et de ceux restés à jeûn est sensiblement le même. Par contre, celui fourni par les cellules mésentériques des

larves ayant ingéré leur repas depuis quelques heures (de 1 à 7 h.) diffère très nettement. Les modifications essentielles concernent :

- les granules denses : très nombreux chez les larves à jeun, ils le sont nettement moins chez ceux nourris depuis moins de 7 heures, bien que les dictyosomes soient très actifs (Pl. 12, fig. d). Il faut noter le contenu flocculeux des saccules de la face de formation des corps golgiens.

- les vésicules du réticulum endoplasmique lisse : très dilatées et à matériel flocculeux, elles peuvent être appliquées à la membrane plasmique apicale (Pl. 12, fig. a) ou se trouver en continuité avec les systèmes lamellaires les plus apicaux (Pl. 12, fig. b). Alors que ces systèmes lamellaires ne sont formés que d'un nombre restreint de saccules, d'autres, situés plus "profondément" et constitués de nombreux saccules, entourent de gros globules lipidiques (Pl. 12, fig. c).

- le réticulum endoplasmique : moins abondant, ses lames sont fragmentées.

- les globules lipidiques : ils apparaissent au sein du cytoplasme apical 1 heure après la prise de nourriture. Sept heures après l'ingestion du repas ils sont très nombreux dans la région basale. Enfin, ils persistent encore chez les larves nourries depuis 24 heures, quoique moins nombreux et fortement échanclés par des îlots de glycogène (Pl. 12, fig. e).

- les espaces intercellulaires de la région basale : dilatés, ils peuvent renfermer un matériel flocculeux (Pl. 13, fig. d) ainsi que des formations sphériques délimitées par une membrane et renfermant de nombreuses petites vésicules (Pl. 13, fig. c). De telles vésicules à contenu légèrement opaque et homogène sont disséminées dans le cytoplasme (Pl. 13, fig. a). Celles situées au voisinage de lames du réticulum endoplasmique granulaire semblent dériver de ce dernier et plus précisément des extrémités des profils ergastoplasmiques qui par endroits, apparaissent "dégranulés" (Pl. 13, fig. a). Enfin on peut observer des vésicules de même aspect qui s'accumulent sous la membrane plasmique latérale où elles déterminent la formation de hernies dans l'espace intercellulaire (Pl. 13, fig. b).

## CONCLUSIONS

### . Synthèse et libération des enzymes digestives

L'exocytose des granules denses dans la lumière intestinale est en relation avec la pénétration de la nourriture dans l'intestin moyen. Il est probable que ces granules d'origine golgienne soient des réservoirs d'enzymes

digestives comme l'ont suggéré STAÛBLI et coll., 1966 ; FAIN-MAUREL et coll., 1973 et LEHANE, 1976.

Il est à noter toutefois qu'un rôle différent a été attribué dernièrement par MICHAELS et LEBLOND (1976) aux granules apicaux des cellules intestinales de Mammifères. Ceux-ci assureraient le transport en direction de la surface cellulaire de glycoprotéines destinées au remplacement du "cell coat".

. Transfert des substances nutritives à travers l'épithélium intestinal

+ Rôle du réticulum endoplasmique :

Sur la base d'arguments morphologiques nous pouvons envisager le passage en direction de l'hémolymphe de substances nutritives (non identifiées) contenues dans la lumière intestinale selon les étapes suivantes :

- 1ère étape : capture de ces substances, après diffusion à travers la membrane plasmique apicale, par les vésicules dilatées du réticulum endoplasmique agranulaire.

- 2ème étape : passage du contenu des vésicules du réticulum lisse vers l'intérieur des profils ergastoplasmiques comme le suggère l'apparition d'un matériel flocculeux, à la fois dans les vésicules dilatées du réticulum endoplasmique agranulaire et au sein des lames ergastoplasmiques. Ce passage de substances s'explique non seulement par la proximité de l'ensemble vésicules et saccules de réticulum endoplasmique lisse et des lames ergastoplasmiques, situées juste en arrière, mais aussi par les communications qui s'établissent entre ces formations. Par ailleurs, les citernes ergastoplasmiques peuvent prolonger les citernes de la face distale des systèmes lamellaires qui, eux-mêmes, sont en connexion avec les vésicules du réticulum endoplasmique agranulaire.

- 3ème étape : transfert du matériel du réticulum endoplasmique granulaire en direction de l'espace intercellulaire au niveau duquel de petites vésicules agglomérées font hernie sur les parois cellulaires latérales. Le transfert pourrait également se faire par "déversement" direct du contenu des citernes ergastoplasmiques dans l'espace intercellulaire (encore faudrait-il dans ce cas démontrer l'existence de communications).

+ Formation et digestion des globules lipidiques :

Les globules lipidiques sont détectables en premier lieu à l'apex des cellules notamment entre les citernes des systèmes lamellaires. Il est probable que ceux-ci jouent un rôle dans la synthèse des globules lipidiques,

bien que nous ne puissions pas les relier directement au réticulum endoplasmique lisse étant donné qu'ils apparaissent en position intercisternale.

Vingt quatre heures après la prise de nourriture les globules lipidiques apparaissent fréquemment échancrés par des plages de glycogène. Il semble donc que l'épithélium intestinal est à même de transformer les lipides ingérés (du moins une partie) en glycogène.

#### IV - STRUCTURE ET GENÈSE DE LA MEMBRANE PÉRITROPHIQUE

Les cellules mésentériques des Insectes sécrètent un fourneau détachable, la membrane péritrophique qui, comme son nom l'indique, entoure la nourriture présente dans la lumière intestinale. De nombreuses études portant sur la structure, le mode de formation et sur la composition de ces membranes ont été faites chez de nombreux représentants de divers ordres d'Insectes. De façon générale il a été démontré que la chitine entre pour une bonne part dans la constitution des membranes péritrophiques (PETERS, 1968) au sein d'une matrice de nature protéique et polysaccharidique (NISISAWA et coll., 1963 ; ONO et KATO, 1968). Il en est ainsi chez les Odonates comme le prouva Van DEHN dès 1933. Quant au mode de formation de cette membrane, il s'agirait, chez les Odonates, d'une sécrétion d'un anneau de cellules situé à la base de la valvule cardiaque (WIGGLESWORTH, 1930) à laquelle s'adjoindrait une délamination de minces lames se produisant à la surface des cellules mésentériques. Selon VOINOV (1898) et AUBERTOT (1934) il n'existerait cependant pas de péritrophique de sécrétion, la membrane péritrophique résultant uniquement d'une délamination du plateau strié des cellules mésentériques d'un bout à l'autre de l'intestin moyen ; ce qui semble confirmé par sa structure hexagonale (KUMMEL, 1956).

Nos données résultent d'une étude ultrastructurale de la membrane péritrophique et de son mode de formation et d'une étude autoradiographique indispensable pour vérifier la part que prennent les différents tronçons de l'intestin moyen dans la genèse de la membrane péritrophique. Nous avons choisi comme marqueur la N-acetyl-glucosamine 3H qui entre dans la constitution de la chitine. Douze larves en début de dernier stade pesant approximativement 1 g ont été injectées de 10 $\mu$  Ci de N-acetyl-glucosamine 3H. Au moment de l'injection, six de ces larves étaient à jeun depuis quatre jours, les six autres ayant été nourries depuis 1 h. 30 à 2 h. après avoir subi également un jeûne de quatre jours. Six temps d'incorporation ont été réalisés : 10 mn, 30 mn, 2 h. 30, 6 h., 9 h. et 72 h.

##### 1) Etude ultrastructurale

###### a) Structure de la membrane péritrophique

La membrane péritrophique apparaît formée de nombreuses lames emboîtées les unes dans les autres (Pl. 14, fig. a). L'aspect des lames de la

membrane péritrophique est fonction du plan de coupe. Généralement celui-ci montre un réseau alvéolaire (Pl. 14, fig. b) atteignant 0,15  $\mu$  d'épaisseur, formé par le croisement de 3 séries de fibres constituées elles-mêmes de microfibrilles. L'écart entre 2 fibres voisines et parallèles entre elles oscille entre 0,13 et 0,18  $\mu$  et les hexagones ainsi délimités par le croisement des trois séries de fibres (Pl. 14, fig. b) ont sensiblement la taille des microvillosités coupées transversalement (Pl. 14, fig. c).

b) Mode de formation de la membrane péritrophique

La présence, à l'apex des microvillosités, d'une lame fibrillaire en relation avec le "cell coat" des microvillosités (Pl. 15, fig. b) suggère la genèse d'une membrane péritrophique, d'autant que cette lame ou du moins sa partie supérieure comme le montre la figure a Pl. 15, peut se soulever dans la lumière intestinale. Par ailleurs, il est possible d'observer de telles lames fibrillaires en profondeur, entre les microvillosités et parfois près de la membrane plasmique apicale (Pl. 15, fig. c). Nous pensons qu'il s'agit dans ce cas d'une membrane péritrophique en cours de formation dont le déplacement progressif vers la lumière intestinale pourrait expliquer la structure alvéolaire.

2) Données autoradiographiques

Les résultats de l'injection de N-acétyl-glucosamine 3H sont rapportés dans le tableau 5 ; comme nous n'avons pas observé de différences majeures entre les larves alimentées et celles soumises au jeûne, sauf pour les temps d'incorporation longs, les résultats sont en partie confondus. L'illustration est fournie par les figures d à f de la planche 15.

		Temps d'incorporation							
		10mn	30 mn	2h30	6h	9h		72 h	
						jeûne	nourri	jeûne	nourri
Intestin moyen	Région antérieure	-	+	+++	++	++	-	+++	±
	Région médiane	-	-	+	++	+	-	+	±
	Région postérieure	-	-	±	± à +	±	-	-	-
Intestin antérieur (gésier)		-	-	-	-		+	+++	

Figure 5 : Intensité du marquage de la bordure en brosse des cellules de l'intestin moyen et de la cuticule de l'intestin antérieur en fonction du temps d'incorporation.

Ces résultats appellent les remarques suivantes :

1 - aucun marquage n'est observable pour des temps d'incorporation faibles (10 ou 30 mn). Il en est de même pour les péritrophiques présentes dans la lumière intestinale.

2 - le marquage de la bordure en brosse est toujours plus net dans la région antérieure, surtout au niveau de la valvule cardiaque, que dans les régions moyenne et postérieure (Pl. 15, fig. d à f).

3 - pour des temps d'incorporation longs (> 9 h.) le marquage est encore important au niveau du plateau strié des larves soumises au jeûne, mais il est sensiblement nul chez celles qui ont été alimentées.

Il semble qu'un tel résultat soit à mettre en relation avec les synthèses nettement plus actives de membrane péritrophique chez les larves nourries que chez celles soumises au jeûne.

4 - au niveau du gésier, seuls les temps d'incorporation longs (9 h. et surtout 72 h.) sont responsables du marquage de la cuticule néoformée. Le marquage, très lent à s'établir au niveau du gésier s'explique par l'origine ectodermique de cette portion de l'intestin où le métabolisme de la chitine s'opère selon le rythme du dépôt d'endocuticule propre au tégument.

En ce qui concerne les membranes péritrophiques présentes dans la lumière intestinale, celles-ci sont nettement marquées pour tous les temps d'incorporation excepté, comme nous l'avons noté, pour les temps très courts (10 et 30 mn).

#### DISCUSSION-CONCLUSION

La chitine est un polysaccharide formé essentiellement de longues chaînes de résidus de N-acétyl-D-glucosamine (voir CANDY et KILBY, 1962). L'injection d'un précurseur marqué tel que la N-acétyl-glucosamine 3H doit donc permettre de marquer d'une manière hautement spécifique la chitine et par là même les membranes péritrophiques et la cuticule (HEINRICH et coll., 1974). C'est ce que nous avons pu effectivement constater chez *Aeshna cyanea*. Toutefois l'intérêt d'une telle étude réside essentiellement dans la démonstration d'un véritable gradient antéro-postérieur quant au lieu de formation de la membrane péritrophique. Ainsi, bien que des images de délamination du "plateau strié" puissent être observées le long de tout l'intestin moyen, c'est la région tout à fait antérieure de l'intestin moyen qui est la zone privilégiée de genèse de la membrane péritrophique.

Les lames de la membrane péritrophique ont une structure alvéolaire. Comme nous l'avons démontré, la taille des hexagones de la membrane péritrophique est sensiblement celle des microvillosités. De plus, nous avons pu constater que des membranes péritrophiques en formation migrent le long des microvillosités pour finalement se détacher à leur apex. L'hypothèse de MERCER et DAY (1952) selon laquelle les microvillosités servent de moule aux membranes péritrophiques semble ainsi vérifiée. Toutefois selon RICHARDS et RICHARDS (1971) les réseaux alvéolaires des membranes péritrophiques pourraient correspondre à des artéfacts dus aux traitements subis par les préparations. D'après nos résultats, nous pouvons affirmer que ces réseaux existent réellement, du moins chez la larve d'*Aeshna cyanea*, puisque la membrane péritrophique a été fixée *in situ* dans la lumière intestinale et que les blocs de tissus n'ont subi que la fixation glutaraldéhydrique et la postfixation osmiée classiques.

Nos images ultrastructurales démontrent nettement l'existence d'un lien entre la membrane péritrophique et le "cell coat" des microvillosités qui, rappelons-le, fait partie intégrante de la membrane plasmique (ITO, 1965). Les figures C Pl. 14 et a Pl. 15 montrent en effet, l'existence tout autour des microvillosités de fibrilles serrées atteignant jusqu'à 250 Å de diamètre. Par ailleurs, des fibrilles plus grandes et beaucoup moins serrées connectent les microvillosités entre elles et sont reliées aux lames fibrillaires situées à l'apex des microvillosités (Pl. 15, fig. a). Nous ne sommes cependant pas à même, à partir de ces seules données ultrastructurales, de préciser la nature réelle ou fortuite de ces relations.

## V - VARIATIONS MORPHOLOGIQUES ET ULTRASTRUCTURALES DES CELLULES MÉSENTERIQUES AU COURS DE LA MUE

Il est connu que le remplacement de l'épithélium mésentérique des Insectes peut, suivant les genres, s'opérer à chaque mue ou au contraire uniquement lors de la métamorphose (WIGGLESWORTH, 1953). La figure 6 est un rappel des données que nous possédons à ce sujet.

Celles relatives aux Odonates ont été formulées par STRAUB (1943). Selon cet auteur, la mue semble s'effectuer au niveau de l'intestin moyen "d'une façon différente de celle décrite pour la métamorphose", c'est-à-dire sans refoulement en bloc de l'épithélium dans la lumière intestinale.



Rejet de l'épithélium larvaire à chaque mue	}	COLLEMBOLLES	Typhlogastrura	THIBAUD 1968
			Tomocerus	HUMBERT 1974
		ISOPTERES		WEYER 1935
		DICTYOPTERES	Blatella	WEYER 1936
		COLEOPTERES	Anthrenus	MÖBUSZ 1897
		LEPIDOPTERES	Bombyx	VERSON 1905
			Galleria	TCHANG YUNG TAÏ 1928a
			Achroia	TCHANG YUNG TAÏ 1928b
			Tineola	LOTMAR 1940
		DIPTERES	Psychoda	HASEMAN 1910
Rejet d'un épithélium nymphal complet	}	COLEOPTERES	Cybister	DEEGENER 1904
			Galerucella	POLYARKOFF 1910
			Acanthoscelides	BUSHNELL 1936
			Leptinotarsa	PATAY 1939
		LEPIDOPTERES	Tineola	LOTMAR 1942
HYMENOPTERES	Apis	LOTMAR 1945		
Rejet d'un épithélium nymphal abortif	}	HYMENOPTERES	Formica	PEREZ 1903
		DIPTERES	Calliphora	PEREZ 1910
		ODONATES	Aeshna	STRAUB 1943

Figure 6 : Données sur le renouvellement de l'épithélium mésentérique au cours du développement post embryonnaire des Insectes.

Ces quelques observations très fragmentaires nous ont amené à nous poser le problème de l'évolution mésentérique d'*Aeshna cyanea* au cours de la mue.

A cet effet nous avons sacrifié des larves de l'antépénultième ou de l'avant-dernier stade dans les heures qui précèdent ou qui suivent l'exuviation.

1) Variations morphologiques

Peu avant l'exuviation, la larve d'*Aeshna cyanea* qui a cessé de s'alimenter s'allonge fortement, ses segments abdominaux étant désormais distendus. Ce phénomène qui s'intensifie après le rejet de l'exuvie grâce à un apport supplémentaire d'eau dans le tube digestif (ROBERT, 1958) et à une rétention hydrique sous contrôle neurohormonal (CHARLET, 1974) a comme conséquence un allongement et un élargissement de l'abdomen.

Très grand au moment de l'exuviation, le diamètre intestinal décroît par la suite (figure 7), phénomène qui est particulièrement net dans les 6 premières heures suivant l'ecdysis. Dans le même temps la hauteur des cellules intestinales augmente (figure 8), le diamètre intestinal et la hauteur des cellules intestinales étant des paramètres antagonistes.

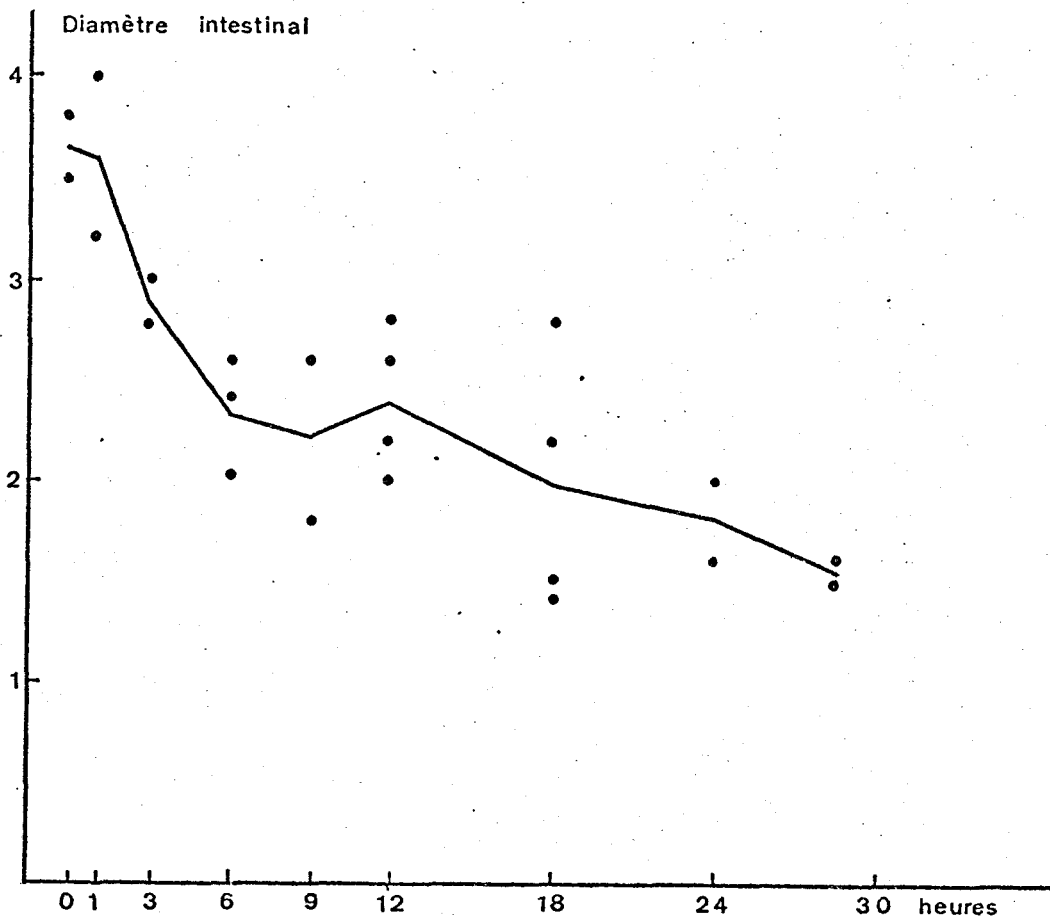


Figure 7 : Variations du diamètre intestinal (en mm) dans les heures suivant l'exuviation.

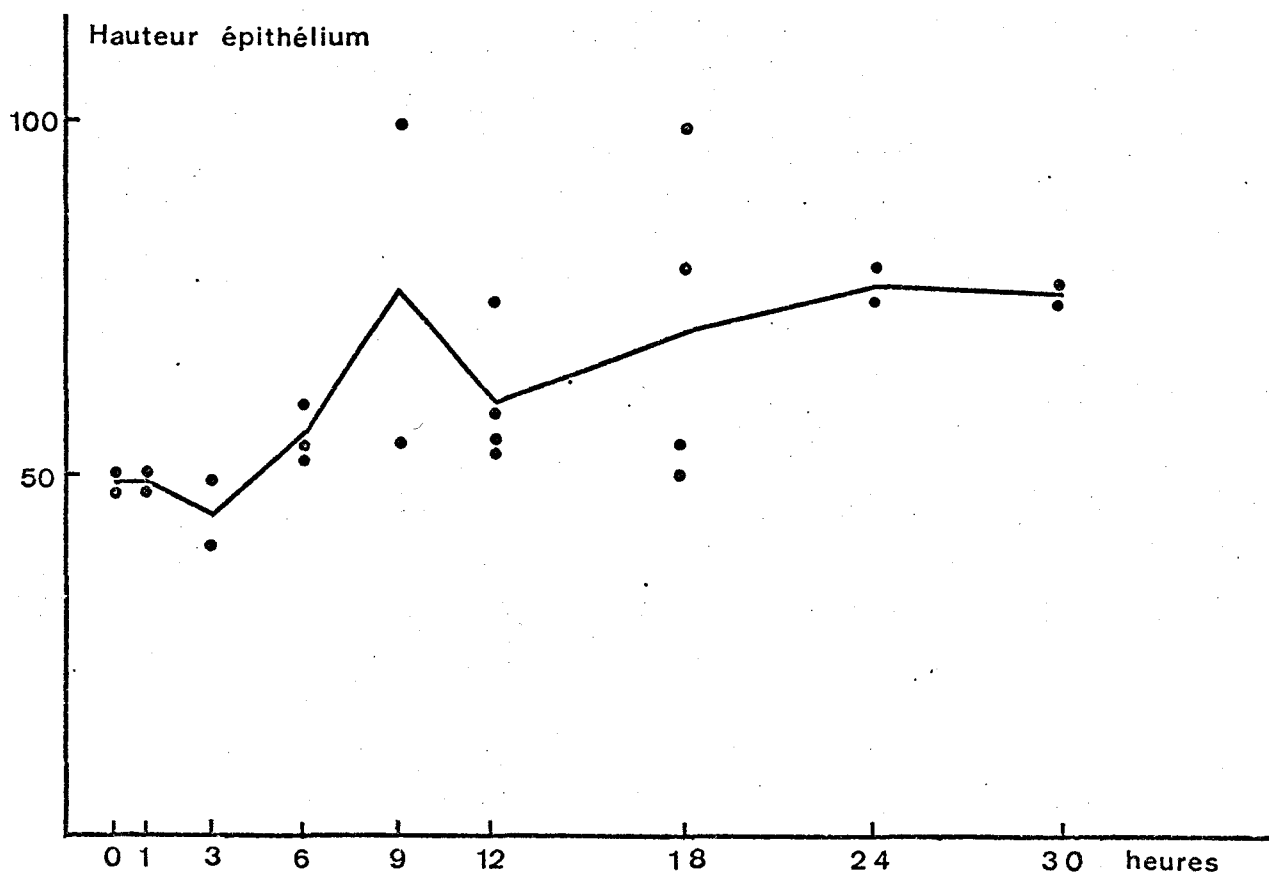


Figure 8 : Variations de la hauteur de l'épithélium mésentérique (en  $\mu$ ) dans les heures suivant l'exuviation.

## 2) Variations ultrastructurales

L'étude ultrastructurale des cellules mésentériques a été faite dans les régions antérieure et moyenne de l'intestin moyen sur des larves sacrifiées au moment même de l'exuviation ou dans les heures la précédant.

### a) Etat de l'épithélium intestinal au moment de l'exuviation (Pl. 16, fig. a)

Les caractéristiques en sont :

1 - sa hauteur faible de 40 à 50  $\mu$  pour une largeur moyenne d'une vingtaine de microns ;

2 - une dilatation très nette des espaces intercellulaires situés en deçà de la *zonula continua*, conséquence probable de l'ingestion d'eau au moment de l'exuviation ;

3 - sa richesse en globules lipidiques.

### b) Etat de l'épithélium intestinal 12 à 36 h. avant l'exuviation

Les traits marquants sont les suivants :

- Un réticulum endoplasmique granulaire bien développé

- Des corps golgiens à très nette polarité et sécrétant de nombreux granules denses (Pl. 16, fig. b)
- Des inclusions lipidiques et glycogéniques importantes
- La présence dans le noyau d'un nucléole de grande taille (2,5  $\mu$  de diamètre) et celle de nombreuses granulations dispersées parmi la trame interchromatinienne depuis la région périphérique du nucléole (Pl. 16, fig. c) jusqu'au contact de l'enveloppe nucléaire. Les mottes chromatinienne sont peu nombreuses et de petite taille.

L'ultrastructure des cellules mésentériques des larves sacrifiées dans les heures précédant l'exuviation ne diffère pas, en ce qui concerne les inclusions et les organites cytoplasmiques, de celle des animaux s'étant alimentés depuis quelques heures. Cela n'est guère surprenant si l'on sait que les larves d'*Aeshna cyanea* ne jeûnent que juste avant de subir l'exuviation.

Au point de vue nucléaire le nucléole est de grande taille et comporte une partie granulaire bien développée, signe d'une activité métabolique intense. Certes, il est délicat d'affirmer à partir de seules données morphologiques que les nombreuses granulations denses disséminées dans tout le nucléoplasme dérivent de la partie granulaire du nucléole. Ce fait a, cependant, été bien établi à partir d'études autoradiographiques dans les ovocytes de *Néréis pélagica* (DHAINAUT, 1970). Ces granulations résulteraient d'une association du constituant granulaire du nucléole et représenteraient le support morphologique d'un transfert d'ARN ribosomal en direction du cytoplasme (DHAINAUT, 1972). L'existence conjointe d'un nucléole de grande taille à partie granulaire développée et de nombreuses granulations nucléocytoplasmiques suggère donc que le métabolisme nucléaire des cellules mésentériques d'*Aeshna cyanea* est très actif dans les heures précédant l'exuviation.

S'il est vraisemblable que le métabolisme nucléaire accru est en relation avec la mue, il nous est par contre impossible de dire quelle est la nature du facteur responsable de cette activité.

#### CONCLUSION

Chez la larve d'*Aeshna cyanea* il n'y a pas formation d'un nouvel épithélium à chaque mue. Tout au plus quelques cellules peuvent-elles être rejetées dans la lumière, sans doute à la faveur de la distension du mésentéron au moment de l'exuviation.

Les cellules mésentériques montrent cependant au moment de la mue un métabolisme accru que la digestion du dernier repas pris avant l'ecdysis ne peut

expliquer dans sa totalité, en particulier en ce qui concerne le développement du composant granulaire du nucléole et l'abondance des granulations denses présentes au sein du nucléoplasme. Tout se passe donc comme s'il s'agissait d'une réponse nucléaire à une "stimulation" de nature sans doute hormonale.

## CONCLUSION DU CHAPITRE I

L'ultrastructure de la cellule mésentérique banale d' *Aeshna cyanea* diffère peu de celle décrite par de nombreux auteurs chez des Insectes divers. L'étude que nous en avons faite a été indispensable avant d'aborder les phénomènes de différenciation et de dégénérescence. Elle l'a été d'autant plus que l'ultrastructure de ces cellules est sujette à variations et que rares sont les auteurs qui, au-delà du point de vue statique de leurs études, se sont attachés à l'aspect dynamique des processus se déroulant au sein de ces cellules en particulier au cours de leurs fonctions physiologiques normales : la sécrétion enzymatique et l'absorption intestinale. Nous ne ferons que rappeler ici le rôle prédominant du réticulum endoplasmique et de son dérivé, les systèmes lamellaires, dans les processus de transport intracellulaire. Plus surprenantes sont les modifications ultrastructurales liées à la mue, (nucléole de grande taille, granulations nucléoplasmiques denses) liées semble-t-il à une stimulation hormonale au niveau nucléaire.

Si la structure et le mode de formation de la membrane pérित्रophique sont de type classique, il n'en demeure pas moins que, par la méthode autoradiographique, nous avons pu démontrer, quant au lieu de sa formation, l'existence d'un véritable gradient antéro-postérieur qui, jusqu'à présent, n'avait pas été mis en évidence chez les Odonates.

Parmi les résultats de nature cytologique, la démonstration de plusieurs types cellulaires, différents de ceux habituellement décrits, est un premier pas vers la compréhension de mécanismes physiologiques particuliers, autres que ceux normalement attribués à l'épithélium mésentérique. Notons à ce propos que, dans le cas des cellules à granules, la démonstration d'un processus d'exocytose vers le milieu intérieur est la preuve du caractère endocrine de certains de ces types cellulaires.

CHAPITRE II

PROLIFERATION DES CELLULES MESENTERIQUES

L'intestin moyen des Insectes est un organe favorable à l'étude des phénomènes de prolifération cellulaire. Depuis la fin du siècle dernier, il est en effet connu que les petites cellules, dites de régénération situées sous l'épithélium au contact de la lame basale sont seules susceptibles de subir des divisions qui se poursuivent durant toute la vie post-embryonnaire. Ainsi, NEEDHAM notait dès 1897 que chaque nid du mésentéron des Odonates est un véritable "centre germinatif".

Ces divisions localisées dans les nids de régénération permettent le renouvellement des cellules usées de l'épithélium ou pourvoient au remplacement total de cet épithélium, le rejet de celui-ci survenant, suivant les espèces (cf figure 6), à chaque mue ou seulement lors de la métamorphose.

Il semble donc que plusieurs facteurs puissent intervenir dans la régulation du nombre de mitoses. Ainsi, les divisions assurant le remplacement des cellules usées sont probablement déterminées par un facteur différent de celui responsable de la crise mitotique qui prélude à la réalisation d'un nouvel épithélium. Mais avant de nous intéresser au déterminisme des mitoses régénératrices, il est indispensable de connaître avec précision la cinétique des cellules de régénération en cours d'intermue, lors de la mue et enfin au moment de la métamorphose.

## I - PROLIFERATION CELLULAIRE AU COURS D'UN CYCLE DIGESTIF

### 1) Mise en évidence par comptage de mitoses

Le rôle de l'alimentation dans la prolifération cellulaire de l'épithélium mésentérique a été envisagé dans un travail antérieur (ANDRIES, 1970 b), qui est basé sur l'estimation de la valeur de l'index mitotique, celui-ci traduisant le rapport du nombre de cellules en méta- ou anaphase sur le nombre total de cellules de régénération. Des lots de cinq individus sacrifiés à intervalles réguliers (0, 6, 12, 18, 24 et 30 h.) après le repas ont permis d'obtenir les résultats suivants :

1 - L'index mitotique est plus élevé dans les heures suivant la prise de nourriture que chez les animaux à jeun. On note la présence de trois groupes de valeurs qui diffèrent significativement entre eux au risque de 5 % (figure 9).

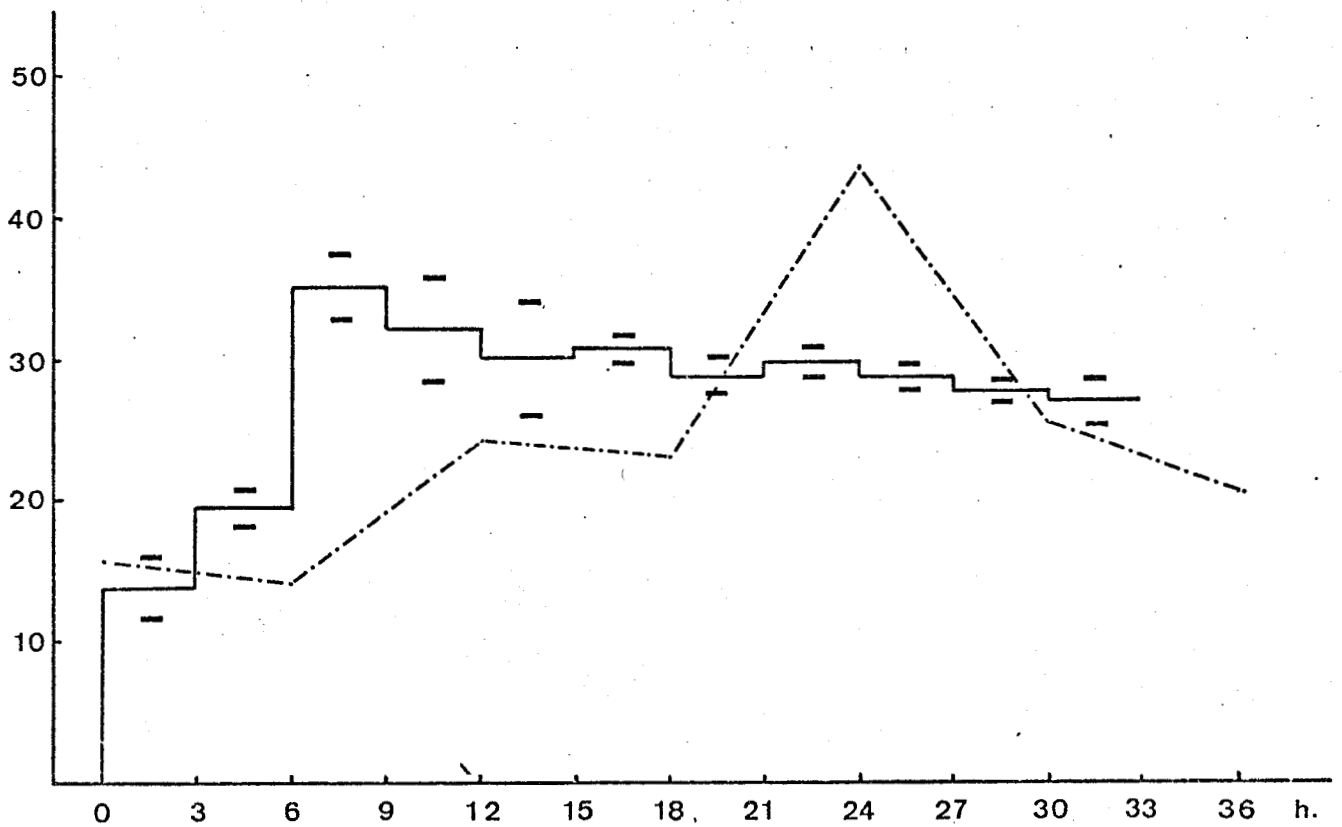


Figure 9 : Variations dans la région moyenne de l'intestin moyen en fonction du temps (en heures) de l'index mitotique ( $10^{-4}$ ) (en trait point) et du pourcentage de cellules marquées (en trait plein) après un temps d'incorporation de 3 heures. Les tirets indiquent les deux valeurs obtenues en fonction de l'espace de temps qui sépare le repas du moment où s'effectue l'injection de thymidine tritiée (0, 3, 6, 9... 30 h).

. le premier groupe concerne les animaux à jeun et ceux alimentés depuis 6 h. (index mitotique :  $15 \cdot 10^{-4}$ ).

. le second est formé par les animaux nourris depuis 12, 18 ou 30 h. (index mitotique de  $22$  à  $28 \cdot 10^{-4}$ ).

. le troisième correspond aux larves ayant ingéré leur repas 24 heures avant d'être sacrifiées (index mitotique :  $43 \cdot 10^{-4}$ ).

2 - Les valeurs de l'index mitotique sont constantes, à un moment donné après la prise de nourriture, tout au long de l'intestin moyen. Par contre, le nombre de mitoses et celui des cellules de régénération par coupe transversale est plus élevé dans le dernier quart que dans le quart antérieur et qu'au milieu du mésentéron (figure 10).



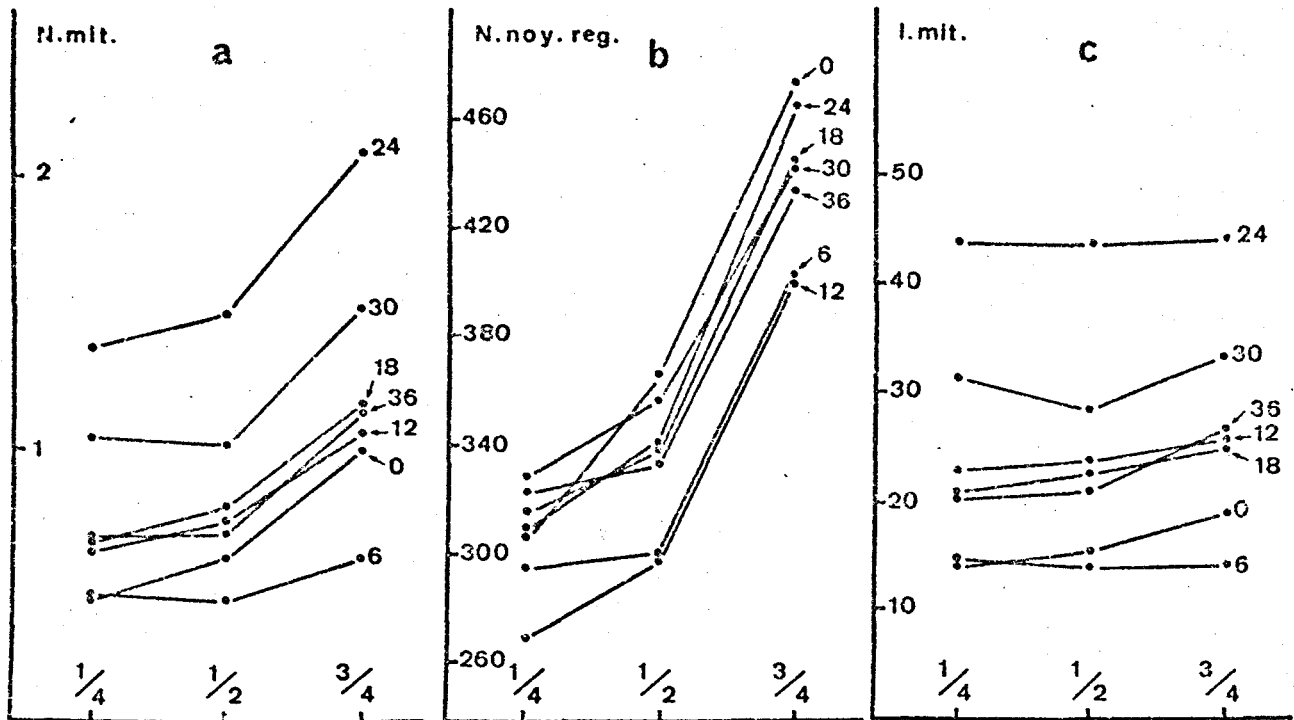


Figure 10 : Variations suivant les différentes régions de l'intestin moyen et en fonction du temps (en heures) : (a) du nombre de mitoses par coupe transversale ; (b) du nombre de cellules de régénération par coupe transversale ; (c) de l'index mitotique.

L'ingestion de nourriture provoque donc chez l'animal à jeun une augmentation du nombre des mitoses (et corrélativement de l'index mitotique) observable dès la 12e heure et maximale à la 24e.

Par ailleurs, DAY et POWNING (1949) ont démontré l'existence chez *Tenebrio molitor* et *Blatella germanica* d'une crise mitotique survenant à la suite de la prise de nourriture. Selon ces auteurs, une hormone ("midgut regeneration stimulating factor") véhiculée par le sang serait responsable d'une plus forte activité mitotique. Toutefois, leurs résultats diffèrent des nôtres en ce que l'augmentation du nombre des mitoses se manifeste très tôt après l'ingestion de la nourriture (dès la 30e minute). Par contre, pour RAFIQ KHAN et FORD (1962) le nombre de cellules en division dans les nids de régénération de *Dysdercus fasciatus* semble indépendant de la prise de nourriture.

## 2) Mise en évidence par comptage de cellules marquées

L'absence d'autres données et les divergences existant entre nos résultats et ceux des auteurs cités nous ont amené à vérifier nos propres résultats en utilisant cette fois un précurseur radioactif de l'ADN : la thymidine 3H.

Le protocole expérimental est sensiblement le même que précédemment : des larves de l'avant-dernier stade, soumises au jeûne pendant 4 jours, sont nourries à satiété, puis injectées de 10  $\mu$  Ci de thymidine 3H. L'injection a lieu, suivant les animaux, au moment du repas ou après 3 heures, puis de 3 en 3 heures jusqu'à la 30e heure. Enfin les animaux sont sacrifiés 3 heures après l'injection. Toutefois, d'autres larves placées dans les mêmes conditions n'ont été sacrifiées que 6 à 24 heures après l'injection.

Les résultats consignés dans la figure 9 indiquent que le pourcentage des cellules marquées :

- est faible chez les animaux à jeun et chez ceux nourris depuis 3 heures (14 à 19 %).
- est élevé chez les larves ayant ingéré leur repas depuis au moins 6 heures (35 %).
- décroît légèrement de la 6e à la 30e heure suivant le repas (35 à 28 %).

Le nombre de cellules synthétisant leur ADN augmente donc nettement à la suite de la prise de nourriture. Il atteint son maximum entre la 6e et la 9e heure.

Ces résultats qui concordent avec ceux du comptage de mitoses s'expliquent par le fait que l'entrée de la nourriture dans la lumière intestinale provoque une augmentation des synthèses d'ADN, et, corrélativement, du nombre des mitoses parmi les cellules de régénération.

Par contre, au regard du nombre élevé de cellules synthétisant leur ADN, nombre qui ne décroît que très légèrement (de 35 à 28 %) entre la 6e et la 30e heure, la valeur de l'index mitotique des témoins culmine nettement 24 heures après la prise de nourriture. Ce pic d'activité mitotique se détache de l'ensemble des autres valeurs et en particulier de celles obtenues 18 et 30 heures après l'ingestion du repas.

Pour tenter d'expliquer la divergence entre l'existence d'un pic de l'index mitotique et celle d'un plateau caractérisant les cellules marquées nous avons calculé cette fois l'index mitotique d'animaux injectés de thymidine tritiée. Les larves sont sacrifiées 24 heures après la prise de nourriture, la durée d'incorporation de la thymidine 3H étant de 6, 9, 12, 15, 18, 21 ou 24 heures. Bien que nous n'ayons pas fait de calcul statistique, nous pouvons affirmer (figure 11) que la valeur de l'index mitotique est nettement plus élevée (plus de 2, parfois

3 ou 4 fois) chez les animaux sacrifiés 12 heures et davantage après l'injection de thymidine 3H que chez ceux ayant subi une même administration de produits marqués moins de 12 heures avant leur sacrifice.

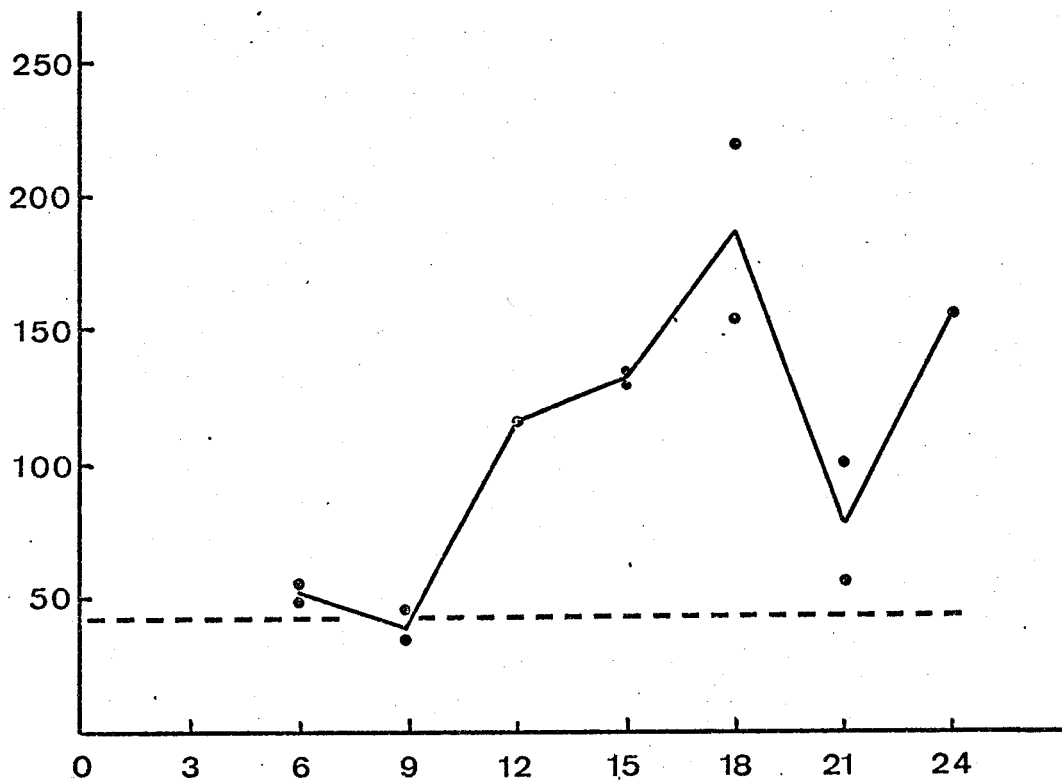


Figure 11 : Larves sacrifiées 24 heures après la prise de nourriture. Valeurs de l'index mitotique ( $10^{-4}$ ) en fonction de la durée d'incorporation. Le tireté indique la valeur des larves témoins sacrifiées 24 heures après leur dernier repas.

Il en résulte que :

1 - la thymidine exogène et radioactive semble favoriser les synthèses d'ADN puisque, par rapport à la normale, l'index mitotique est 2 à 3 fois plus élevé si l'incorporation a précédé d'au moins 12 heures le sacrifice.

Tout semble se passer comme si la thymidine 3H favorisait le passage des cellules de régénération de la phase  $G_1$  à la phase S, ce qui expliquerait le pourcentage encore élevé de cellules marquées après le maximum enregistré de la 6 à 9e heure (voir graphique figure 9).

2 - l'augmentation importante de la valeur de l'index mitotique entre 12 et 24 heures après l'injection (animaux injectés 0, 3, 6, 9 ou 12 heures après le repas et sacrifiés à la 24e heure) tendrait à prouver que la durée des phases S et  $G_2$  serait de l'ordre d'une douzaine d'heures.

Ceci permettrait d'expliquer que le maximum de cellules synthétisant leur ADN le font entre la 6e et la 9e heure et que le pic mitotique se situe 24 heures après la prise de nourriture. Ce pic pourrait d'ailleurs être plus étalé dans le temps puisque les valeurs de l'index mitotique n'ont été relevées que de 6 en 6 heures.

Les valeurs de la durée des phases S + G<sub>2</sub> déterminées indirectement paraissent vraisemblables. En effet à titre d'exemple, les durées de la phase S dans l'intestin de la souris et de l'homme varient suivant les portions étudiées entre 7,5 et 8,5 heures et entre 13 et 20 heures, respectivement (références dans COOPER et coll., 1974).

### CONCLUSION

Que ce soit par la méthode autoradiographique ou par comptage de mitoses, nous avons démontré une corrélation positive entre la prise de nourriture et la division des cellules de régénération. Néanmoins, le déterminisme de ces crises mitotiques reste inexpliqué. Plusieurs hypothèses peuvent être envisagées à cet égard. Nous pouvons penser au :

- rôle d'un facteur hormonal (cf DAY et POWNING, 1949).
- rôle de certains métabolites contenus dans la nourriture.
- rôle d'éventuels chalone : la pénétration de la nourriture dans l'intestin permet le rejet d'un certain nombre de cellules usées, mais encore faut-il démontrer que les cellules fonctionnelles secrètent des facteurs antimitotiques comme c'est le cas chez les Batraciens (BRUGAL, 1973 ; BRUGAL et PELMONT, 1974) et chez les Mammifères (GALJAARD et coll., 1973 ; RIJKE et coll., 1975).
- rôle de la dilatation de l'intestin (voir point suivant : déterminisme de la crise mitotique observée lors de la mue).

## II - PROLIFERATION CELLULAIRE AU COURS DE LA MUE

Chez *Aeshna cyanea* le rejet global de l'épithélium ne s'opère que pendant la métamorphose. Toutefois, lors de chaque mue la longueur de l'intestin moyen augmente alors que le corps de la larve s'allonge. Bien que nous n'ayons pas calculé le nombre total de cellules épithéliales et de cellules de régénération de l'intestin moyen au cours des stades larvaires successifs (10, 11 ou 12 au total

suivant le type de développement, SCHALLER, 1960), il est probable que leur nombre s'accroît d'un stade à un autre.

Pour vérifier cette hypothèse, il s'agissait d'étudier l'intestin moyen pendant la période d'allongement de la larve, c'est-à-dire peu avant et peu après l'exuviation. A cet effet, 43 animaux ont été sacrifiés dans les 6 premiers jours de l'intermue du dernier stade (avant que ne commence la crise mitotique responsable de la genèse du tissu réticulé et de l'épithélium imaginal), dont 27 dans les 24 heures qui ont suivi l'exuviation. Par ailleurs, 4 animaux de l'avant-dernier stade proches de l'ecdysis ont été étudiés.

Les comptages mitotiques ont été effectués sur 50 coupes sériées situées dans la partie médiane de l'intestin moyen de chaque animal ; le nombre de cellules par coupe a été calculé à partir de comptages effectués sur 5 coupes prises au hasard parmi les 50 étudiées.

1) Activité des nids de régénération

Les valeurs élevées de l'index mitotique, quoique très variables d'un animal à l'autre, concernent toujours des animaux sacrifiés entre la 6e et la 24e heure de l'intermue. Ceci nous a amené à envisager l'existence de 3 périodes :

- la première couvrant les 3 premières heures de l'intermue
- la seconde s'étendant de la 6e à la 24e heure
- la dernière se situant après le 1<sup>er</sup> jour

La comparaison des moyennes de l'index mitotique de chacun de ces trois groupes est reportée dans le tableau ci-dessous :

	Nombre d'animaux	Index mitotique ( $10^{-4}$ )	Différence entre les moyennes	$t_{005} \times S_d$
Groupe I : 0 - 3 h. :	6	17	14,9	16,4
Groupe II : 6 - 24 h. :	21	31,9		
Groupe III : jour 1-6 :	16	19	12,9	10,3

La lecture de ce tableau permet de constater qu'il existe une différence significative au risque de 5 % entre les groupes II et III. Entre les groupes I et II la différence n'est pas significative au seuil de 95 %, toutefois il n'existe que 6 chances sur 100 pour qu'un tel écart de moyenne puisse être dû à l'influence des seules fluctuations fortuites.

Il faut préciser, par ailleurs, que les valeurs de l'index mitotique restent faibles chez les animaux sacrifiés juste avant l'exuviation.

## 2) Nombre de cellules par nid de régénération

Le nombre moyen de cellules par nid de régénération est de 5,4 pendant les 3 premières heures de l'intermue, de 6,2 entre la 6e et la 24e heure et de 5 à partir du 1<sup>er</sup> jour. Les calculs statistiques permettent de calculer qu'il existe une différence significative au risque de 5 % entre les groupes II et III. Par contre il n'existe que 77 % de chances pour que l'écart observé entre les moyennes des groupes I et II ne soit pas dû aux seules fluctuations fortuites.

De l'ensemble de ces données, nous pouvons conclure à l'existence d'une crise mitotique très limitée dans le temps allant de la 6e à la 24e heure suivant l'exuviation et ayant pour conséquence une augmentation du nombre des cellules de régénération. Par la suite celui-ci diminue, ce que l'on peut attribuer au fait qu'un certain nombre de ces cellules se différencie pour devenir fonctionnelles.

## DISCUSSION

Deux types de facteurs peuvent être tenus pour responsables de la crise mitotique, soit un effet mécanique, soit une composante hormonale.

Seul le premier effet résultant de la distension intestinale sera envisagé ici, alors que l'action d'hormones, notamment de l'ecdysone, sera traitée dans la dernière partie.

Peu avant l'exuviation, les segments abdominaux de la larve d'*Aeshna cyanea* sont distendus et le corps s'allonge fortement. Ce phénomène s'intensifie après le rejet de l'exuvie, ainsi que nous l'avons déjà vu.

L'étude de l'intestin moyen prouve qu'il est très dilaté durant les 3 premières heures suivant l'exuviation (figure 7) ; le diamètre normal étant retrouvé, suivant les animaux, de la 9e à la 18e heure après l'exuviation.

Par ailleurs, le rejet de quelques cellules, en nombre toujours très faible, peut être observé au cours de la mue.

Selon WIGGLESWORTH (1940, 1963 a), les mitoses observées dans l'épiderme de *Rhodnius prolixus* au moment de la mue, sont dues à une "séparation" des cellules voisines ce qui a pour conséquence une diminution du nombre de noyaux par unité de surface, avec une valeur qui tombe sous un seuil minimum.

Lors de l'exuviation les membranes plasmiques des cellules mésentériques adjacentes sont plus éloignées qu'elles ne le sont normalement, du moins dans la région basale. Ceci est également vrai pour les cellules de régénération dont les espaces intercellulaires apparaissent dilatés. Cette diminution de surface de

contact entre cellules pourrait selon CONE (1970) et CONE et TONGIER (1973) stimuler leur activité mitotique.

Il faut ajouter que le rôle d'éventuels chalones (dont l'existence est encore à démontrer) semble improbable, puisque peu de cellules sont rejetées dans la lumière intestinale à la faveur de la mue.

### III - PROLIFERATION CELLULAIRE AU COURS DE LA METAMORPHOSE

La formation du tissu réticulé et de l'épithélium imaginal suppose une activité intense des nids de régénération au cours du dernier stade larvaire.

#### 1) Mise en évidence par comptage de mitoses

La crise mitotique à l'origine du tissu réticulé et de l'épithélium imaginal a fait l'objet d'une étude antérieure (ANDRIES, 1970a) dont nous rappelons ici les principaux points. 38 animaux ont été sacrifiés à intervalles réguliers au cours du dernier stade entre le 1<sup>e</sup> et le 24<sup>e</sup> jour. Le nombre de mitoses a été calculé à partir de 100 coupes sériées, et le nombre de cellules de régénération par coupe à partir de 5 d'entre elles.

Les comptages (figure 12) ont montré que :

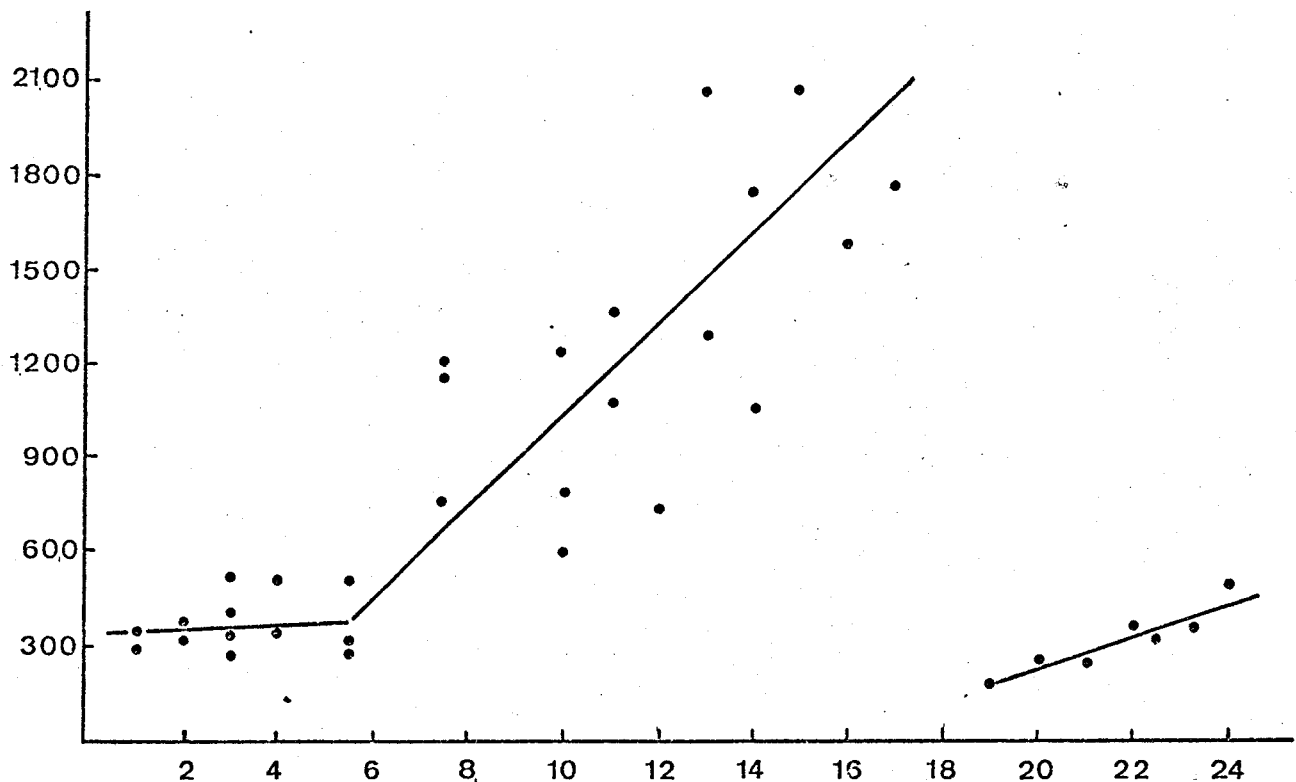


Figure 12 : Variations du nombre de cellules de régénération par coupe transversale au cours du dernier stade larvaire (en jours).

- Durant les 6 premiers jours de l'intermue l'index mitotique est variable (de 11 à  $32 \cdot 10^{-4}$ ) et le nombre de cellules de régénération par coupe transversale faible (300 à 500).

- Du 7e au 17e jour (moment de la genèse de l'épithélium imaginal) l'index mitotique est élevé et pratiquement constant (de 32 à  $36 \cdot 10^{-4}$ ), le nombre de cellules de régénération augmente fortement puisqu'il y a formation du tissu réticulé ( $\approx 1000$  cellules par coupe transversale) et de l'épithélium imaginal (près de 2000 cellules par coupe transversale).

- Du 18e au 24e jour (moment de l'émergence) l'index mitotique est élevé (31 à  $50 \cdot 10^{-4}$ ), le nombre de cellules de régénération, quoique faible, est en augmentation (de 200 à 500).

## 2) Mise en évidence par injection de thymidine 3H

On peut se demander si la totalité des cellules qui se divisent avant le 7e jour sont destinées à remplacer les cellules larvaires usées, tandis que d'autres restent en attente dans les nids de régénération. Autrement dit, existe-t-il, dès le début de l'intermue une ségrégation parmi les cellules d'un même nid.

Pour tenter de répondre à cette question des animaux ont été injectés d'une dose unique de thymidine 3H (10  $\mu$ Ci) à différents moments qui suivent la dernière ecdysis larvaire et sacrifiés en fin d'intermue après la genèse du tissu réticulé et de l'épithélium imaginal.

Les résultats nous renseignent sur le pourcentage de cellules marquées dans les divers épithéliums, ainsi que sur l'intensité du marquage, en fonction du moment de l'injection.

### a) Pourcentage de cellules marquées (Pl. 13, fig. e à i)

#### . au sein de l'épithélium larvaire (figure 13)

Il est voisin de 100 % si l'injection est réalisée en tout début d'intermue, il diminue par la suite et s'annule à la mi-intermue.

#### . au sein du tissu réticulé et de l'épithélium imaginal

Si l'injection est très précoce, étant donné l'intensité très faible du marquage, le pourcentage de cellules marquées est difficile à établir, il est toutefois toujours supérieur à 50 %.

Par contre, plus de 90 % de cellules sont marquées si l'injection a lieu après le premier tiers de l'intermue. Les cellules non marquées forment les nids de régénération de l'épithélium imaginal.



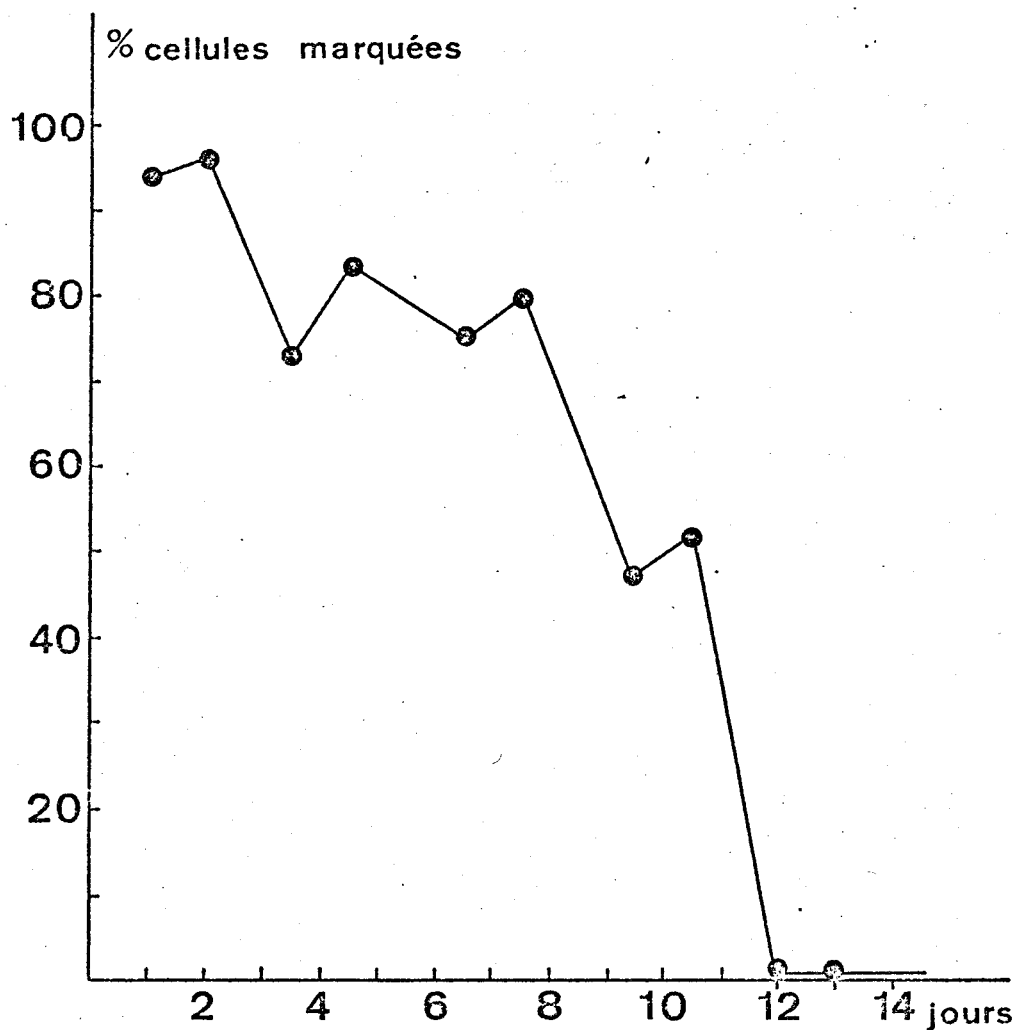


Figure 13 : Pourcentage de cellules marquées au sein de l'épithélium larvaire en fonction du moment de l'injection de thymidine 3H (en jours) au cours du dernier stade larvaire.

b) Intensité du marquage (Pl. 13, fig. e à i)

Elle dépend du moment de l'injection (figure 14). Très faible pour les noyaux des cellules du tissu réticulé et de l'épithélium imaginal lorsque l'injection a lieu en tout début d'intermue, elle devient nette dès le jour 3 et augmente régulièrement jusqu'à la mi-intermue. Les cellules de régénération se différencient tout au long de l'intermue, mais le type de différenciation s'opère d'après une chronologie strictement établie. En effet, selon le moment de l'injection, on note une prédominance de cellules marquées dans l'épithélium larvaire (injection dans la première moitié de l'intermue), dans le tissu réticulé (thymidine injectée à partir de la mi-intermue) dans l'épithélium imaginal (précurseur fourni à partir du dernier tiers de l'intermue).

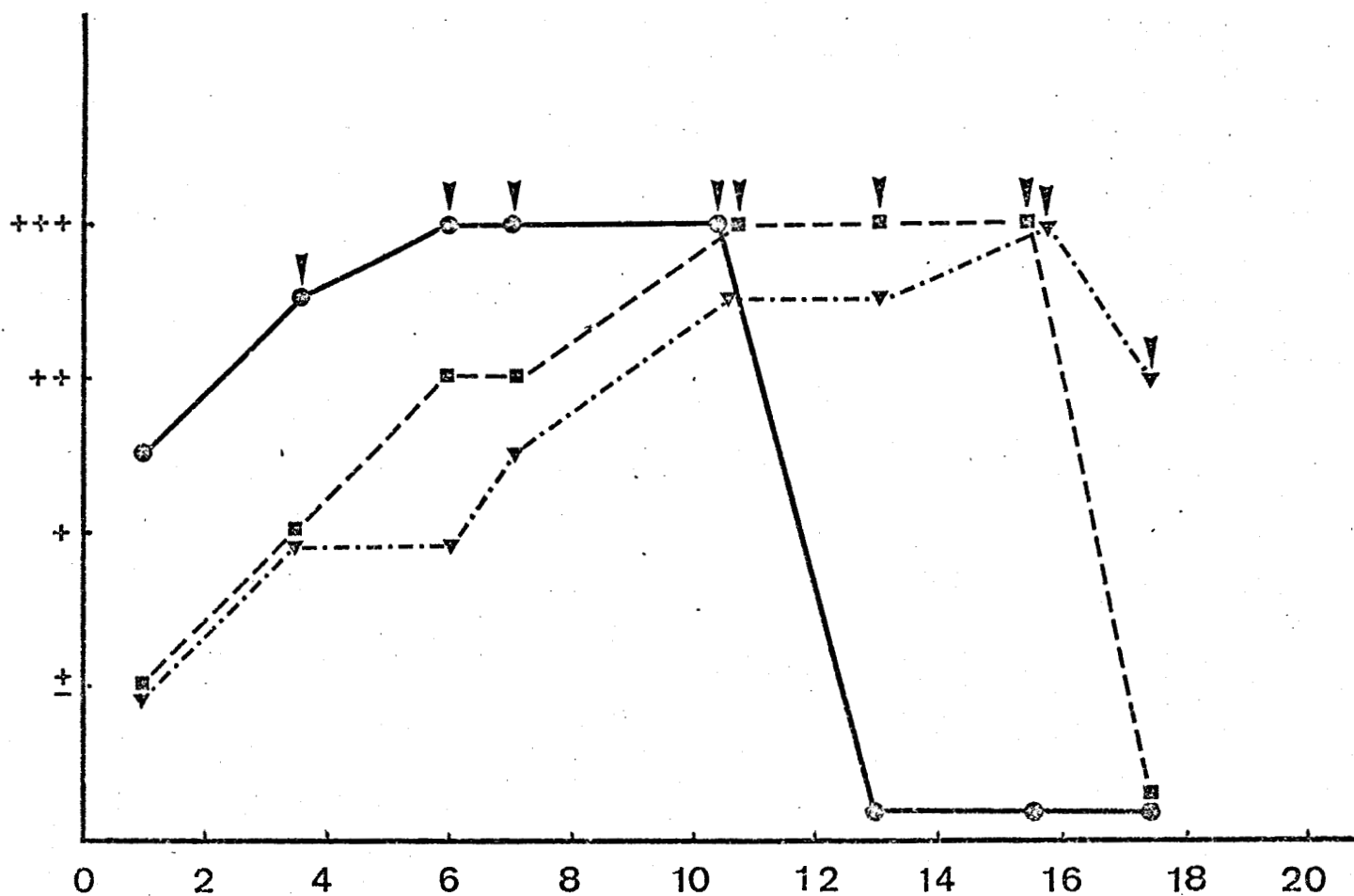


Figure 14 : Intensité du marquage des cellules de l'épithélium larvaire (points), du tissu réticulé (carrés) et de l'épithélium imaginal (triangles) en fonction du moment de l'injection de thymidine 3H (en jours) au cours du dernier stade larvaire. Les pointes de flèches indiquent que des cellules des trois types d'épithéliums se sont différenciées sans se diviser davantage.

### CONCLUSIONS

Notre étude de la prolifération des nids de régénération au cours du dernier stade larvaire a permis d'établir les points suivants :

1 - Une injection précoce de thymidine 3H (réalisée dans le premier tiers de l'intermue) a provoqué un marquage de la presque totalité des cellules de l'épithélium larvaire, du tissu réticulé et de l'épithélium imaginal. Il est donc vraisemblable que toutes les cellules de régénération ont les mêmes potentialités et que leur descendance peut indifféremment enrichir l'épithélium larvaire ou participer à la genèse soit de l'épithélium imaginal, soit du tissu réticulé.

2 - L'arrêt de la restauration de l'épithélium larvaire à partir du 12e jour de la dernière intermue a pour effet, à index mitotique constant, d'augmenter le nombre de cellules des nids de régénération.

3 - Les cellules destinées à restaurer l'épithélium larvaire, de même que celles qui sont à l'origine du tissu réticulé et de l'épithélium imaginal se divisent un grand nombre de fois au cours du dernier stade avec toutefois une intensité variable en fonction de leur différenciation ultérieure. Les cellules à l'origine de l'épithélium imaginal qui se différencient le plus tardivement (17e jour de l'intermue) se divisent plus fortement que celles du tissu réticulé dont la différenciation survient au 14e jour et que celles destinées, dans la première moitié de l'intermue, à remplacer les cellules larvaires usées.

4 - Le marquage de la quasi-totalité des cellules des trois épithéliums suppose qu'une injection de thymidine 3H détermine une majorité des cellules souches à effectuer leur synthèse d'ADN simultanément. Comme la durée de vie de la thymidine exogène ne dépasse pas 6 h., du moins chez les Lépidoptères (SELMAN et KAFATOS, 1974) il semblerait donc que l'injection de thymidine exogène favorise les synthèses d'ADN en raccourcissant la phase  $G_1$ .

## CONCLUSION DU CHAPITRE II

De l'ensemble de nos résultats basés sur des comptages cellulaires et sur l'incorporation de précurseurs marqués, nous pouvons conclure :

- 1 - que des cellules de régénération plus ou moins nombreuses se divisent tout au long des intermues larvaires (et même chez l'imago).
- 2 - que le nombre de cellules en division augmente :
  - à la faveur de la prise de nourriture
  - dans les heures qui suivent l'exuviation
  - au cours de la métamorphose

Il paraît évident que le déterminisme, comme l'ampleur de ces crises mitotiques sont différents. Bien que les facteurs impliqués soient encore purement hypothétiques, il paraît vraisemblable que la distension de l'intestin moyen survenant autant au cours de la mue qu'après l'ingestion d'un repas soit responsable de l'augmentation du nombre des mitoses. Par contre, l'index mitotique élevé et le nombre croissant de cellules de régénération observé au cours de la métamorphose, préalable à la genèse du tissu réticulé et de l'épithélium imaginal, semblent dépendre du taux d'ecdysone circulante (cf chapitre V).

CHAPITRE III

DIFFERENCIATION DES CELLULES MESENERIQUES

La différenciation des cellules mésentériques est un phénomène continu qui peut être étudié au cours de chaque intermue, puisque des cellules originaires des nids de régénération alimentent régulièrement l'épithélium intestinal, afin de pourvoir au remplacement des cellules usées.

Ce processus se déroule également au dernier stade larvaire où, par ailleurs, l'on assiste au renouvellement en bloc de l'épithélium au cours de la métamorphose avec formation d'abord d'un tissu transitoire, le tissu réticulé, destiné à être rejeté en même temps que l'épithélium larvaire, et enfin de l'épithélium imaginal (figure 1). Vu le nombre considérable de cellules mésentériques qui se différencient au dernier stade lors de la genèse de l'épithélium intestinal, la période de la métamorphose mésentérique se prête particulièrement bien à l'étude de la différenciation cellulaire. C'est pourquoi la très grande majorité des données que nous rapportons dans ce chapitre ont été obtenues lors de la genèse de l'épithélium imaginal. Une telle étude nous semblait d'autant plus intéressante qu'il n'en existe, à notre connaissance, aucune traitant d'une manière détaillée l'évolution des cellules mésentériques lors de la métamorphose mésentérique, si l'on excepte quelques données fragmentaires (MISCH, 1963, 1965 ; JEANTET, 1971 ; RADFORD et MISCH, 1971 ; De PRIESTER, 1972) relatives aussi bien à la différenciation qu'à la dégénérescence des épithéliums mésentériques d'Insectes holométaboles.

## I - EVOLUTION NUCLEAIRE

L'évolution nucléaire qui a été étudiée en même temps que la genèse des organites cytoplasmiques dans le cadre d'un travail concernant à la fois la différenciation et la mort cellulaires (ANDRIES, 1975 a) comporte les étapes suivantes qui vont de pair avec celles de la différenciation cellulaire.

### 1) Début de la différenciation cellulaire

Le noyau, plus ou moins sphérique, de 5 à 7  $\mu$  de diamètre occupe la majeure partie du volume cellulaire ; la chromatine est éparse dans le nucléoplasme et le nucléole de grande taille (Pl. 17, fig. a).

La présence de matériel de même densité de part et d'autre des pores nucléaires (Pl. 17, fig. c et d) suggère un transfert de matériel nucléaire vers le cytoplasme où il ne s'observe que temporairement sous une forme incurvée (Pl. 17, fig. d et g). Des granules denses de 400 Å de diamètre (Pl. 17, fig. b) présents dans le nucléoplasme pourraient en être l'origine.

## 2) Différenciation cellulaire en cours

Pendant la période de différenciation cellulaire des bourgeons renfermant des mottes chromatiniennes se forment à l'apex des noyaux (Pl. 17, fig. e). Après leur séparation, ils forment des vacuoles de grande taille et à matériel flocculeux (Pl. 17, fig. f), qui vraisemblablement se désintègrent par la suite dans le cytoplasme.

L'enveloppe du bourgeon, comme celle du noyau lui-même a la propriété de porter, sur sa membrane externe, des ribosomes ou celle d'émettre de petites vésicules à l'origine des dictyosomes.

## 3) Différenciation cellulaire achevée

Les noyaux désormais allongés selon le grand axe de la cellule, sont situés sensiblement à mi-hauteur de celle-ci. Les mottes hétérochromatiniennes sont plus fréquentes et le nucléole de grande taille apparaît légèrement plus condensé.

### DISCUSSION - CONCLUSION

D'après nos observations il existe donc lors de la différenciation des cellules de régénération en épithélium imaginal, deux types de transfert de matériel nucléaire vers le cytoplasme que nous essaierons d'interpréter dans le cadre des échanges nucléocytoplasmiques.

#### 1) Migration de matériel à travers les pores nucléaires

De façon générale, on admet que le matériel traversant les pores nucléaires est de nature ribonucléoprotéique (BEERMAN, 1963 ; STEVENS et SWIFT, 1966 ; STEVENS, 1967 ; FRANK et SCHEER, 1970). Aussi, bien que nous ne l'ayons pas démontré, pouvons-nous présumer la nature ribonucléoprotéique de ces granules, supposition compatible avec l'état physiologique de la cellule qui est celui d'une cellule en début de différenciation. Il est évident que de tels transferts sont en relation avec la différenciation au niveau cytoplasmique.

#### 2) Bourgeonnement nucléaire

Les bourgeons nucléaires décrits par de nombreux auteurs (voir références dans WISCHNITZER, 1973) sont généralement de taille réduite et diffèrent en cela de ceux que nous observons. Le rôle attribué à ces bourgeons diffère suivant les types

cellulaires et les espèces étudiées. Parmi les rôles les plus plausibles citons la formation des lamelles annelées (KESSEL, 1963, 1968) et le transfert de ribosomes (KESSEL, 1966 ; WESTON, 1968).

La question qui se pose est de savoir si les bourgeons que nous décrivons correspondent à des échanges nucléocytoplasmiques *sensu stricto*. Il nous semble que ces bourgeons représentent plutôt une "épuration" nucléaire qu'un transfert de matériel. Il faut garder présent à l'esprit qu'il s'agit de cellules en voie de différenciation provenant de cellules embryonnaires qui se sont multipliées activement et qui ont perdu désormais toute capacité de se diviser, tout en conservant intact leur pouvoir de synthèse de ribonucléoprotéines. Il s'agit donc d'un changement d'orientation dans le métabolisme de la cellule qui pourrait précisément se traduire par ce bourgeonnement.

Nos conclusions rejoindraient celles de SCHARRER et WURZELMANN (1969) qui suggèrent qu'à la fin de l'ovogenèse le rejet de matériel nucléolaire (ou nucléaire) surviendrait dès que son rôle fonctionnel est terminé.

## II - EVOLUTION DES ORGANITES CYTOPLASMIQUES

Les cellules de régénération qui sont à l'origine de l'épithélium imaginal possèdent, avant leur différenciation, des caractères de cellules embryonnaires tels que nous les avons définis précédemment (chapitre I, paragraphe II).

Au cours de leur différenciation, les petites cellules sphériques des nids de régénération (6-8  $\mu$  de diamètre) s'allongent considérablement, en même temps que diminue le rapport nucléocytoplasmique et qu'augmente de façon notable le nombre des différents organites cytoplasmiques. L'examen de telles cellules en voie de différenciation permet, de ce fait, d'observer les modalités de la genèse des organites, ce qui fera l'objet de ce paragraphe.

### 1) Mitochondries

Les figures de division mitochondriale sont relativement fréquentes dans les cellules en début de différenciation. On peut en effet y observer :

1 - des mitochondries dont une crête élargie, faisant septum, délimite deux compartiments (Pl. 18, fig. a).

2 - des mitochondries de taille sensiblement identique, alignées bout à bout et possédant une membrane interne propre, alors que l'externe est commune aux deux (Pl. 18, fig. b).

3 - des mitochondries dont un mince pont relie encore les membranes externes (Pl. 18, fig. c).

En raison de l'augmentation très importante du nombre des mitochondries au cours de la différenciation des cellules mésentériques et d'après nos observations, nous pouvons affirmer qu'il s'agit ici non pas d'images de fusion de mitochondries, mais bien d'un phénomène de scissiparité de ces organites. Celle-ci s'effectue, après la formation d'un septum divisant la mitochondrie "mère", par un processus d'invagination de la membrane mitochondriale externe commune aux mitochondries "filles" à l'intérieur même du septum.

#### 2) Dictyosomes

Au cours de la différenciation épithéliale, on observe au voisinage du noyau, des dictyosomes en cours de formation (Pl. 18, fig. d et e), constitués uniquement de quelques petites vésicules et de quelques rares saccules clairs. Dans chacun des cas, de petites vésicules se détachent du réticulum endoplasmique granulaire ou de la membrane nucléaire externe et il est très vraisemblable que leur fusion détermine la formation des saccules golgiens, comme cela a été décrit dans de nombreux autres types cellulaires (MORRE et coll., 1971 ; KESSEL, 1971 ; DUBOIS, 1972).

#### 3) Réticulum endoplasmique

Les cellules mésentériques différenciées renferment de nombreux saccules ergastoplasmiques disséminés dans tout le hyaloplasme, quoique plus fréquents dans la région nucléaire.

Le passage de l'état embryonnaire au stade différencié est marqué dans les cellules mésentériques d'*Aeshna cyanea*, comme c'est le cas général, par la diminution du nombre de ribosomes libres et le développement corrélatif de l'ergastoplasme.

#### 4) Microtubules

De nombreux microtubules sont observables dans la région nucléaire des cellules différenciées, alors qu'ils étaient nettement moins fréquents dans les cellules embryonnaires. Ces microtubules, disposés parallèlement les uns aux autres, s'alignent selon le grand axe de la cellule.

TILNEY (1971) a démontré que l'une des fonctions principales des microtubules est d'assurer et de maintenir la forme cellulaire. Selon FULLILOVE et JACOBSON (1971) les microtubules pourraient également former une trame rigide qui obligerait le noyau à s'allonger. Bien que de tels rôles aient été niés par certains



(FAWCETT et coll., 1971), il n'en demeure pas moins qu'ils sont tout à fait plausibles, particulièrement dans notre matériel où les cellules et les noyaux, de forme plus ou moins sphérique, deviennent allongés dans les cellules différenciées.

### III - FORMATION DE JONCTIONS ET CONTACTS INTERCELLULAIRES

#### 1) Entre les futures cellules imaginales

En début de différenciation, les futures cellules imaginales, encore groupées en nids de régénération et réunies par de petits desmosomes (en nombre très limité), ne présentent jamais de *zonula continua*. Par contre, l'espace intercellulaire assez irrégulier renferme du matériel opaque aux électrons, abondant surtout au niveau de dilatations de l'espace intercellulaire (Pl. 20, fig. a) et au point de bifurcation de plusieurs cellules.

Il est vraisemblable que ce matériel dérive de celui de petites vésicules (de diamètre à peine supérieur à  $0,05 \mu$ ) originaires des dictyosomes et dont la membrane limitante semble de même épaisseur que la membrane plasmique.

S'il semble vraisemblable que ces vésicules sont à l'origine du matériel dense de la *zonula continua*, il ne nous a cependant pas été possible de suivre les étapes successives du processus menant à l'agencement régulier de celle-ci, depuis l'existence d'un espace intercellulaire irrégulier jusqu'au parallélisme strict des membranes plasmiques. Peut-être faut-il attribuer un rôle particulier dans ce phénomène au réseau microfibrillaire (Pl. 20, fig. b) qui entoure fréquemment les membranes latérales des cellules en voie de différenciation. GILULA et coll. (1976) notent également la présence de faisceaux de filaments courant parallèlement aux jonctions des cellules de Sertoli de testicule de rat sans qu'ils puissent donner à ces formations une signification précise.

#### 2) Entre les cellules du tissu réticulé et celles de l'épithélium imaginal

Au niveau du tissu réticulé, où il n'y a jamais formation de *zonula continua*, seuls de petits desmosomes maintiennent les cellules entre elles. Ceux-ci relient également les cellules du tissu réticulé à celles de l'épithélium imaginal (Pl. 18, fig. f). Toutefois, en plus de ce mode de liaison, les cellules du tissu réticulé s'invaginent à l'intérieur des cellules de l'épithélium imaginal (Pl. 19, fig. a), en même temps qu'apparaissent les microvillosités (chapitre III, paragraphe V). Une fois que les microvillosités et les coiffes de matériel dense qui les recouvrent sont constituées, ces invaginations deviennent plus nombreuses. Un tel mode d'ancrage consiste en un pseudopode tubulaire de  $0,1 \mu$  de diamètre sur  $1 \mu$  de long

environ dont l'axe renferme des structures de nature filamentaire (Pl. 19, fig. b et c) et dont l'extrémité distale se renfle en une formation sphérique donnant à l'ensemble l'aspect d'un clou à tête ronde. De tels renflements s'observent aussi sur le parcours du pseudopode et, dans certains cas, garnissent les extrémités d'un pseudopode digité (Pl. 19, fig. c). Enfin, dans les cellules imaginaires, des plaques de matériel dense peuvent être observées au contact de la membrane plasmique faisant face au pseudopode issu du tissu réticulé (Pl. 19, fig. c). Ces mêmes caractères se retrouvent sur les coupes diamétrales (Pl. 19, fig. d) de ces renflements qui montrent deux membranes plasmiques emboîtées l'une dans l'autre, appartenant respectivement à une cellule imaginaire et à une cellule de tissu réticulé et séparées par un espace annulaire de 200 à 300 Å de large peu dense aux électrons.

La particularité principale des invaginations cytoplasmiques du tissu réticulé à l'intérieur des cellules imaginaires est celle de renfermer des systèmes fibrillaires. A notre connaissance il existe peu d'exemples de tels agencements entre cellules. Ceux qui s'en rapprochent le plus se retrouvent dans les relations existant entre les cellules folliculaires et les ovocytes, particulièrement chez les Vertébrés. (revue par NØRREVANG, 1968). Chez les Insectes, FAVARD-SERENO (1964) a démontré que les processus folliculaires s'enfoncent à l'intérieur du cortex ovocytaire de *Gryllus campestris* en s'y dichotomisant à la manière de racines, augmentant ainsi la surface de contact entre la membrane ovocytaire et les cellules folliculaires.

Si un échange et un transfert de métabolites existe au niveau des ovocytes une telle relation entre le tissu réticulé et l'épithélium imaginal paraît tout à fait invraisemblable ; par contre, la présence de nombreux filaments dans les processus que nous avons décrits suggèrent que ceux-ci renforcent l'ancrage des cellules du tissu réticulé dans les cellules de l'épithélium imaginal. Il faut noter cependant que les microfilaments sont toujours nombreux dans les processus folliculaires, que ce soit au niveau des ovocytes d'Oiseaux (PAULSON et ROSENBERG, 1972) ou de Mammifères (NORBERG, 1972).

En conclusion, nous noterons que la formation de la coiffe entourant les microvillosités a pour conséquence de réduire les contacts cellulaires entre le tissu réticulé et l'épithélium imaginal. Il n'est donc pas surprenant que se manifestent de nouveaux processus d'ancrage dont l'efficacité paraît évidente et qui ont pour rôle de maintenir une certaine cohésion de la paroi intestinale en profond remaniement durant la métamorphose.

#### IV - ACCROISSEMENT DE LA LAME BASALE

Au moment de la métamorphose se forme entre la membrane plasmique des cellules épithéliales et le treillis formé par la lame basale, un dépôt dense et finement fibrillaire qui suggère l'adjonction de matériel à cette dernière. Au voisinage de la lame basale sont présentes :

1 - des citernes ergastoplasmiques dilatées et remplies d'un matériel à peine moins dense aux électrons que celui qui constitue la couche surajoutée à la lame basale (Pl. 20, fig. c et d).

2 - de petites vésicules à contenu plus ou moins opaque et dont certaines sont hérissées (diamètre 1000 Å) (Pl. 20, fig. f et g).

Les dictyosomes sont rarement situés à proximité immédiate de la lame basale, mais il en existe néanmoins toujours dans la région infranucléaire. Ils montrent (Pl. 20, fig. e) une polarité très nette et sont susceptibles d'émettre, au niveau de leur face de maturation, des petites vésicules à contenu opaque, semblables à celles qui se trouvent au contact de la lame basale.

L'origine des lames basales des Insectes est encore sujette à contradiction. Des études en microscopie électronique (BEAULATON, 1968 b ; WIGGLESWORTH, 1973) suggèrent que ce sont les hémocytes qui contribuent à l'élaboration des enveloppes conjonctives, idée présentée depuis longtemps par WIGGLESWORTH (1956 et 1959). Nous mêmes avons suggéré (chapitre I, paragraphe I) que les précurseurs du tissu conjonctif entourant l'intestin moyen sont élaborés au sein de certaines cellules de type hémocytaire ou fibroblastique.

Il n'en demeure pas moins que pour certains auteurs les lames basales sont formées par les cellules sus-jacentes. C'est le cas de la *tunica propria* des ovarioles de *Periplaneta americana* (BONHAG et ARNOLD, 1961) et surtout des tissus conjonctifs associés à la chaîne nerveuse (ASHHURST et RICHARDS, 1964 a et b ; PIPA et WOOLEVER, 1964, 1965). En fait selon WIGGLESWORTH (1973) les lames basales n'auraient pas toutes la même origine qui pourrait dépendre du tissu, mais aussi du stade de développement. Au niveau de l'intestin moyen, la lame basale serait un produit des cellules épithéliales (WIGGLESWORTH, 1973). Nos observations sont en accord avec ces conclusions. En effet, l'emplacement du dépôt venant s'ajouter à la lame basale souligne son origine épithéliale mésentérique. MARTOJA (1970) tient d'ailleurs un raisonnement semblable à propos du matériel de la lame basale du canal éjaculateur de *Locusta migratoria*.

Les quelques données que nous possédons sur la genèse de lames basales chez les Insectes font toutes état d'un réticulum endoplasmique bien développé (ASHHURST, 1964 et 1965 ; PIPA et WOOLEVER, 1965) et parfois de la présence de dictyosomes actifs (MARTOJA et BASSOT, 1965 ; PIPA et WOOLEVER, 1965).

Dans le cas de l'épaississement de la lame basale mésentérique qui survient au cours de la métamorphose de la larve d'*Aeshna cyanea* trois types de vésicules peuvent être observées au voisinage et au contact de la lame basale : des vésicules hérissées, de petites vésicules denses à membrane lisse et enfin des saccules ou des vésicules dilatées du réticulum endoplasmique granulaire. En ce qui concerne les vésicules hérissées de 1000 Å de diamètre il est classiquement admis (FRIEND et FARQUHAR, 1967 ; GARANT et NALBANDIAN, 1968) que leur rôle serait plutôt de convoier du matériel vers l'intérieur de la cellule que d'en exporter, même si les démonstrations faites par ces auteurs l'ont été pour des vésicules situées au pôle apical de la cellule. Pour ce qui est des vésicules dilatées du réticulum endoplasmique, leur présence au voisinage de la lame basale et la similitude du matériel qu'elles contiennent avec celui du dépôt ajouté à la lame basale parle en faveur d'un passage direct de matériel du réticulum en direction de la lame basale, processus également admis par ASHHURST (1964, 1965).

Il est cependant plus probable que l'origine du matériel ajouté à la lame basale doive être recherché dans les petites vésicules denses qu'émettent les dictyosomes. En effet, il n'est pas exceptionnel de constater la fusion de petites vésicules denses avec la membrane plasmique basale, alors que nous n'avons jamais observé de communication réticulum-membrane plasmique. De plus, la nature glycoprotéinique de la lame basale voudrait que le constituant glucidique soit ajouté à la partie protéinique au niveau des dictyosomes, une des fonctions de l'appareil de Golgi étant d'associer les deux constituants des glycoprotéines (revue par BEAMS et KESSEL, 1968).

En conclusion, nous pouvons dire que lors de la métamorphose mésentérique il y a adjonction d'une couche de matériel fibrillaire à la lame basale. Ce dépôt supplémentaire est également observable chez certaines larves à métamorphose anticipée (voir chapitre V). Il demeure cependant un doute sur la nature des vésicules transportant ce matériel de la cellule en direction de la membrane plasmique, bien que les données morphologiques, mais aussi cytochimiques, soient en faveur d'un transport assuré par les petites vésicules golgiennes. Nous pensons que l'adjonction d'un dépôt à la lame basale pourrait être en relation avec l'élongation notable de l'intestin moyen qui surviendra lors de l'émergence.

## V - GENESE DES MICROVILLOSITES

Les microvillosités augmentent la surface de contact entre l'épithélium intestinal et la nourriture. Par ailleurs, chez les Vertébrés il a été démontré que leur membrane renferme de nombreuses enzymes (CRANE, 1966 ; JOHNSON, 1966). Il n'est donc pas surprenant que l'importance et la complexité fonctionnelles des microvillosités intestinales des Vertébrés aient amené certains auteurs (OVERTON et SHOUP, 1964 ; OVERTON, 1965 ; BONNEVILLE et WEINSTOCK, 1970 ; VOLLRATH, 1971) à envisager le problème de leur genèse.

Chez les Insectes, seuls JEANTET (1969, 1971) et HECKER et coll. (1971) avaient, avant notre étude, signalé la présence de microvillosités à l'intérieur d'espaces extracellulaires opaques sans approfondir toutefois leur mode de formation.

Nous ne rappellerons ici que les résultats essentiels d'une étude antérieure (ANDRIES, 1972 a) réalisée à la fois chez des animaux sacrifiés en cours d'intermue et chez des larves dont la métamorphose mésentérique était avancée.

Les observations montrent la relation étroite existant entre la formation d'une coiffe de matériel dense à l'apex de la cellule et la genèse des microvillosités.

### 1) La coiffe

A l'apex des cellules en voie de différenciation on note la présence de nombreuses vésicules à matériel dense d'environ  $0,2 \mu$  de diamètre (Pl. 21, fig. a et b). Ces vésicules fusionnent entre elles et avec la membrane plasmique (Pl. 21, fig. b et Pl. 22, fig. e) de façon à dilater l'espace intercellulaire (Pl. 21, fig. c) qui correspondra à la coiffe (Pl. 21, fig. a, d, e ; Pl. 22, fig. d). De telles vésicules sont d'ailleurs toujours visibles juste sous la coiffe dont elles possèdent la même opacité aux électrons (Pl. 21, fig. e), mais il est aussi possible d'en trouver au voisinage de l'appareil de Golgi (Pl. 21, fig. f), ce qui parlerait en faveur d'une origine golgienne. A noter que de petites vésicules ( $0,05 \mu$  de diamètre) claires et parfois "hérissées" peuvent être également observées à proximité de la coiffe (Pl. 21, fig. d).

Le matériel de la coiffe est APS +, il se "colore" en microscopie électronique par la technique de THIERY (1967) au thiosemicarbazide (72 h.)-protéinate d'argent après oxydation périodique ce qui laisse présager l'existence de glycoprotéines.

Par contre, après "coloration" par un mélange acide chromique-acide phosphotungstique selon RAMBOURG (1967) (Pl. 22, fig. f), seules quelques zones de

la coiffe, au voisinage des membranes des microvillosités et de la coiffe apparaissent contrastées. Il est à noter que le marquage obtenu au niveau des vésicules denses se limite également à un halo périphérique.

## 2) Les microvillosités

Les vésicules dont la fusion détermine la genèse de la coiffe sont entourées d'une membrane de 70 à 75 Å de diamètre (Pl. 22, fig. e) d'aspect identique à celle qui recouvre les digitations cytoplasmiques dont semblent issues les microvillosités.

Les critères qui permettent d'affirmer que ces digitations correspondent bien aux futures microvillosités sont :

1 - le diamètre sensiblement constant (0,1  $\mu$ ) de ces digitations qui correspond à celui des microvillosités des cellules fonctionnelles.

2 - l'existence de faisceaux de filaments dans le cytoplasme apical et au sein des digitations (Pl. 21, fig. d et e) tout comme dans les microvillosités. A noter que des faisceaux de filaments semblent parfois venir s'attacher à la membrane plasmique apicale avant la formation de la coiffe (Pl. 22, fig. c).

3 - l'observation de coiffes "matures" intraépithéliales débarrassées de leur matériel opaque, mais dont les microvillosités sont recouvertes d'un "cell coat" (Pl. 22, fig. a et b).

## DISCUSSION

Il importe à présent de discuter nos propres résultats à la lumière des données bibliographiques et d'essayer de les interpréter.

### 1) Rôle des vésicules denses

Un des caractères originaux de la genèse des microvillosités est sa localisation intraépithéliale qui semble commune à la majorité des Insectes. Nous avons vu que les coiffes à l'intérieur desquelles se constituent les microvillosités proviennent de la fusion des vésicules à matériel dense. Il est logique de penser que ces vésicules ont le même rôle que celles décrites par RÖHLICH (1962) chez *Dugesia* et par BONNEVILLE et WEINSTOCK (1970) chez *Xenopus*. Ainsi, le contenu des vésicules denses formerait le matériel de la coiffe, alors que leur membrane serait à l'origine de celle des microvillosités.

S'il est vrai que les notions actuelles du mode d'assemblage des composés membranaires entre eux restent très hypothétiques (WINZLER, 1970), il a été bien

établi que les membranes sont plastiques et qu'elles peuvent se rompre et fusionner avec d'autres membranes comme c'est le cas dans la pinocytose, la phagocytose ou l'expulsion d'un produit de sécrétion à la surface cellulaire (références dans CHLAPOWSKI et NEALBAND, 1971). Le dernier cas envisagé, à savoir l'exocytose, le plus proche de nos observations, nécessite l'apposition des deux membranes puis la formation d'une membrane à cinq et parfois à trois feuilletts (PALADE et BRUNS, 1968 ; KIM et coll., 1972 ; LAGUNOFF, 1973 ; PALADE, 1975 ; TANDLER et POULSEN, 1976). Toutefois, lors de l'exocytose, il y a, après la fusion des vésicules, ablation de portions de membranes excédentaires qui sont réutilisées par la cellule (JAMIESON et PALADE, 1967 a et b, 1971 ; AMSTERDAM et coll., 1969 ; MELDOLESI et COVA, 1971 ; MELDOLESI, 1974).

Dans des cellules non sécrétrices, des membranes d'origine golgienne semblent également participer à la formation de nouvelles membranes plasmiques (WHALEY et MOLLENHAUER, 1963) ou être incorporées dans des membranes plasmiques préexistantes (HICKS, 1966 ; MASUR et coll., 1972).

## 2) Rôle des filaments

Les filaments jouent-ils un rôle morphogénétique dans la genèse des microvillosités ? Aucun document ne nous permet d'affirmer que les filaments formant l'axe des microvillosités sont responsables de l'élongation des microvillosités, mais il est remarquable de constater que ces filaments apparaissent précocement (Pl. 22, fig. c) dans des zones où la membrane plasmique apicale est plissée. Aussi semble-t-il possible d'imaginer que les endroits où ces filaments s'insèrent sur la membrane plasmique correspondent à l'emplacement des futures microvillosités, elles-mêmes formées par adjonction de structures membranaires dérivant des vésicules denses.

Selon Van Der STARRE-Van Der MOLEN et coll. (1972) les faisceaux filamentaires tirent leur origine des microtubules. Dans notre matériel il n'est pas exceptionnel que des microtubules soient situés à proximité des faisceaux de filaments (Pl. 21, fig. e).

## 3) Formation du "cell coat" des microvillosités

Un "cell coat" recouvre l'apex et les faces latérales des microvillosités lorsqu'elles sont libérées du matériel dense qui les englobait. On peut se demander quand se constitue ce revêtement particulier et quelle est son origine.

Il est admis que le "cell coat" se renouvelle à partir de vésicules golgiennes (BERLIN, 1967 ; RAMBOURG et coll., 1969 ; BENNETT, 1970 ; BENNETT et LEBLOND, 1970). D'après nos résultats, et à titre d'hypothèse, nous pensons que

deux types de vésicules peuvent être impliquées dans sa formation : les vésicules denses à l'origine de la coiffe et les petites vésicules claires trouvées dans son voisinage. Le rôle de petites vésicules à l'origine du "cell coat" a été suggéré par FRIEND et FARQUHAR (1967) et par BENNETT et LEBLOND (1970). Dans le cas de notre matériel, il semble que, vu la rareté des vésicules claires le "cell coat" provienne des vésicules denses dont la fusion a déterminé la genèse de la coiffe. Une telle interprétation rejoint celle proposée par MASUR et coll. (1972) dans leur étude sur la vésicule biliaire du crapaud. Nous suggérons, en outre, que le "cell coat" pourrait exister dès les premiers stades de la constitution des microvillosités, encore masqué par le matériel dense et faisant partie intégrante de la membrane des vésicules.

Il est à noter qu'une telle interprétation est en accord avec les résultats récents obtenus par MICHAELS et LEBLOND (1976) dans leur étude sur le rôle des granules apicaux dans le remplacement du "cell coat" des cellules intestinales de souris.

#### CONCLUSION

Notre étude de la genèse des microvillosités de l'intestin moyen chez *Aeshna cyanea* nous a amené à proposer un schéma en quatre étapes (figure 15). La caractéristique principale de ce processus est qu'il s'accompagne de la formation d'une coiffe de matériel dense aux électrons, de nature polysaccharidique, au sein de laquelle s'organisent les microvillosités. Nous nous trouvons en présence d'un mode de formation qui, s'il semble général chez les Insectes, est original dans le règne animal. Si les modalités particulières à cette genèse sont acquises, certaines questions n'ont toutefois pu recevoir de réponse satisfaisante. Il en est ainsi du rôle de la coiffe pour lequel deux hypothèses sont formulées.

1ère hypothèse : elle pourrait jouer le rôle d'un milieu protecteur, favorable sinon à la genèse, du moins à la "maturation" des microvillosités, permettant aux cellules se différenciant de devenir fonctionnelles dès qu'elles ont atteint la lumière intestinale.

2ème hypothèse : elle pourrait favoriser le décollement de l'épithélium devenant caduc lors de la métamorphose (JEANTET, 1971).

On est tenté de faire un rapprochement entre les vésicules denses présentes dans les cellules fonctionnelles et sensées être des réservoirs d'enzymes digestives (cf chapitre I, paragraphe III) et les vésicules à l'origine de la coiffe : même taille, même opacité aux électrons, même origine, même "coloration" après la méthode de RAMBOURG (1967), d'où l'idée qu'elles pourraient être identiques. S'il en était ainsi, le matériel de la coiffe pourrait correspondre à des enzymes digestives dont la présence expliquerait la digestion du tissu réticulé et de l'épithélium larvaire après leur rejet dans la lumière intestinale. D'un autre côté, les vésicules



denses qui fusionnent à l'apex des cellules fonctionnelles pourraient également permettre le renouvellement du "cell coat" garnissant les microvillosités.

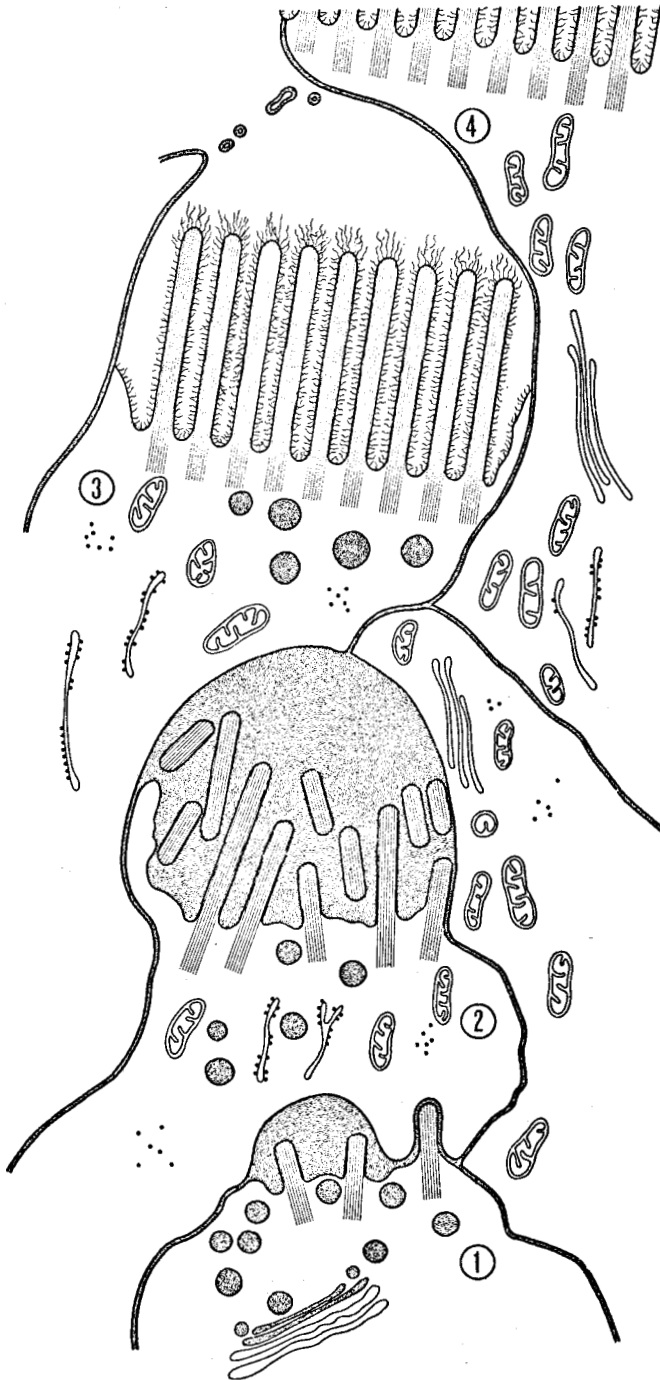


Figure 15 : Représentation schématique de quatre étapes de la genèse de la coiffe et des microvillosités au cours de l'intermue larvaire ; les stades 1, 2, 3, correspondent à des cellules en voie de différenciation, le stade 4 à une cellule fonctionnelle.

- Etape 1 : des vésicules opaques aux électrons, d'origine golgienne, fusionnent avec l'espace intercellulaire. Des faisceaux de filaments apparaissent précocement dans l'axe des futures microvillosités.
- Etape 2 : la coiffe s'est étendue à l'apex de la cellule et renferme le même matériel que celui des vésicules denses qui lui ont donné naissance.
- Etape 3 : les microvillosités sont libérées du matériel opaque aux électrons et un "cell coat" les recouvre. La membrane séparant la coiffe de la cellule sus-jacente s'est rompue, à sa place subsistent des lambeaux membranaires.
- Etape 4 : cellule fonctionnelle dont les microvillosités sont au contact de la lumière intestinale.

### CONCLUSION DU CHAPITRE III

La différenciation d'une cellule de type embryonnaire en une cellule fonctionnelle à polarité aussi marquée que l'est une cellule mésentérique d'*Aeshna cyanea* est un phénomène complexe dont nous avons pu, grâce à la microscopie électronique, suivre quelques étapes. Au cours de la formation de l'épithélium imaginal qui a servi de base à notre étude nous pouvons schématiquement en discerner deux principales.

Dans un premier temps, alors que du matériel ribonucléoprotéique passe du noyau dans le cytoplasme, il y a division des mitochondries préexistantes, genèse de dictyosomes, augmentation de taille et élongation de la cellule, sans doute en relation avec la multiplication du nombre des microtubules, tandis que les espaces intercellulaires sont encore irréguliers.

Dans un second temps, la forme des cellules étant acquise, il y a apparition de microvillosités à l'apex cellulaire au sein d'une coiffe de nature glycoprotéinique. Alors que dans la région apicale, une jonction continue relie les cellules entre elles, un labyrinthe basal s'est développé au pôle opposé de la cellule dont la lame basale a été renforcée par le dépôt d'une couche de matériel fibrillaire.

CHAPITRE IV

DEGENERESCENCE DES CELLULES MEENTERIQUES

La dégénérescence des cellules mésentériques, tout comme leur différenciation, est un phénomène continu qui peut être étudié au cours de chaque intermue. Toutefois, c'est au cours de la métamorphose que les phénomènes de dégénérescence sont le plus facilement observables, puisqu'ils concernent à la fois le tissu réticulé et l'épithélium larvaire, destinés tous deux à être rejetés dans la lumière intestinale.

Comme nous l'avons fait dans une mise au point récente (ANDRIES, 1976 c), nous aborderons successivement les phénomènes de dégénérescence suivie du rejet de cellules isolées, puis ceux qui affectent la totalité de l'épithélium et enfin le processus de fragmentation de la lame basale qui précède le rejet de l'épithélium larvaire et du tissu réticulé.

## I - DEGENERESCENCE ET REJET CELLULAIRE ISOLE

### 1) Lors d'une intermue larvaire

En période d'intermue, il est assez fréquent de constater le rejet d'une cellule dans la lumière intestinale. Le noyau de ces cellules comporte un petit nucléole et des mottes chromatiniennes compactes et périphériques (Pl. 23, fig. a). Le cytoplasme s'éclaircit en même temps que les microvillosités se boursouflent, formant des expansions plus ou moins digitiformes qui se vésiculisent et finalement se détachent de la membrane apicale ; les mitochondries prennent une forme polymorphe, parfois en haltère, et leur matrice s'opacifie ; le réticulum granulaire disparaît, faisant place à des vésicules à membrane lisse. Le stade ultime (Pl. 23, fig. a) est une cellule à fond cytoplasmique très clair, dépourvue de microvillosités, possédant des mitochondries polymorphes à contenu dense et des vésicules de réticulum lisse. Il est remarquable de constater que ces cellules claires ne renferment qu'un nombre très restreint de formations lysosomiales.

Comme nous l'avons signalé précédemment (chapitre I, paragraphe II), les cellules mésentériques sont reliées dans leur partie apicale par une *zonula continua* qui, lors d'un rejet cellulaire, doit être le siège d'un remaniement profond. En outre, on peut parfois observer la rupture de la membrane apicale suivie de la "libération" des organites cytoplasmiques dans la lumière intestinale. La recherche de la phosphatase acide au sein de l'espace intercellulaire (Pl. 23, fig. b et c) limitant une cellule en voie de rejet ou subsistant après rejet d'une cellule adjacente s'est avérée positive. Comme le prouvent les figures b et c Pl. 23, ce sont de petites vésicules riches en phosphatase acide, donc de nature lysosomiale,

qui viennent fusionner avec les membranes plasmiques latérales.

Cette localisation, quoique assez inhabituelle de la phosphatase acide a cependant été décrite par différents auteurs (TS'AO, 1970 ; De MAYER-CRIEL, 1971 ; PASTEELS, 1971 ; LOCKE et coll., 1973). La présence de la phosphatase acide favoriserait donc le rejet des cellules "usées", comme le suppose De MAYER-CRIEL (1971) qui note, dans le cas de la glande coquillière d'*Artemia salina*, que l'activité phosphatasique acide pourrait jouer un rôle dans le relâchement des jonctions intercellulaires.

## 2) Lors de la métamorphose

Au cours de la métamorphose apparaissent, au sein du tissu réticulé et au voisinage de l'épithélium imaginal, des formations intracellulaires renfermant des masses plus ou moins sphériques de matériel dense souvent entourées de deux membranes (Pl. 24, fig. b).

L'étude de leur contenu cytoplasmique et des dérivés nucléaires qu'elles renferment va nous permettre d'interpréter ces formations intracellulaires comme des hétérophagosomes.

### a) Structure des hétérophagosomes

De l'observation des constituants cytoplasmiques ressortent deux points essentiels, à savoir, leur richesse en ribosomes (Pl. 24, fig. b et d) et leur pauvreté en phosphatase acide (Pl. 26, fig. b). Les mitochondries sont de petite taille, les dictyosomes (Pl. 24, fig. d) réduits à des saccules lisses souvent associés par paires et parfois en boucles fermées, les microtubules groupés en faisceaux, alors que le réticulum endoplasmique forme des lames et plus souvent des boucles qui peuvent entourer des masses denses, des ribosomes et des vésicules ergastoplasmiques dilatées et renfermant un matériel protéique (Pl. 26, fig. c).

La plupart des masses denses présentes dans les hétérophagosomes correspondent à des mottes chromatinienne, comme l'ont démontré la coloration régressive à l'E.D.T.A. selon la méthode de BERNHARD (1969) (Pl. 25, fig. a) et la technique de MOYNE (1973). L'enveloppe ne porte de ribosomes que sur sa face externe (Pl. 24, fig. c). Des spécialisations de l'enveloppe, mimant des pores nucléaires peuvent être observées particulièrement lorsque l'enveloppe est doublée extérieurement par une boucle de réticulum endoplasmique granulaire (Pl. 25, fig. b). Il s'agirait, dans ce cas, de spécialisations rappelant les lamelles annelées.

Comme ces dérivés nucléaires n'incorporent pas l'uridine 3H (Pl. 25, fig. c) ils correspondent sans doute à une forme de dégénérescence nucléaire.

Ces formations intracellulaires possèdent donc tous les organites d'une cellule, bien que parfois sous une forme altérée. Leur position au sein d'une autre cellule, leur grande taille et leur richesse en dérivés nucléaires nous amène à les considérer comme des cellules ou des portions cellulaires ingérées par d'autres. Par leurs caractéristiques (fragmentation et condensation nucléaires et cytoplasmiques) et leur évolution (densification et homogénéisation du fond hyaloplasmique sans participation de lysosomes) elles sont assimilables aux corps apoptotiques décrits par KERR et coll. (1972) et non, comme le suppose JEANTET (1971), à des vacuoles autophagiques. Elles méritent donc la dénomination d'hétérophagosomes.

#### b) Origine des hétérophagosomes

On peut admettre que les hétérophagosomes présents au sein du tissu réticulé proviennent de cellules de l'épithélium imaginal ou de cellules issues des nids de régénération dont le noyau et le cytoplasme se sont condensé et fragmenté. Certaines cellules du voisinage, après phagocytose de ces débris, ont acquis les caractéristiques du tissu réticulé auquel elles vont se mêler. Ces cellules, qui n'ont probablement aucune activité lytique à l'égard des éléments séquestrés ne jouent qu'un simple rôle d'isolement et de transport des cellules altérées.

Une telle interprétation s'applique également à des cellules de régénération au sein desquelles il est parfois possible d'observer des vacuoles de grande taille (Pl. 24, fig. a) qui dépriment le noyau de la cellule. Ces vacuoles renferment essentiellement, en dehors de quelques "résidus" cytoplasmiques plusieurs masses denses entourées chacune d'une enveloppe (Pl. 24, fig. a) qui vraisemblablement dérivent d'un noyau pycnotique. Notons à ce propos, que, dès 1942, WIGGLESWORTH signalait l'existence, au sein des cellules épidermiques de *Rhodnius prolixus* de "gouttelettes chromatiques" résultant de la dissolution de noyaux pycnotiques.

Signalons enfin que lorsque l'épithélium imaginal est constitué, il est possible d'observer quelques fragments nucléaires (Pl. 26, fig. d) dans des cellules dépourvues de microvillosités et à noyau pycnotique, faisant extrusion à la surface de l'épithélium imaginal. Ces cellules pourraient, quant à elles, une fois rejetées, s'immiscer aux cellules du tissu réticulé qui les surmontent sans être toutefois phagocytées par elles.

#### CONCLUSION

La présence de corps apoptotiques au moment de la réalisation du tissu réticulé et de l'épithélium imaginal n'est guère surprenante puisqu'elle survient

à un moment où les phénomènes de prolifération cellulaire ont été intenses. Comme le notent KERR et coll. (1972) l'apoptosis et la mitose sont des processus complémentaires et opposés assurant la régulation des populations cellulaires.

## II - DEGENERESCENCE DE L'EPITHELIUM LARVAIRE ET DU TISSU RETICULE

Quoique les mécanismes responsables de la "mort cellulaire programmée", selon l'expression de LOCKSHIN et WILLIAMS (1965), soient encore mal connus, il paraît vraisemblable que le point de départ de ce processus doit être recherché au niveau nucléaire (WEBSTER et GROSS, 1970), la dégradation de l'ADN étant concomitante sinon antérieure à la mort cellulaire (WILLIAMS et coll., 1974).

L'étude de la dégénérescence des cellules mésentériques vue sous l'angle de l'évolution nucléaire, puis dans ses répercussions sur les organites cytoplasmiques a fourni des données préalables (ANDRIES, 1972 b) qui ont été reprises ultérieurement d'une manière plus détaillée (ANDRIES, 1975 a).

### 1) Evolution nucléaire

#### a) Dans le tissu réticulé

Peu avant le début de la métamorphose mésentérique, les cellules les plus superficielles des nids de régénération ont une forme arquée ; il est très vraisemblable qu'il s'agit des cellules qui sont à l'origine du tissu réticulé.

En début de différenciation, alors que le tissu réticulé est présent sous forme de calottes à l'apex des nids de régénération (Pl. 27, fig. a), les noyaux gardent une structure encore voisine de celle des cellules indifférenciées, bien qu'ils soient désormais indentés.

En cours de métamorphose, le tissu réticulé forme un anneau entre les épithéliums larvaire et imaginal (Pl. 27, fig. b). On assiste alors à un éclaircissement progressif du fond nucléoplasmique (Pl. 28, fig. a), en même temps qu'y apparaissent des granules denses au contour non tranché atteignant jusqu'à 0,2  $\mu$  de diamètre (Pl. 27, fig. h). Le nucléole apparaît condensé et de nature essentiellement fibrillaire, les mottes chromatiniennes, elles aussi condensées, sont plaquées contre l'enveloppe nucléaire (Pl. 28, fig. a), bien qu'elles soient encore Feulgen positives.

Peu avant le rejet du tissu réticulé dans la lumière intestinale, en raison de la régression et parfois de la quasi-disparition de la trame interchromatinienne, le nucléoplasme apparaît virtuellement vide. Seuls y subsistent de nombreux

granules denses.

b) Dans l'épithélium larvaire

Peu avant le rejet de l'épithélium larvaire dans la lumière intestinale, les mottes chromatinienne, de taille réduite, sont accolées à l'enveloppe nucléaire et au nucléole (Pl. 27, fig. g). Sur le fond nucléoplasmique éclairci ressortent, outre le nucléole compact et les mottes chromatinienne citées, des plages denses de nature chromatinienne (Pl. 27, fig. d et e) au sein ou à la périphérie desquelles on peut observer des granules ayant sensiblement 300 Å de diamètre.

En résumé, on peut dire que la dégénérescence nucléaire des cellules du tissu réticulé et de l'épithélium larvaire se manifeste par :

1 - la petite taille des nucléoles essentiellement fibrillaires devenus compacts et denses.

2 - la condensation des mottes chromatinienne et leur localisation contre l'enveloppe nucléaire. Dans les cellules épithéliales larvaires, elles entourent fréquemment le nucléole.

3 - l'apparition au sein du nucléoplasme de sphérules de matériel dense dont la périphérie est fréquemment garnie de granules. De tels granules sont également observables au sein de plages chromatinienne. Corrélativement, l'espace interchromatinien est démasqué, bien que cela soit moins net dans les cellules de l'épithélium larvaire.

Tous ces critères semblent indiquer que l'évolution des noyaux du tissu réticulé et de l'épithélium larvaire peut être assimilée à un début de caryolyse, ainsi que TRUMP et coll. (1965 b) le signalent chez la souris.

2) Evolution des organites cytoplasmiques

a) Au niveau du tissu réticulé

Vu le caractère éphémère du tissu réticulé, il nous a paru préférable de passer en revue ici toute l'évolution des cellules qui le constituent, depuis le moment où elles sont reconnaissables jusqu'à ce qu'elles entrent en dégénérescence.

Le premier critère qui permet de distinguer les cellules qui vont former le tissu réticulé est, outre leur position à l'apex des nids de régénération, l'apparition de vacuoles (Pl. 28, fig. c) de grande taille ayant fréquemment une position juxtanucléaire. Ces vacuoles, parfois en continuité avec des saccules du réticulum endoplasmique (Pl. 28, fig. d), sont fréquemment en relation avec des globules



lipidiques (Pl. 28, fig. c) qui sont très abondants dans les premiers jours de la formation du tissu réticulé, comme l'a confirmé la coloration au noir Soudan B sur coupes à congélation.

En début de différenciation, le nombre des organites cytoplasmiques reste modéré : mitochondries de petite taille, saccules ergastoplasmiques peu abondants, dictyosomes peu nombreux. Le nombre de ribosomes est important et, accessoirement, nous pouvons trouver des corps multivésiculaires, des formations autophagiques et des corps denses. Enfin des microtubules sont épars dans le cytoplasme.

En cours de métamorphose le fond hyaloplasmique a tendance à s'éclaircir du fait de la régression du nombre des ribosomes (Pl. 28, fig. d). Nous n'assistons pas, comme c'est le cas pour les futures cellules mésentériques imaginaires, à une multiplication intense des organites cellulaires.

En fin de métamorphose, peu avant son rejet dans la lumière intestinale, le tissu réticulé présente en microscopie optique, un aspect hyalin. En microscopie électronique, il subsiste, sur un fond généralement clair, de rares ribosomes souvent adhérents aux membranes du réticulum endoplasmique, quelques mitochondries, des microtubules et des petites vésicules. Le Golgi a disparu et le réticulum endoplasmique est fréquemment dilaté, de même que le sont les crêtes mitochondriales.

#### b) Au niveau de l'épithélium larvaire

Nous rapporterons ici l'aspect des organites en fin de métamorphose, peu avant le rejet de l'épithélium larvaire dans la lumière intestinale.

. Les mitochondries sont caractérisées par une diversité de structure et un polymorphisme remarquables. Très généralement, elles sont de grande taille et présentent des crêtes dilatées et, plus accessoirement, des zones de matériel dense au sein de la matrice mitochondriale (Pl. 29; fig. b) dont l'opacité aux électrons, généralement modérée, peut devenir sensiblement nulle. Exceptionnellement des inclusions de type filamentaire ont pu être discernées à l'intérieur de la matrice mitochondriale (Pl. 29, fig. c).

. Les dictyosomes semblent avoir disparu au moment du rejet de l'épithélium larvaire dans la lumière intestinale.

. Le réticulum endoplasmique est encore bien développé, contrairement au Golgi, mais sa forme diffère de cellule à cellule. D'une façon générale il a tendance à se vésiculiser (Pl. 28, fig. e).

. Les formations autophagiques et les vésicules denses sont particulièrement nombreuses dans l'épithélium larvaire (Pl. 28, fig. b). Les formations

autophagiques sont des corps sphériques ou ovales atteignant  $2 \mu$  de diamètre et entourés d'une seule membrane (cytosomes de la nomenclature d'ERICSSON et coll., 1965). Il est fréquent d'observer (Pl. 29, fig. d) des lames ergastoplasmiques en forme d'arc situées presque bout à bout et portant des ribosomes presque exclusivement sur leur face externe. Il est vraisemblable que les portions cytoplasmiques ainsi délimitées sont à l'origine des vacuoles autophagiques.

Les vésicules denses atteignant  $0,5 \mu$  de diamètre sont délimitées par une membrane généralement plissotée et renferment un matériel plus ou moins granuleux.

. Les espaces intercellulaires sont fréquemment dilatés et remplis d'un matériel granuleux (Pl. 28, fig. f).

. Les microvillosités ont généralement disparu de la surface apicale (Pl. 29, fig. a).

### 3) Etude autoradiographique

L'intensité des synthèses d'ARN ou de protéines mises respectivement en évidence par incorporation d'uridine  $3 \text{ H}$  (2 h. de temps d'incorporation) et de leucine  $3 \text{ H}$  (3 h. de temps d'incorporation) illustre parfaitement les processus de mort cellulaires.

#### a) Incorporation d'uridine $3 \text{ H}$

En début de métamorphose, alors que l'épithélium imaginal n'est pas constitué et que le tissu réticulé commence à se différencier, les synthèses sont nettes dans les noyaux des cellules de régénération à l'origine de l'épithélium imaginal. Cependant, ce sont les noyaux des quelques cellules en voie de différenciation larvaire et ceux des futures cellules du tissu réticulé qui sont les plus abondamment marqués (Pl. 27, fig. c). Par contre, les noyaux des cellules épithéliales larvaires (Pl. 27, fig. c) n'incorporent plus l'uridine  $3 \text{ H}$ .

En cours de métamorphose, le marquage subsiste au niveau des futures cellules imaginaires et de celles du tissu réticulé, bien qu'il y soit plus modéré.

En fin de métamorphose, peu avant le rejet de l'épithélium larvaire et du tissu réticulé dans la lumière intestinale, aucune synthèse n'est plus décelable dans les noyaux du tissu réticulé (Pl. 27, fig. f) ni dans ceux de l'épithélium larvaire ; seuls les noyaux de l'épithélium imaginal incorporent encore l'uridine  $3 \text{ H}$  (Pl. 27, fig. f).

#### b) Incorporation de leucine $3 \text{ H}$

L'évolution de l'incorporation de leucine  $3 \text{ H}$  est calquée sur celle d'uridine  $3 \text{ H}$ . Au sein de l'épithélium imaginal le marquage reste intense tout au

long de la différenciation cellulaire. Au niveau du tissu réticulé et de l'épithélium larvaire l'incorporation régresse au cours de la métamorphose et devient sensiblement nulle peu avant leur rejet dans la lumière intestinale.

En général, les cellules d'un tissu qui incorporent à un moment donné la leucine 3 H, incorporent également l'uridine 3 H avec une intensité relative sensiblement égale. La seule différence notable concerne l'épithélium larvaire, dont les synthèses ribonucléoprotéiques sont nulles ou très faibles en début et en cours de métamorphose, alors que les synthèses protéiques y sont encore intenses.

## DISCUSSION

### 1) Altération des organites cytoplasmiques

La vacuolisation du réticulum endoplasmique a été interprétée comme une des manifestations caractéristiques du processus de mort cellulaire (TRUMP et coll., 1962 ; HELMINEN et ERICSSON, 1968 ; HOURDRY, 1969). Mais la dilatation du réticulum endoplasmique est-elle une conséquence de la dégénérescence nucléaire ? Si nous nous référons aux travaux de FLICKINGER (1968 a), nous pouvons admettre que le noyau a pour rôle de maintenir la forme du réticulum endoplasmique. Cette hypothèse permettrait d'expliquer les dilatations du réticulum endoplasmique observables en cours et en fin de métamorphose, à la fois dans les cellules du tissu réticulé et dans l'épithélium larvaire. Par contre, il ne semble pas que l'on puisse expliquer de cette manière la formation des grandes vacuoles apparues tout au début de la différenciation du tissu réticulé, alors qu'à ce moment celui-ci ne présente encore aucun signe de dégénérescence nucléaire. Dans ces conditions il paraît plausible d'attribuer à de telles vacuoles un rôle particulier en relation avec la formation des globules lipidiques, auxquels elles sont étroitement apposées.

Les résultats des expériences d'énucléation cellulaire de FLICKINGER (1968 a et b) permettraient également d'interpréter la diminution de la teneur en ribosomes et l'involution de l'appareil de Golgi.

En ce qui concerne les altérations mitochondriales, nos observations (dilatation des crêtes, augmentation de taille, accumulation de matériel dense au sein de la matrice) rappellent celles de TRUMP et coll. (1965 a) dans l'étude d'une nécrose expérimentale et celles plus récentes de FLICKINGER (1973) et de Mc GILL et coll. (1973) à la suite de l'adjonction d'un inhibiteur des synthèses mitochondriales, le bromure d'éthidium, à leur milieu de culture. Nos résultats pourraient donc s'expliquer par une inhibition des synthèses mitochondriales.

Quant aux inclusions filamenteuses elles sont très probablement l'illustration d'un processus de dégénérescence mitochondriale (références dans YAMAMOTO et coll., 1969).

## 2) Genèse des formations autophagiques

L'apparition de formations autophagiques est une des caractéristiques essentielles de la dégénérescence de l'épithélium mésentérique larvaire d'*Aeshna cyanea*. Ce même phénomène étudié chez *Sarcophaga bullata* s'accompagne de l'apparition de nombreux corps denses correspondant à des lysosomes (MISCH, 1963, 1965) et serait (RADFORD et MISCH, 1971) sous contrôle de l'ecdysone. Cependant nous n'avons pu observer, après injection d' $\alpha$ -ou de  $\beta$  ecdysone en début de dernier stade larvaire (chapitre V), une augmentation notable du nombre des vacuoles autophagiques dans l'épithélium larvaire, alors que l'épithélium imaginal a fait son apparition sous l'effet de l'hormone injectée. Des facteurs, autres qu'hormonaux, seraient donc responsables de la genèse des vacuoles autophagiques. Celle-ci pourrait être la conséquence de l'anoxie des cellules de l'épithélium larvaire qui, à la suite de la mise en place de l'épithélium imaginal, ne sont plus alimentées en substances nutritives et en  $O_2$ , une telle relation ayant déjà été démontrée (références dans ERICSSON, 1969).

## CONCLUSION

Il ressort de notre étude sur l'évolution de l'épithélium larvaire et du tissu réticulé au cours de la métamorphose que le noyau joue un rôle prépondérant lors de la dégénérescence cellulaire de ces formations. Que ce soient la vacuolisation du réticulum endoplasmique, la disparition des dictyosomes ou la diminution du nombre des ribosomes, toutes ces manifestations de la mort cellulaire peuvent être expliquées par l'arrêt des synthèses nucléaires faisant suite à l'inactivation du noyau ; par ailleurs, les altérations du chondriome peuvent être expliquées par un arrêt des synthèses mitochondriales, alors que l'augmentation du nombre de vacuoles autophagiques (dans l'épithélium larvaire) serait une conséquence de l'anoxie des cellules. Enfin, il se pourrait que la caryolyse nucléaire, responsable des altérations cytoplasmiques que nous avons décrites, soit elle-même le résultat d'un arrêt de l'oxygénation des cellules du tissu réticulé et de l'épithélium larvaire qui surviendrait au moment de la genèse de l'épithélium imaginal. SELIGMAN et coll. (1975) ont suggéré une hypothèse semblable concernant la mort des cellules hypodermiques alaires de Diptères.

### III - FRAGMENTATION DE LA LAME BASALE ET REJET DE L'ÉPITHÉLIUM LARVAIRE ET DU TISSU RÉTICULÉ

Ce processus ne peut être compris que si l'on examine attentivement la région basale des cellules du tissu réticulé et de l'épithélium larvaire dont l'aspect change en fonction des étapes de la mise en place de l'épithélium imaginal.

#### 1) Avant la genèse de l'épithélium imaginal

Les cellules épithéliales larvaires, comme les cellules du tissu réticulé, s'insèrent sur la lame basale. Au 14<sup>e</sup> jour de l'intermue, considéré comme le début de la métamorphose, les "pieds" rétrécis des cellules épithéliales larvaires et des cellules du tissu réticulé sont enserrés entre les volumineux nids de régénération (Pl. 30, fig. a). A ce stade, seuls subsistent, dans les fines travées cytoplasmiques, quelques saccules ergastoplasmiques ou mitochondries et de nombreux microtubules ; parfois un globule lipidique ou un corps multivésiculaire dilaté à ce niveau le "pied" cellulaire.

De la phosphatase acide est présente au niveau de certains espaces intercellulaires (Pl. 30, fig. b).

#### 2) Au moment de la genèse de l'épithélium imaginal

L'examen des régions sus-jacentes à la lame basale permet de constater :

1 - la rupture des membranes plasmiques en divers endroits ;

2 - la présence, au sein du cytoplasme, de fragments de lame basale

(Pl. 30, fig. c et Pl. 31, fig. a et b) provenant du "bourgeonnement" de celle-ci (Pl. 30, fig. c). Les membranes plasmiques restent au contact de ces lambeaux de lame basale (Pl. 31, fig. b), tant que ceux-ci ne sont pas encore trop désorganisés. Il semble d'ailleurs que cette désorganisation puisse être l'œuvre de la phosphatase acide dont on décèle la présence au sein de "vacuoles" de grande taille (Pl. 31, fig. a) qui pourraient dériver de la lame basale. La phosphatase n'apparaît cependant au niveau des lambeaux de lame basale qu'après la fragmentation de celle-ci.

#### 3) Après la genèse de l'épithélium imaginal

Seules les futures cellules imaginaires sont au contact de la lame basale. Celle-ci, cependant, n'a pas une épaisseur constante (Pl. 31, fig. c), puisqu'en certains points, les cellules imaginaires sont insérées uniquement sur la mince couche fibrillaire (adjointe au cours de la métamorphose) qui les sépare des trachéoles. C'est toujours au sommet des replis que la lame basale dessine que la

fragmentation a lieu, là où précisément les cellules larvaires s'inséraient entre les gros nids de régénération.

Il est hasardeux de se prononcer sur le mécanisme responsable de la fragmentation partielle de la lame basale. Peut-être ne faut-il y voir qu'un effet mécanique dû à la multiplication des cellules de régénération et surtout à leur différenciation en cellules imaginaires, celle-ci s'accompagnant d'une nette augmentation de volume et tendant ainsi à rejeter les cellules larvaires et celles du tissu réticulé dans la lumière intestinale.

#### CONCLUSION

La fragmentation de la lame basale permettant le rejet de l'épithélium larvaire et du tissu réticulé dans la lumière intestinale est un phénomène surprenant. Nous pensons que la déconnexion des cellules épithéliales larvaires et des cellules du tissu réticulé s'opérait par l'intermédiaire de la seule phosphatase acide présente dans les espaces intercellulaires, d'autant que ce mécanisme semble responsable du rejet isolé de certaines cellules épithéliales larvaires dans la lumière du tube digestif. Si la présence de phosphatase acide a pu, effectivement, être démontrée au sein des espaces intercellulaires de la région basale, il n'en demeure pas moins que le rejet de l'épithélium larvaire et du tissu réticulé nécessite la rupture et la fragmentation partielle de la lame basale.

#### CONCLUSION DU CHAPITRE IV

Les phénomènes de différenciation et de dégénérescence qui se déroulent lors de la métamorphose selon la chronologie indiquée ci-dessous se suivent de très près et se chevauchent même :

. 14e jour de l'intermue : - apparition des premières cellules du tissu réticulé sous forme de calottes à l'apex des nids de régénération ;

- arrêt de l'alimentation.

. 17e jour de l'intermue : - genèse de l'épithélium imaginal dont les cellules alignées parallèlement les unes aux autres forment un anneau complet ;

- perte de l'adhérence du tissu réticulé (qui s'étend en forme d'anneau entre les épithéliums larvaire et imaginal) et de l'épithélium larvaire par rapport à la lame basale.

. 19e jour de l'intermue : - début de la genèse des microvillosités à l'apex des cellules imaginaires ;

- début de la dégénérescence des cellules du tissu réticulé et de l'épithélium larvaire.

. 21<sup>e</sup> jour de l'intermue : - épithélium imaginal constitué ;

- dégénérescence et rejet des cellules du tissu réticulé et de l'épithélium larvaire dans la lumière intestinale.

La quasi-simultanéité de certains de ces processus nous a amené à rechercher la relation existant entre la genèse de l'épithélium imaginal et la dégénérescence de l'épithélium larvaire et du tissu réticulé. Nous pouvons remarquer, en premier lieu, que la dégénérescence de ces épithéliums survient peu avant leur rejet dans la lumière intestinale, une fois que l'épithélium imaginal est différencié sous forme d'un anneau complet. Durant quelques jours, les cellules du tissu réticulé et de l'épithélium larvaire ne se trouvent plus insérées sur la lame basale et, par conséquent, n'ont plus de contact avec l'hémolymphe, seule source des métabolites et de l'O<sub>2</sub> nécessaires à la vie des cellules.

En définitive, la différenciation de l'épithélium imaginal dont on verra plus loin (chapitre V) le déterminisme hormonal est donc responsable :

1 - de façon directe, de la perte d'insertion des cellules du tissu réticulé et des cellules larvaires sur la lame basale ;

2 - de façon indirecte, de leur dégénérescence.

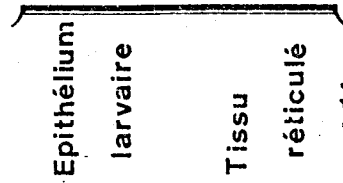
La figure 16 illustre les modalités de la dégénérescence de l'épithélium larvaire et du tissu réticulé, ainsi que les liens existant entre ce phénomène et la genèse de l'épithélium imaginal.

La métamorphose mésentérique des Odonates diffère de celle des autres Hétérométaboles par la formation d'un épithélium transitoire, le tissu réticulé. Celui-ci est caractérisé par l'absence de microvillosités et par une multiplication très modérée (ou même inexistante) des organites cytoplasmiques : il a donc les caractéristiques d'un épithélium abortif. Les Odonates ne sont pas les seuls Insectes à présenter un tel épithélium qui a également été décrit chez les Diptères (PEREZ, 1910) comme un épithélium nymphal abortif. Avec STRAUB (1943), nous pouvons conclure qu'il en est de même chez les Odonates dont le comportement larvaire durant la phase principale de la métamorphose (qui s'étend du début du jeûne à l'émergence) est de type nymphal (figure 16).

Arrêt de l'alimentation

j.14

Multiplication et  
différenciation  
cellulaires



Epithélium  
larvaire

Tissu  
réticulé

j.14

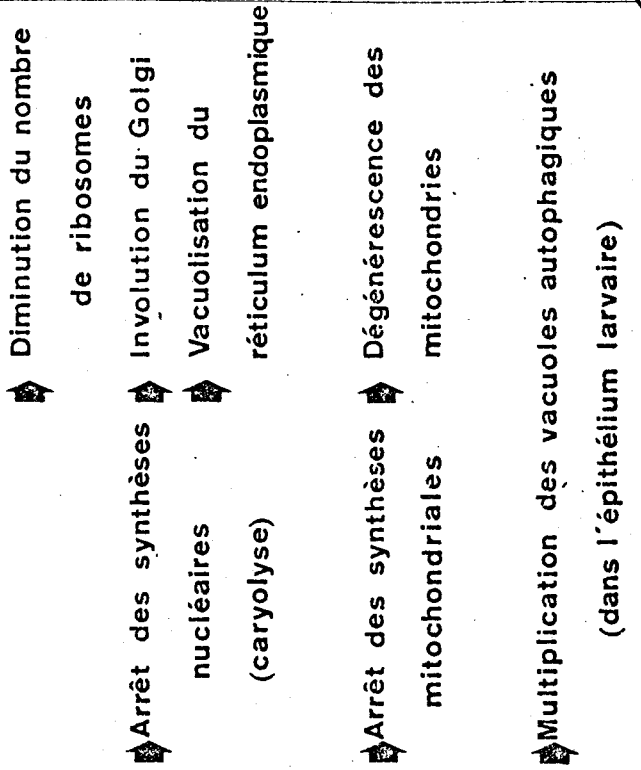


Epithélium  
imaginal

j.17

Emergence  
de l'imago

j.24



j.21

Rejet des  
deux  
épithéliums

Figure 16 : Schéma illustrant les liens existant entre la différenciation de l'épithélium imaginal et la dégénérescence du tissu réticulé et de l'épithélium larvaire.



CHAPITRE V

1  
CONTROLE HORMONAL DE LA METAMORPHOSE MESENTERIQUE

Les cellules de régénération de l'intestin moyen font preuve, au cours du développement post embryonnaire, d'une activité mitotique et différenciatrice incessante. Dans les heures qui suivent l'exuviation de la larve, les cellules de régénération se divisent en plus grand nombre, leur différenciation augmentant le nombre de cellules fonctionnelles, ce qui permet un allongement du mésentéron. Durant l'intermue de nombreuses cellules fonctionnelles vont ensuite être progressivement éliminées et remplacées par d'autres cellules issues des nids de régénération dans lesquels les mitoses peuvent être plus ou moins abondantes (elles sont relativement nombreuses, par exemple, à la suite de la prise de nourriture).

S'il est difficile de déterminer la part exacte des facteurs qui interviennent lors de la prolifération et de la différenciation cellulaires au cours d'une intermue larvaire banale, il en va différemment au dernier stade larvaire, caractérisé par la métamorphose. Dans ce cas les phénomènes de prolifération et de différenciation prennent une telle ampleur qu'ils s'étalent sur plusieurs jours et intéressent la quasi-totalité des cellules de régénération. La différenciation de trois types d'épithéliums à partir de cellules de même origine rend possible une étude expérimentale qui doit permettre de tirer des conclusions sur le déterminisme de la métamorphose mésentérique. En d'autres termes, une telle étude doit nous renseigner sur le déterminisme des phénomènes de prolifération, de différenciation et de dégénérescence cellulaire dans l'intestin moyen, au cours de la métamorphose. En effet, les phénomènes suivants se succèdent au dernier stade larvaire (figure 1) :

- une augmentation très importante du nombre de cellules de régénération qui va de 300 à 500 cellules par coupe transversale jusqu'à près de 3000.
- la différenciation du tissu réticulé
- la différenciation de l'épithélium imaginal
- la dégénérescence, puis le rejet en bloc de l'épithélium larvaire et du tissu réticulé.

Ces différentes manifestations de la métamorphose mésentérique ne se présentant qu'au cours de la dernière intermue, il semble évident qu'elles sont en relation avec le contexte hormonal propre à cette étape du développement.

Pour tenter d'élucider le déterminisme de ces phénomènes nous avons cherché à perturber le taux des hormones impliquées dans la métamorphose, l'hormone juvénile et l'ecdysone. Nous avons à notre disposition un mimétique de l'hormone juvénile, l'éther méthylique de farnesol (E.M.F.), des laboratoires HOFFMANN-LAROCHE, de l' $\alpha$ -ecdysone des mêmes laboratoires et des laboratoires SIEMES et enfin

de la  $\beta$ -ecdysone de MANN Research Laboratories. Toutefois, avant d'aborder les résultats obtenus par l'injection de ces hormones il était important de connaître le taux des hormones endogènes au cours de la dernière intermue.

1) Taux des hormones au cours du dernier stade larvaire

a) Hormone juvénile

Aucun travail n'a été fait chez *Aeshna cyanea* pour déterminer le taux d'hormone juvénile présent au cours du dernier stade. Il n'en demeure pas moins qu'il est évident que ce taux diminue nettement en tout début d'intermue pour devenir sensiblement nul pendant la majeure partie du stade.

b) Ecdysones ( $\alpha + \beta$ )

Grâce à l'emploi du test *Calliphora*, SCHALLER et HOFFMANN (1973) ont montré l'existence d'un pic d'activité lié à l'ecdysone qui se situe au dernier tiers de l'intermue d'*Aeshna cyanea*.

La récente mise au point de techniques de dosage (dosages radioimmuno-  
logiques ou méthode de couplage chromatographie en phase gazeuse-fragmentométrie de masse) plus sensibles et plus spécifiques que le test *Calliphora* ont démontré la présence de deux pics d'ecdysone chez des Insectes holo-ou hétérométaboles (*Pieris brassicae* : LAFONT et coll., 1974 ; *Locusta migratoria* : BOUTHIER et coll., 1975 ; *Tenebrio molitor* : DELBECQUE et coll., 1975 ; *Manduca sexta* : TRUMAN et RIDDIFORD, 1974 ; BOLLENBACHER et coll., 1975), le premier pic étant moins élevé que le second.

Si le pic hormonal présent au dernier tiers de l'intermue d'*Aeshna cyanea* paraît certain, les résultats négatifs obtenus durant les 2 premiers tiers de l'intermue doivent être interprétés avec beaucoup de prudence.

2) Principe de la manipulation

Il s'agit d'injecter latéro-dorsalement entre le 4<sup>e</sup> et le 5<sup>e</sup> tergite et à différents moments qui suivent la dernière ecdysis larvaire soit :

- une solution de 10 $\mu$ l d'E.M.F. dans de l'huile de tournesol à une concentration variant de 0,5 à 10 %. L'E.M.F. employé, bien que n'étant qu'un mimétique de l'hormone juvénile en a les propriétés (KRISHNAKUMARAN et SCHNEIDERMAN, 1963, 1965 ; SCHNEIDERMAN et coll., 1965 ; SCHALLER et DEFOSSEZ, 1974). Notons aussi que le fait de diluer l'E.M.F. dans l'huile garantit son efficacité (GILBERT et SCHNEIDERMAN, 1960 ; WIGGLESWORTH, 1963, 1969 a et b).

- une dose de 10 à 80 $\mu$ g de  $\beta$ -ecdysone. La solution de base d' $\alpha$ -ecdysone est de 0,2 ou 1 mg par ml de solution d'éthanol à 10 %, celle de  $\beta$ -ecdysone de 0,5 ou de 1 mg par ml de la même solution.

Les animaux ont été sacrifiés dans les 24 heures qui suivent la coloration des griffes, ceci pour plusieurs raisons :

1 - chez les témoins la coloration des griffes apparaît au 17<sup>e</sup> jour de l'intermue, au moment où s'édifie l'épithélium imaginal. Nous avons admis que ce critère de morphologie externe, facile à observer, apparaît avec le même synchronisme chez les expérimentés.

2 - il a été impossible de maintenir en "survie" les animaux injectés de  $\beta$ -ecdysone au delà de 24 heures après la sclérification des griffes. Par contre, des animaux injectés des mêmes doses d' $\alpha$ -ecdysone ont pu être sacrifiés plus tardivement.

Par ailleurs, les larves d'*Aeshna cyanea* se prêtent assez aisément à l'ablation de leurs glandes ventrales ou glandes de mue (DEROUX-STRALLA, 1948 ; SCHALLER, 1960.) supposées, par comparaison avec d'autres Insectes, être la source de l' $\alpha$ -ecdysone (CHINO et coll., 1974 ; KING et coll., 1974 ; BORST et ENGELMAN, 1974 ; HOFFMANN et coll., 1975 ; BOLLENBACHER et coll., 1976) ; la sécrétion de l' $\alpha$ -ecdysone étant elle même, par l'intermédiaire de l'AMP cyclique (VEDECKIS et coll., 1976), sous le contrôle de l'hormone prothoracotrope des cellules neuro-sécrétrices du cerveau. Les larves permanentes obtenues après ablation des glandes ventrales nous ont permis d'étudier le rôle de celles-ci dans la métamorphose mésentérique et surtout de constater l'effet d'injections isolées d' $\alpha$ - (10 ou 60 $\mu$ g) ou de  $\beta$ -ecdysone (0,1, 1, 10 et 100 $\mu$ g).

## I - RÔLE DE L'HORMONE JUVENILE : EFFET DE L'INJECTION DE L'E.M.F.

Le contrôle hormonal de la métamorphose mésentérique d'*Aeshna cyanea* a fait l'objet d'une publication antérieure (ANDRIES, 1975 b) dans laquelle ont été rapportés non seulement les effets de l'E.M.F., mais également ceux de l' $\alpha$ - et de la  $\beta$ -ecdysone.

Avant de rappeler les effets de l'E.M.F. sur le mésentéron, soulignons d'abord qu'au point de vue de la morphologie externe nos données (figure 17) concordent sensiblement avec celles de SCHALLER et DEFOSSEZ (1974) qui, opérant sur des larves du dernier stade, ont précisé les résultats que l'on obtient en fonction de la dose et du moment de l'injection.

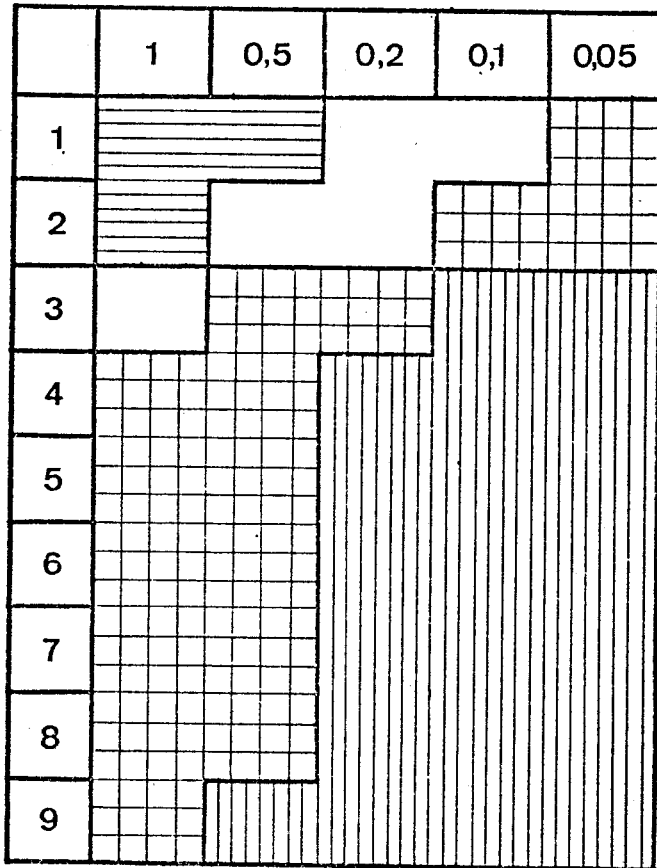
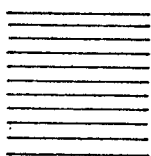
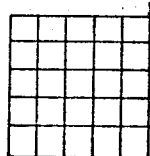


Figure 17 : Résultats d'injection d'E.M.F. sur la morphologie externe de larves du dernier stade, en fonction de la dose (en  $\mu$ l, en abscisse) et du moment de l'injection (en jours, en ordonnée).



larve surnuméraire



adultoïde



adulte

Trois catégories d'animaux ont ainsi été mis en évidence : des larves surnuméraires, des adultoïdes, formes présentant à la fois des caractères larvaires et imaginaires et des adultes de morphologie imaginaire typique.

En ce qui concerne les effets de l'E.M.F. sur le mésentéron, nous pouvons distinguer, suivant la dose utilisée et le jour de l'injection, deux catégories d'animaux : des larves surnuméraires et des animaux en cours de métamorphose.

1) Les larves surnuméraires

Ce sont les mêmes doses d'E.M.F. injectées dans des conditions identiques qui sont responsables de l'inhibition de la métamorphose, tant au niveau du mésentéron que de la morphologie externe.

Dans l'intestin moyen on note l'absence :

1 - de crise mitotique (des mitoses isolées sont cependant observables, les cellules néoformées assurant le remplacement des cellules usées de l'épithélium larvaire)

2 - de différenciation des cellules du tissu réticulé

3 - de genèse d'un épithélium imaginal

4 - de dégénérescence des cellules épithéliales larvaires

2) Les animaux en métamorphose

. Le tissu réticulé

Tous les animaux, qui, morphologiquement, correspondent à des adultoïdes ou à des adultes, présentent au moins une ébauche de tissu réticulé (Pl. 32, fig. b, c et d). Chez les adultoïdes, celui-ci comprend un nombre de cellules plus ou moins important qui est en relation avec la dose et le moment de l'injection de l'E.M.F. Plus l'injection est précoce et importante, plus le tissu réticulé est inhibé.

. L'épithélium imaginal

Comme les animaux ont été sacrifiés dans les 24 heures qui suivent la coloration des griffes, elle-même concomitante du début de la genèse de l'épithélium imaginal des témoins, ce dernier n'apparaît jamais complètement constitué. Fréquemment il ne se présente qu'à l'état d'ébauche (Pl. 32, fig. a) ou complètement indifférencié.

. L'épithélium larvaire

Il a toutes les caractéristiques de celui des témoins sacrifiés au moment de la coloration des griffes, les signes de dégénérescence au niveau ultrastructural n'étant que peu ou pas manifestes.

### CONCLUSIONS

1 - Il est possible d'inhiber la métamorphose de l'intestin moyen par une injection précoce d'E.M.F. au début du dernier stade larvaire. Des doses moins importantes ou des injections plus tardives n'empêchent pas l'apparition de l'épithélium imaginal et du tissu réticulé dont l'importance est modulée par ces deux paramètres expérimentaux.

Une telle conclusion est en accord avec les résultats obtenus après implantation de corpora allata ou après injection de mimétiques de l'hormone juvénile chez les Lépidoptères (*Galleria mellonella* : PIEPHO, 1963, PIEPHO et coll., 1964 ; SEHNAL, 1968 ; SEHNAL et MEYER, 1968 ; PLANTEVIN, 1975 ; *Hyalophora cecropia* : RIDDIFORD, 1972) et les Coléoptères (*Tenebrio molitor* : EMMERICH, 1968 ; SOCHA et SEHNAL, 1972). Une seule note discordante est amenée par BHASKARAN (1972) qui a constaté que l'intestin moyen de *Sarcophaga bullata* n'est pas affecté par l'hormone juvénile. Soulignons cependant qu'il ne s'agit que d'une étude morphologique et, comme le remarque justement l'auteur, qu'il est possible que l'application de l'hormone juvénile ait été trop tardive.

2 - L'injection de l'E.M.F. empêche le déroulement de la crise mitotique affectant les cellules de régénération dont la multiplication est nécessaire à la genèse du tissu réticulé et de l'épithélium imaginal. Comme nous le verrons (chapitre V, paragraphe II), les divisions cellulaires, puis leur différenciation imaginaire, sont sous contrôle de l'ecdysone.

Il semble donc que l'un des effets principaux de l'hormone juvénile est d'empêcher les événements médiatisés par l'ecdysone, ce qui semble être le cas pour les synthèses d'ADN (LOGAN et coll. 1975), mais aussi pour les synthèses d'ARN et de protéines (PATEL et MADHAVAN, 1969 ; CONGOTE et coll., 1970 ; SEKERIS, 1972), les synthèses cuticulaires (OBERLANDER et TOMBLIN, 1972 ; SOCHA et SEHNAL, 1973), la différenciation ovarienne (LAVERDURE, 1971), l'évagination des disques imaginaires (CHIHARA et coll., 1972) ou l'activité des puffs chromosomiques (LEZZI, 1974). Notons cependant que, pour certains auteurs, l'hormone juvénile exercerait un effet inhibiteur au niveau des synthèses d'ADN (ZLOTKIN et LEVINSON, 1968 ; RAO et KRISHNAKUMARAN, 1974 ; VIJVERBERG et GINSEL, 1976).

## II - RÔLE DE L'ECDYSONE

La réponse de la larve à l'injection d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone peut être observée en premier lieu au niveau du tégument. C'est d'ailleurs la réponse tégumentaire (la coloration des griffes) qui nous a servi de point de repère pour l'étude des effets de l'ecdysone sur l'intestin moyen.

Notons ici que le délai séparant le moment de l'injection hormonale de celui de la coloration des griffes dépend de l'ecdysone injectée et du jour de l'injection comme le démontrent les valeurs du tableau ci-dessous obtenues à partir de 36 injections d' $\alpha$ -ecdysone et de 47 de  $\beta$ -ecdysone.

Jour de l'injection.....	0	1	3	5	7	9
Délai de sclérisation des griffes (en jours):	Injection de 10 à 80 $\mu$ g d' $\alpha$ -ecdysone					
	7,8	8,1	8,4	9,2	9,6	10
	Injection de 1 à 80 $\mu$ g de $\beta$ -ecdysone					
	6,3	6,4	6,6	7,1	6,7	6,9

De la lecture de ce tableau nous pouvons conclure :

1 - que la sclérification des griffes est plus précoce après injection de  $\beta$ -ecdysone qu'après celle d' $\alpha$ -, et ceci quelle que soit la dose injectée et le moment de l'injection. Le délai entre le moment de l'injection et l'apparition de la sclérification des griffes est, en général, inférieur à 7 jours chez les larves injectées de  $\beta$ -ecdysone, alors qu'il est voisin de 8 jours et demi après une injection d' $\alpha$ -ecdysone.

2 - que, malgré certaines variations individuelles, le délai de réponse est plus important lorsque l'injection est plus tardive. Ceci est particulièrement net lorsqu'il s'agit d'une injection d' $\alpha$ -ecdysone.

L'effet de l'ecdysone au niveau de la morphologie externe a fait l'objet d'une publication récente (ANDRIES et MOUZE, 1975) dont nous ne rappellerons ici que les points les plus importants, à savoir :

1 - que des injections d'ecdysone ( $\alpha$  ou  $\beta$ , indifféremment), au jour 0 et 1 de la dernière intermue, engendrent des animaux dont tous les organes étudiés (labium, épines abdominales, cercoïdes, cerques, appendice dorsal), à l'exception des ailes, sont de nature larvaire.

2 - que des injections pratiquées après le premier jour sont à l'origine d'adultoïdes dont les caractères imaginaires sont d'autant plus accusés que l'injection a été pratiquée plus tardivement au cours de l'intermue.

3 - que l'obtention d'adultes parfaits n'a toutefois pas été possible, malgré des injections réalisées plus tardivement (jusqu'au 9e jour de l'intermue).

4 - que les effets enregistrés après l'injection de  $\beta$ -ecdysone sont plus rapides que ceux obtenus après administration d' $\alpha$ -ecdysone.

1) Induction expérimentale de la multiplication cellulaire dans les nids de régénération

L'injection d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone à des larves d'*Aeshna cyanea* du dernier stade, pratiquée en début d'intermue, est susceptible de provoquer la genèse anticipée d'un épithélium imaginal, le tissu réticulé étant, quant à lui, fréquemment réduit (figure 18).

Dans nos conditions expérimentales, l'épithélium imaginal renferme de 1200 (cas d'une injection de  $\beta$ -ecdysone) à 2500 cellules (cas d'une injection d' $\alpha$ -ecdysone) par coupe transversale, ce qui signifie que les 300 à 500 cellules de nature embryonnaire, présentes dans les nids de régénération au moment de l'injection, se sont divisées activement. A la lumière de ces résultats, et en utilisant d'autres protocoles expérimentaux, nous serons en mesure d'apporter des conclusions sur le rôle de l'ecdysone dans les synthèses d'ADN, prélude à toute augmentation du nombre des cellules de régénération.



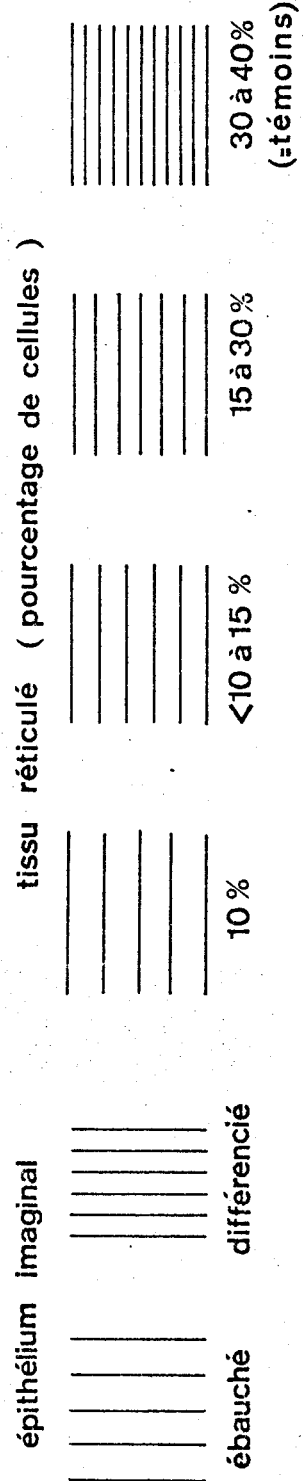
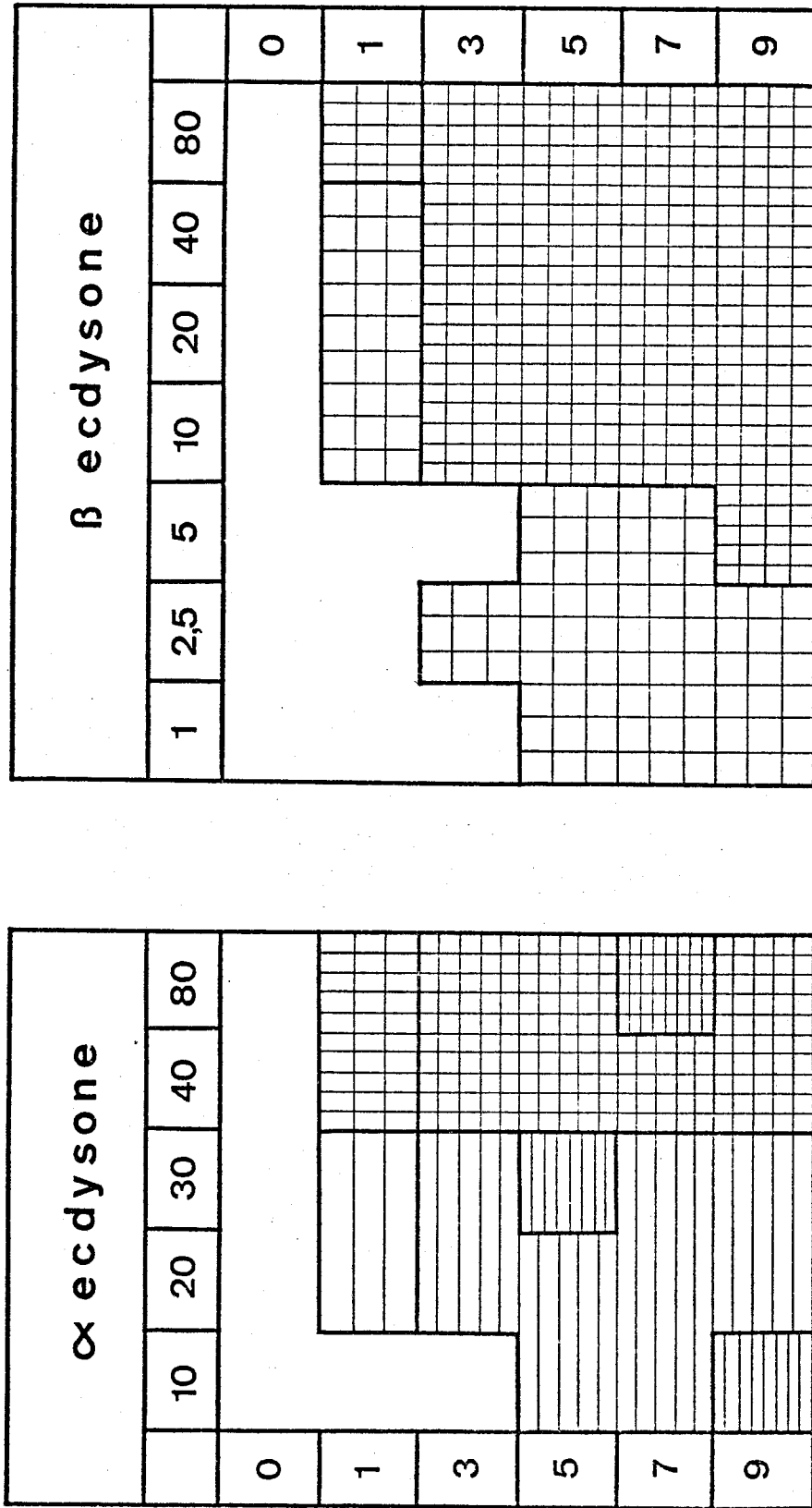


Figure 18 : Réponse du mésentéron en fonction de la dose d' $\alpha$ - et de  $\beta$ -ecdysone (en  $\mu\text{g}$ , en abscisse) et du moment de leur injection (en jours, en ordonnée).



Trois modalités expérimentales ont été retenues :

. La première concerne des larves devenues permanentes après ventralectomie. Les comptages du nombre de cellules par coupe transversale chez les témoins et chez les opérés doit nous prouver le caractère indispensable de l'ecdysone à la réalisation de la crise mitotique, prélude à toute métamorphose mésentérique.

. La deuxième concerne des larves du dernier stade injectées, avant le moment de la crise mitotique, non seulement d'ecdysone, mais aussi de thymidine 3H. Cette manipulation doit nous permettre de calculer le pourcentage de cellules de régénération engagées dans les synthèses d'ADN après injection d'ecdysone.

. La troisième s'applique à des larves de l'antépénultième ou de l'avant-dernier stade. Elle doit mettre en relief le rôle de l'ecdysone dans les phénomènes de multiplication en dehors de la métamorphose.

a) Effet de l'ablation des glandes ventrales et de leur réimplantation

Il est possible d'inhiber la métamorphose par ablation des glandes ventrales en début d'intermue du dernier stade (SCHALLER, 1960). Dans ce cas le nombre de cellules de régénération ne dépasse jamais les valeurs observées chez les animaux du dernier stade sacrifiés dans les 6 premiers jours de l'intermue avant le début de la crise mitotique (figure 19), ainsi que l'a montré une étude antérieure (SCHALLER et ANDRIES, 1970 a).

L'implantation de glandes ventrales à des larves permanentes se répercute très rapidement sur la multiplication des cellules de régénération. C'est ce qu'ont montré (SCHALLER et ANDRIES, 1970 b) des larves permanentes de l'avant-dernier stade âgées de près de 6 mois et sacrifiées 24 ou 48 heures après l'opération. On constate en effet une élévation de l'index mitotique, à savoir le rapport du nombre de cellules en méta- ou anaphase sur le nombre total de cellules de régénération, (de  $40 \text{ à } 50 \cdot 10^{-4}$  au lieu de  $12 \text{ à } 30 \cdot 10^{-4}$ ) et une augmentation du nombre de cellules de régénération (il dépasse les 500 par coupe transversale chez les animaux sacrifiés 2 jours après l'implantation).

L'implantation de glandes ventrales reconnues comme la source de l' $\alpha$ -ecdysone (si l'on se réfère aux travaux faits *in vitro* : CHINO et coll., 1974 ; ROMER et coll., 1974 ; KING et coll., 1974 ; BORST et ENGELMAN, 1974 ; HOFFMANN et coll., 1975 ; BOLLENBACHER et coll., 1976) est donc responsable de l'augmentation du nombre des mitoses et de l'accroissement du nombre de cellules de régénération.

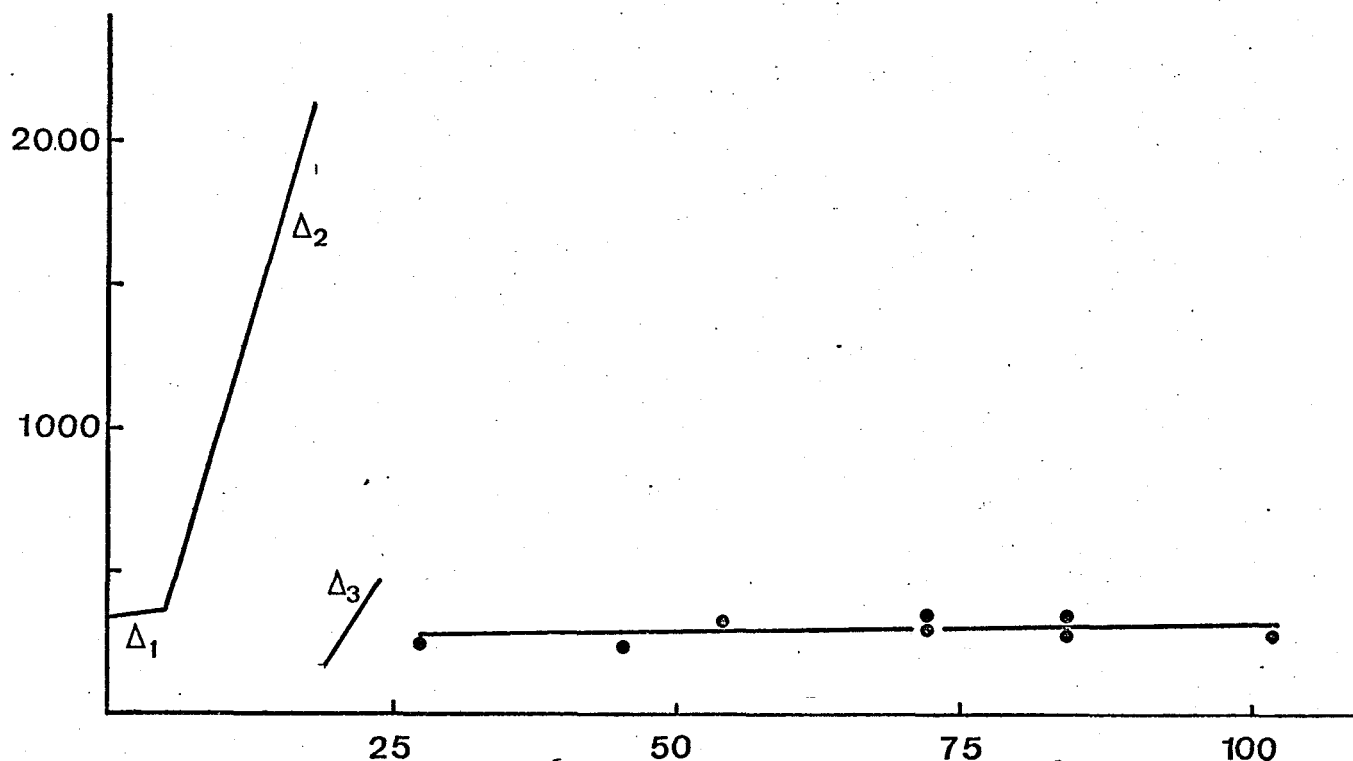


Figure 19 : Nombre de cellules de régénération par coupe transversale du mésentéron de larves permanentes du dernier stade (points noirs) sacrifiées à des moments variés (temps en jours) après l'ablation des glandes ventrales. Les droites  $\Delta_1$ ,  $\Delta_2$  et  $\Delta_3$  correspondent aux larves témoins chez lesquelles s'édifie l'épithélium imaginal (cf figure 12).

b) Effet de l'injection simultanée de  $\beta$ -ecdysone et de thymidine 3H en début d'intermue

Six larves du dernier stade âgées respectivement de 42 à 88 heures, soumises à une injection simultanée de 20 $\mu$ g de  $\beta$ -ecdysone et de 5 $\mu$ l de thymidine 3H, ont été sacrifiées 7 jours plus tard. Dans ces conditions, le tissu réticulé est très réduit et l'épithélium imaginal au moins ébauché.

95 % des cellules de l'épithélium imaginal et du tissu réticulé apparaissent marquées (Pl. 37, fig. b), alors que 10 % au plus des cellules de l'épithélium larvaire, soit sensiblement une centaine d'entre elles, le sont.

L'injection de  $\beta$ -ecdysone stimule donc les synthèses d'ADN de la grande majorité des cellules de régénération. Cette stimulation interviendrait dans des délais très rapprochés si l'on admet que la durée de vie de la thymidine exogène est de moins de 6 heures (SELMAN et KAFATOS, 1974).

Le fait qu'une centaine de cellules de l'épithélium larvaire soient marquées n'est guère surprenant si l'on sait que cet épithélium est encore fonctionnel au moment de l'injection. Il est donc normal qu'il existe un remplacement de ses cellules et ce ne serait qu'ultérieurement, au moment de la différenciation du tissu réticulé et de l'épithélium imaginal, que cesserait la restauration de l'épithélium larvaire.

c) Effet de l'injection de  $\beta$ -ecdysone à des larves jeunes non impliquées dans la métamorphose

29 larves de l'antépénultième (A.P.S.) ou de l'avant-dernier stade (A.D.S.) ayant jeûné pendant 4 jours ont été injectées respectivement de 2,5 ou de 15  $\mu$ g de  $\beta$ -ecdysone et sacrifiées 24 ou 48 heures plus tard. Le poids moyen de la larve dans chacun de ces stades est de 0,25 g et 0,50 g respectivement.

Des comptages de figures méta- et anaphasiques ont été réalisées sur 20 coupes sériées et le nombre moyen de cellules de régénération calculé à partir de 3 coupes prises parmi les vingt. Les valeurs de l'index mitotique sont consignées dans le tableau suivant :

Stade larvaire	Ecdysone injectée en $\mu$ g/g poids frais	Valeur de l'index mitotique		Témoins
		24 h. après injection	48 h. après injection	
APS	10	$14,7 \cdot 10^{-4}$	$33,5 \cdot 10^{-4}$	-
ADS	30	$29,5 \cdot 10^{-4}$	$35,9 \cdot 10^{-4}$	$15,6 \cdot 10^{-4}$

Il en résulte que :

1 - les valeurs enregistrées chez les expérimentés sacrifiées 48 heures après l'injection diffèrent significativement, au risque de 1%, des valeurs obtenues chez les témoins ou chez les larves de l'antépénultième stade sacrifiées 24 heures après l'injection.

2 - les valeurs de l'index mitotique des larves des deux stades successifs sacrifiées 24 heures après l'injection ne diffèrent pas significativement de celles des témoins choisis parmi les A.D.S. Pour les larves de l'avant dernier stade comparées aux témoins de même stade, il y a 12 % de chances pour que l'écart enregistré puisse se produire sous l'influence des seules fluctuations fortuites. L'écart observé entre les larves de l'antépénultième et celles de l'avant-dernier

stade est difficilement explicable. Peut être est-il une conséquence du taux de  $\beta$ -ecdysone trois fois plus élevé à poids égal à l'avant dernier stade.

### CONCLUSION

Les résultats obtenus, autant par ablation ou réimplantation de glandes ventrales, que par injection d'ecdysone ( $\alpha$  ou  $\beta$ ), nous montrent que cette hormone stimule les synthèses d'ADN des cellules de régénération et, par voie de conséquence, leur multiplication dans l'intestin moyen d'*Aeshna cyanea*.

Cette stimulation qui s'opère non seulement au dernier stade, mais aussi lors d'une intermue banale concerne, du moins lors de la métamorphose, la quasi-totalité des cellules de régénération.

Ces résultats ne sont guère très surprenants, puisque le rôle longtemps controversé des ecdysones dans les synthèses d'ADN est désormais admis par la plupart des auteurs, qu'il s'agisse de l' $\alpha$ - (OBERLANDER, 1969, a et b, 1972 ; COURGEON, 1972 ; LOGAN et coll., 1975), de la  $\beta$ -ecdysone (CHIHARA et coll., 1972 ; OHMORI et OHTAKI, 1973 ; LOGAN et coll., 1975) ou encore l'inokostérone (BULLIERE et BULLIERE, 1973). Notons qu'antérieurement plusieurs auteurs avaient pressenti que l'ecdysone était capable de stimuler les synthèses d'ADN *in vivo* (BERREUR, 1965 b ; KRISHNAKUMARAN et coll., 1967).

En fait, si tous les problèmes ne sont pas encore résolus et si des incertitudes demeurent sur le rôle de l'ecdysone dans la synthèse d'ADN c'est sans doute à cause de données incomplètes sur le seuil hormonal, le taux d'excrétion de l'ecdysone ou la compétence des tissus effecteurs. Ainsi, il a été montré que des concentrations élevées de  $\beta$ -ecdysone ont un effet inhibiteur, des concentrations faibles un effet stimulateur sur les disques alaires de *Galleria mellonella* (OBERLANDER, 1972). Par ailleurs la  $\beta$ -ecdysone peut stimuler, inhiber ou ne pas modifier le taux des synthèses d'ADN des disques imaginaires alaires et de pattes de *Calliphora erythrocephala* suivant le moment où ces organes sont prélevés (VIJVERBERG, 1973).

#### 2) Induction expérimentale de la métamorphose mésentérique

Il importe à présent de savoir dans quelles conditions les processus de la métamorphose mésentérique qui, à la fin du dernier stade larvaire, aboutissent à la formation de l'épithélium imaginal et au rejet du tissu réticulé et de l'épithélium larvaire, peuvent être soit hâtés par l'injection d'ecdysone à des larves normales, soit provoqués par la même injection chez des larves permanentes. A cet effet, la morphogénèse mésentérique et la dégénérescence de l'épithélium larvaire

doivent être étudiés en fonction du jour de l'injection, de la dose administrée et de la nature de l'ecdysone ( $\alpha$  ou  $\beta$ ) injectée.

a) Morphogenèse mésentérique

$\alpha$ -Chez des larves normales injectées d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone en début d'intermue

Ainsi que l'indique la figure 18 la formation du tissu réticulé et celle de l'épithélium imaginal que l'on observe à la suite de l'administration d'ecdysone est fonction des trois paramètres déjà cités.

. Genèse de l'épithélium imaginal

+ Influence du jour de l'injection

Une dose suffisamment forte d' $\alpha$ - (40 ou 80 $\mu$ g) ou de  $\beta$ -ecdysone ( $\geq 10\mu$ g) permet la réalisation d'un épithélium imaginal lorsqu'elle est injectée à partir du jour 1. La même injection au jour 0 permet seulement l'accroissement du nombre de cellules des nids de régénération. A noter cependant qu'un animal sacrifié 1 jour et demi après la coloration des griffes et ayant reçu 80 $\mu$ g d' $\alpha$ -ecdysone au jour 0 montre au sein de quelques rares nids de régénération un alignement de cellules préfigurant la genèse d'un épithélium imaginal (Pl. 33, fig. a).

+ Influence de la dose administrée

Seules les doses d' $\alpha$ -ecdysone égales ou supérieures à 40 $\mu$ g et les doses de  $\beta$ -ecdysone supérieures à 5 $\mu$ g permettent la réalisation d'un épithélium imaginal (Pl. 33, fig. b et c). Notons cependant que des injections de 1 à 5  $\mu$ g de  $\beta$ -ecdysone réalisées du 5e ou 9e jour de l'intermue permettent un début de différenciation de l'épithélium imaginal (Pl. 33, fig. e).

+ Influence de la nature de l'ecdysone ( $\alpha$  ou  $\beta$ )

La lecture de la figure 18 montre qu'un épithélium imaginal différencié peut être obtenu avec des doses plus faibles de  $\beta$ - que d' $\alpha$ -ecdysone. La différence de nature de l'hormone injectée se répercute aussi sur l'intensité de la prolifération et de la différenciation. En effet, le nombre de cellules imaginaires observé par coupe transversale est :

	Valeur maximale	Valeur moyenne
$\alpha$ -ecdysone	2545	1758
$\beta$ -ecdysone	1135	983

+ Aspect cytologique des cellules de l'épithélium imaginal

Les cellules de l'épithélium imaginal induit par une injection d'ecdysone ne diffèrent pas, au point de vue ultrastructural, de celles de l'épithélium se constituant lors d'une métamorphose non perturbée. Ainsi, entre autres critères de différenciation, l'adjonction d'une couche de matériel fibrillaire à la lame basale s'observe chez les animaux expérimentés dont l'épithélium imaginal est formé. Toutefois il est certain que le degré de différenciation, illustré en particulier par la genèse des microvillosités à l'apex des cellules (Pl. 34, fig. a et Pl. 35, fig. c), varie d'un animal à un autre.

### CONCLUSIONS

- 1 - la genèse d'un épithélium imaginal peut être obtenue après injection d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone lorsque celle-ci a lieu au delà du jour 0.
- 2 - l'édification d'un épithélium imaginal nécessite des doses plus fortes d' $\alpha$ - que de  $\beta$ -ecdysone.
- 3 - le nombre de cellules de l'épithélium imaginal est près de 2 fois plus élevé après injection d' $\alpha$ -ecdysone qu'après administration de  $\beta$ -ecdysone.

### DISCUSSION

A la suite de la multiplication cellulaire, les cellules de régénération nouvellement formées se différencient, soit dans le sens nymphal (genèse du tissu réticulé), soit dans le sens imaginal (genèse de l'épithélium imaginal), ce qui implique, du moins dans la réalisation de l'épithélium de la future imago, un processus de croissance cellulaire et de multiplication des organites, conditionné par la synthèse d'ARN au niveau nucléaire.

D'après nos résultats il paraît évident que c'est l'ecdysone qui est responsable de la genèse de l'épithélium imaginal et des synthèses qui la précèdent, d'autant que chez les témoins l'épithélium imaginal s'édifie précisément lors du pic atteint par le taux d'ecdysone au dernier tiers de la dernière intermue (SCHALLER et HOFFMANN, 1973). De plus, il semble bien que la  $\beta$ -ecdysone soit plus active que l' $\alpha$ -, ne serait-ce que parce que la réponse obtenue après injection de  $\beta$ -ecdysone est plus rapide (7 jours) que celle observée après administration d' $\alpha$ -ecdysone (8 à 10 jours). Il serait tentant de penser que l' $\alpha$ -ecdysone doit être transformée

en  $\beta$ -ecdysone pour permettre la réalisation de l'épithélium imaginal, l' $\alpha$ -ecdysone correspondant dans ce cas à une prohormone (MORIYAMA et coll., 1970). La grande rapidité avec laquelle s'opère cette transformation chez *Aeshna cyanea* (SCHALLER et coll., 1975) ne permet cependant pas d'expliquer le décalage entre les effets de l' $\alpha$ - et de la  $\beta$ -ecdysone. Le fait qu'il faille plus de 4 fois plus d' $\alpha$ -ecdysone que de  $\beta$ - pour obtenir un résultat identique peut être relié au métabolisme de l' $\alpha$ -ecdysone en début d'intermue. Selon SCHALLER et coll., 1975 une grande partie de l' $\alpha$ -ecdysone injectée en début d'intermue à des larves d'*Aeshna cyanea* est en effet excrétée sans avoir été transformée en  $\beta$ -ecdysone. Il en est de même chez *Locusta migratoria* (HOFFMANN et coll., 1974) et chez *Calliphora erythrocephala* (YOUNG, 1976) en début de dernier stade larvaire. Notons également que chez l'aeshne, l'intestin moyen est l'un des sites privilégiés de la formation des conjugués inactifs (SCHALLER et HOFFMANN, 1975).

Par ailleurs il existe dans la littérature de très nombreuses indications sur le rôle des ecdysones dans les synthèses ribonucléoprotéiques ou protéiques. Nous ne citerons que quelques références de travaux effectués *in vivo* (SEKERIS et coll., 1965 ; NEUFELD et coll., 1968 ; PATEL et MADHAVAN, 1969 ; ARKING et SHAAYA, 1969 ; SAHOTA et MANSINGH, 1970 ; APPLEBAUM et GILBERT, 1972), *in vitro* (PATEL et MADHAVAN, 1969 ; WYATT et WYATT, 1971 ; RAIKOV et FRISTROM, 1971 ; APPLEBAUM et GILBERT, 1972 ; OHMORI et OHTAKI, 1973 ; FRISTROM et coll., 1974 ; YUND et FRISTROM, 1975) ou à partir de noyaux isolés du tissu adipeux (CONGOTE et coll., 1969 ; SEKERIS, 1972) ou des glandes salivaires (ALONSO, 1972). Une mention spéciale doit être faite au travail de SAHOTA et MANSINGH (1970) qui démontra que l'ecdysone exogène possède un effet stimulateur sur les synthèses d'ARN et de protéines au niveau de l'intestin moyen d'*Antheraea pernyi*.

L'une des fonctions les mieux établies de l'ecdysone est celle de stimuler ou de déclencher des synthèses d'ARN, probablement messagers et de nature spécifique (CLEVER et ROMBALL, 1966 ; MARMARAS et SEKERIS, 1972 ; BAR-ZEV et KAULENAS, 1975), qui, à leur tour commanderont les synthèses protéiques, dont certaines, spécifiques (RUH et coll., 1974) permettent la croissance et la différenciation cellulaire. Il est incontestable que la forme la plus active dans ces processus est la  $\beta$ -ecdysone. Ce sont cependant les ARN ribosomiaux qui représentent la majeure partie des ARN nouvellement synthétisés (PETRI et coll., 1971), ceux-ci possédant une activité translationnelle plus importante que les ribosomes présents avant le traitement hormonal et étant responsables de l'accroissement des synthèses protéiques (SIEGEL et FRISTROM, 1974).



En résumé, et en nous basant sur nos résultats et sur ceux d'autres auteurs, il est vraisemblable qu'un taux élevé de  $\beta$ -ecdysone assure la différenciation des cellules de régénération en cellules de l'épithélium imaginal grâce à la synthèse d'ARN tant messagers que ribosomiaux.

. Genèse du tissu réticulé

+ Influence du jour de l'injection

L'examen du mésentéron d'animaux injectés au jour 0 et sacrifiés dans les 24 heures qui suivent la coloration des griffes ne permet pas, quelle que soit la dose d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone, de constater l'existence de cellules du tissu réticulé (Pl. 34, fig. b). Font toutefois exception 3 animaux injectés respectivement de 10, 40 et 80  $\mu$ g d' $\alpha$ -ecdysone au jour 0 et maintenus en survie un jour et demi après la coloration des griffes chez lesquels il existe quelques cellules du tissu réticulé au dessus des nids de régénération (Pl. 33, fig. d). Le nombre, toujours très faible, de 30 à 60 cellules par coupe transversale, au lieu de plus d'un millier chez les témoins, ne représente cependant que 2 à 4 % du nombre total des cellules de régénération.

L'injection plus tardive d'ecdysone permettra la réalisation d'un tissu réticulé plus ou moins important. A titre d'exemple voici les pourcentages du nombre de cellules du tissu réticulé par rapport au nombre total de cellules issues des nids de régénération, obtenus pour des injections de 10 à 30  $\mu$ g d' $\alpha$ -ecdysone réalisées au :

- jour 1 : 2 à 9 % (Pl. 34, fig. d)
- jour 3 : 15 à 23 %
- jour 5 : 15 à 34 % (Pl. 34, fig. c)
- jour 7 : 15 à 33 %
- jour 9 : 38 % (1 seule valeur)

A titre de comparaison, ce pourcentage est de 30 à 40 % chez les témoins. Nous ne disposons pas de telles données après injection de  $\beta$ -ecdysone, car beaucoup d'animaux ont été sacrifiés pour une étude en microscopie électronique.

+ Influence de la dose administrée

Il ne semble pas qu'il y ait de très grandes différences à cet égard comme le montrent les valeurs en pourcentage du nombre de cellules du tissu réticulé après injection de  $\beta$ -ecdysone au 7<sup>e</sup> jour de l'intermue. Ce pourcentage oscille entre des limites assez faibles (7 à 16 %), les valeurs les plus fortes résultant de doses moyennes de  $\beta$ -ecdysone (10 ou 20  $\mu$ g), les plus faibles de doses nettement inférieures (1 ou 2,5  $\mu$ g).

+ Influence de la nature de l'ecdysone ( $\alpha$  ou  $\beta$ )

Le pourcentage de cellules du tissu réticulé (par rapport au nombre total de cellules issues des nids de régénération) est plus important après injection d' $\alpha$ -ecdysone qu'après administration de  $\beta$ -ecdysone. C'est ce que montre le tableau suivant qui indique le nombre de cellules par coupe transversale observé chez des animaux sacrifiés soit dans les 24 heures suivant la coloration des griffes (les 2 colonnes de gauche), soit de 1,5 à 4 jours après la coloration des griffes (colonne de droite).

	$\beta$ -ecdysone	$\alpha$ -ecdysone	$\alpha$ -ecdysone
Valeur maximale	245	296	634
Valeur moyenne	153	198	445

+ Aspect cytologique du tissu réticulé

L'aspect des cellules du tissu réticulé des animaux expérimentaux est caractéristique, qu'il s'agisse de la vacuolisation intense du cytoplasme, de la richesse en globules lipidiques de grande taille (Pl. 35, fig. a et b) ou de la pauvreté en ribosomes (Pl. 35, fig. a et c). En microscopie optique, l'éosinophilie du cytoplasme est très faible et les noyaux, de grande taille, sont caractérisés essentiellement par leur pauvreté en mottes chromatiniennes périphériques et par la petite taille de leur nucléole.

CONCLUSIONS

- le nombre de cellules du tissu réticulé est le plus élevé lorsque l'injection d' $\alpha$  - ou de  $\beta$ -ecdysone a lieu à partir du 5e jour de l'intermue.
- des injections réalisées au jour 0 ne permettent que la formation d'un nombre infime de cellules du tissu réticulé, cellules qui ne peuvent être reconnues comme telles que si le sacrifice des animaux a lieu plus d'un jour après la coloration des griffes (normalement la genèse du tissu réticulé apparaît 3 jours avant la coloration des griffes chez les témoins).

- le nombre de cellules du tissu réticulé est plus important après injection d' $\alpha$ -ecdysone qu'après administration de  $\beta$ -ecdysone.

$\beta$  - Chez les larves permanentes injectées d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone

Nous venons de voir que l'injection d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone assure la réalisation d'un épithélium imaginal lorsqu'elle est faite chez des larves du dernier stade (en dehors du jour 0). Le tissu réticulé obtenu, toujours plus ou moins réduit, présente cependant un nombre de cellules plus élevé après injection d' $\alpha$ -ecdysone qu'après administration de  $\beta$ -ecdysone. Ceci est particulièrement vrai pour des animaux injectés d'une dose d' $\alpha$ -ecdysone ne permettant pas la réalisation de l'épithélium imaginal ( $\leq 30\mu\text{g}$ ) et sacrifiés plus d'un jour après la coloration des griffes.

Deux explications peuvent être formulées :

1 - le nombre plus important de cellules du tissu réticulé obtenu après injection d' $\alpha$ -ecdysone peut être attribué au fait que l'épithélium imaginal se forme plus tardivement après injection d' $\alpha$ -ecdysone qu'après celle de  $\beta$ -ecdysone ; on peut admettre que la présence d'une dose massive de  $\beta$ -ecdysone court-circuiterait l'étape du tissu réticulé.

2 - la genèse du tissu réticulé est sous la dépendance de l' $\alpha$ -ecdysone, l' $\alpha$ -ecdysone ayant un rôle qui lui est propre comme cela semble être le cas lors de l'induction de certains puffs chromosomiques (CLEVER et coll., 1973), de l'évagination et de la différenciation de disques imaginaires (MANDARON, 1973) ou des synthèses d'ADN (COURGEON, 1972 ; OBERLANDER, 1972).

Pour tenter de répondre à cette alternative nous avons injecté soit de l' $\alpha$ -, soit de la  $\beta$ -ecdysone, à des larves dépourvues d'ecdysone par ablation de leurs glandes ventrales (SCHALLER et HOFFMANN, 1973).

. Injections de  $\beta$ -ecdysone

Des larves du dernier stade privées de leurs glandes de mue en tout début d'intermue sont injectées après un délai minimum d'une cinquantaine de jours d'une solution de  $\beta$ -ecdysone, puis sacrifiées après que la coloration des griffes soit manifeste.

Les effets au niveau de la morphologie externe ont été rapportés dans une publication antérieure (MOUZE et coll., 1973) dont nous ne rappellerons ici que les résultats essentiels. Une injection unique d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone à des larves permanentes rétablit dans des délais très brefs les phénomènes de la mue (apolyse et synthèse cuticulaire), mais n'est pas en mesure d'assurer une métamorphose normale de ces larves qui acquièrent des caractères adultes.

Les effets au niveau mésentérique sont fonction de la dose injectée.

+ Dose de 1 $\mu$ g

Les 7 larves permanentes injectées 50 à 103 jours après la ventralectomie donnent des résultats comparables entre eux : les nids de régénération sont plus volumineux que chez les témoins et semblent avoir fourni quelques cellules en voie de différenciation.

+ Dose de 10 $\mu$ g

Les 7 larves permanentes injectées 45 à 108 jours après l'ablation des glandes ventrales présentent, en deçà de l'épithélium larvaire plus ou moins rejeté dans la lumière intestinale, un nouvel épithélium de type imaginal (Pl. 37, fig. c) comme c'est le cas dans une métamorphose normale.

Le tissu réticulé est toutefois absent chez de tels animaux. Dans un seul cas nous avons pu remarquer quelques cellules à l'apex de l'épithélium en voie de constitution dont la pauvreté en ribosomes et l'aspect caryolytique du noyau suggéraient l'appartenance au tissu réticulé. Dans ce cas toutefois le nombre de ces cellules n'atteignait pas 5 % du nombre total des cellules en voie de différenciation (valeur moyenne : 1300 par coupe transversale).

De ces données il résulte donc que l'injection de  $\beta$ -ecdysone à des larves permanentes assure la réalisation d'un épithélium imaginal, alors qu'elle ne provoque pas la genèse du tissu réticulé et qu'elle ne permet une métamorphose normale au niveau tégumentaire.

. Injections d' $\alpha$ -ecdysone

Le principe de la manipulation est le même que précédemment et les effets sur la morphologie externe sont comparables à ceux observés après administration de  $\beta$ -ecdysone. Notons simplement qu'ici encore la coloration des griffes apparaît plus tardivement après injection d' $\alpha$ -ecdysone qu'après administration de  $\beta$ -ecdysone.

+ Dose de 10 $\mu$ g

L'injection de 10 g d' $\alpha$ -ecdysone permet uniquement l'accroissement du nombre de cellules de régénération (valeur moyenne : 1300 cellules par coupe transversale).

+ Dose de 60 $\mu$ g

Cette dose a été administrée à 4 larves permanentes du dernier stade 48 à 56 jours après la ventralectomie. Trois des larves sacrifiées quelques heures après la coloration des griffes présentaient chacune une réponse mésentérique différente en ce qui concerne le degré de différenciation de

l'épithélium imaginal. En effet, ce dernier est soit absent (les cellules de régénération très nombreuses formant cependant de gros nids), soit à l'état d'ébauche (Pl. 38, fig. c), soit enfin complètement constitué (Pl. 38, fig. b). Dans ce dernier cas il comporte plus de 2000 cellules par coupe transversale. Chez une quatrième larve, sacrifiée un jour après la sclérisation des griffes, l'épithélium imaginal est également constitué et l'épithélium larvaire refoulé dans la lumière intestinale.

En ce qui concerne le tissu réticulé, celui-ci n'est pas observable chez les larves permanentes injectées dont l'épithélium imaginal ne s'est pas différencié. Par contre, chez une larve où celui-ci est différencié on a pu dénombrer soixante dix cellules de type réticulé (Pl. 38, fig. b) par coupe transversale, soit 3 % du nombre total.

Bien que le nombre des animaux expérimentés soit faible, on constate qu'une dose unique de 10 $\mu$ g d' $\alpha$ -ecdysone ne permet que la multiplication des cellules de régénération, alors qu'une dose unique de 60 $\mu$ g d' $\alpha$ -ecdysone assure en plus la genèse d'un épithélium imaginal, mais ne permet pas un développement notable du tissu réticulé.

#### CONCLUSION

Compte tenu des différences dans les doses utilisées et du délai de réponse, nos résultats prouvent que l' $\alpha$ -ecdysone administrée aux larves permanentes a les mêmes effets que la  $\beta$ -ecdysone.

Du fait de l'absence d'ecdysones endogènes chez les larves permanentes d'*Aeshna cyanea* (SCHALLER et HOFFMANN, 1973) et de la rapide dégradation des ecdysones injectées (SCHALLER et coll., 1975) il semble que l'injection hormonale agisse comme un déclic d'une chaîne de réactions (ASHBURNER, 1973) responsable de la multiplication, puis de la différenciation cellulaire.

Enfin, il faut remarquer que le nombre de cellules du tissu réticulé des larves permanentes injectées d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone reste infime, et du même ordre de grandeur que celui observé chez les larves normales auxquelles de l'ecdysone a été administrée au jour 1. Ceci revient à dire que la larve normale en début d'intermue, tout comme celle privée de sa source d'ecdysone depuis quelques mois répondent de manière identique à un apport donné d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone. Ce qui est valable pour la réponse mésentérique, l'est aussi pour la morphologie externe

puisque les larves rendues permanentes au jour 1 de la dernière intermue et injectées d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone deviennent des adultoïdes à caractères larvaires prédominants.

b) Dégénérescence de l'épithélium larvaire

La nette augmentation du nombre des structures lysosomiales des cellules mésentériques larvaires de *Sarcophaga bullata* provoquée par une injection de  $\beta$ -ecdysone, a conduit RADFORD et MISH (1971) à envisager que l'hormone de mue agit directement sur les cellules épithéliales larvaires. De tels résultats ne s'observent cependant pas chez l'aeshne où l'injection de doses variables d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone à des moments différents de la dernière intermue ne provoque pas d'augmentation notable du nombre des structures lysosomiales. Néanmoins, l'évolution de l'épithélium larvaire semble dépendre des conditions expérimentales qui commandent la présence ou non de l'épithélium imaginal.

$\alpha$  - Chez les animaux dépourvus d'un épithélium imaginal

. Effet de l'injection d' $\alpha$ -ecdysone

L'épithélium larvaire ne présente généralement pas de signe particulier de dégénérescence, si ce n'est au niveau de quelques cellules, comme c'est le cas dans n'importe quel épithélium fonctionnel.

Parmi les animaux étudiés, un seul cependant (injecté au jour 1 de 30 $\mu$ g d' $\alpha$ -ecdysone) montrait des signes d'altération d'une catégorie d'organites, en l'occurrence des mitochondries qui apparaissent cupuliformes (Pl. 36, fig. a), parfois emboîtées les unes dans les autres.

. Effet de l'injection de  $\beta$ -ecdysone

L'épithélium larvaire est généralement élevé et indenté et il est susceptible d'émettre des bourgeons à son apex. Certains de ceux-ci sont nucléés (Pl. 36, fig. b), ce qui est la preuve d'un rejet cellulaire. Les microvillosités restent fréquemment localisées au fond des indentations épithéliales. Il convient cependant de distinguer les cas résultant soit d'une faible dose, soit d'une dose forte.

+ Injection de 1 à 5 $\mu$ g du jour 0 au jour 3

Il existe une certaine uniformité en ce qui concerne la structure des cellules épithéliales d'une même larve, ce qui n'empêche pas une grande variabilité d'un animal à un autre. Chez certains les cellules ont conservé la structure typique d'un épithélium fonctionnel, chez d'autres elles correspondent à un épithélium en cours de dégénérescence : noyaux caryolytiques, réticulum endoplasmique dilaté, dictyosomes annulaires, mitochondries dilatées ou cupuliformes...

En fait, chez ces animaux il semble bien que la mort cellulaire ne soit pas l'apanage des seules cellules épithéliales larvaires, mais intéresse plus ou moins fortement toutes les cellules, même de régénération. Ainsi la mort cellulaire entrevue serait la conséquence d'une perturbation de toute la physiologie de l'animal qui entraînerait la mort, étant donné que les animaux injectés de  $\beta$ -ecdysone ne survivent généralement que de peu au moment de la coloration des griffes.

+ Injection de 10 à 80 $\mu$ g au jour 0

Chez les animaux injectés d'une telle dose de  $\beta$ -ecdysone les cellules épithéliales larvaires sont de deux types : cellules claires disposées dans l'axe des nids de régénération et cellules sombres (Pl. 36, fig. c). Les cellules claires ne possèdent que peu d'organites, mais sont susceptibles de montrer la présence de coiffes dans lesquelles s'effectue la genèse des microvillosités. Cette structure indique qu'il s'agit de cellules en voie de différenciation ou différenciées depuis peu, ce qui n'empêche pas certaines d'entre elles de présenter des images de dégénérescence affectant les microvillosités, les noyaux entrés en caryolyse ou les mitochondries devenues cupuliformes. Il est tout à fait remarquable d'ailleurs que certaines de ces cellules claires, les plus atteintes, ne présentent plus qu'un nombre infime de ribosomes ce qui, pour le moins, permet de mettre en doute leur capacité fonctionnelle. Dans ce cas il est certain que nous enregistrons le caractère nocif des injections importantes de  $\beta$ -ecdysone au jour 0.

$\beta$  - Chez les animaux pourvus d'un épithélium imaginal

Les seules études ultrastructurales ont été réalisées chez des animaux injectés de  $\beta$ -ecdysone.

D'après nos résultats il est impossible de donner une vue d'ensemble de l'épithélium larvaire qui s'appliquerait à tous les animaux expérimentés. Chez certains, celui-ci semble encore fonctionnel si l'on en juge par la structure des organites et la présence régulière de microvillosités à l'apex. Chez d'autres, il est évident qu'il est plus altéré, la dilatation des espaces intercellulaires (Pl. 36, fig. d) étant le critère d'altération le plus fréquent, particulièrement chez les animaux ayant reçu les doses les plus fortes. Il faut noter aussi que les mitochondries peuvent être cupuliformes, ce qui est le cas essentiellement chez les animaux injectés en début d'intermue.

Généralement, l'épithélium larvaire n'adhère plus à la lame basale, mais il n'est qu'exceptionnellement rejeté dans la lumière intestinale (cas d'injections réalisées au 9<sup>e</sup> jour).

Toutefois, lorsque de l' $\alpha$ -ecdysone est administrée en quantité importante (40 ou 80  $\mu$ g) et que le sacrifice a lieu un à deux jours après la coloration des griffes, on observe que l'épithélium larvaire et le tissu réticulé sont rejetés dans la lumière intestinale (Pl. 37, fig. a).

Dans ce cas, comme dans la métamorphose normale, il est possible que la perte d'adhérence à la lame basale soit en partie responsable de la dégénérescence de l'épithélium larvaire.

#### CONCLUSION

L'étendue et le degré des signes de dégénérescence que l'on observe dans l'épithélium larvaire à la suite d'une injection plus ou moins précoce d'ecdysone semblent liés aux conditions expérimentales (doses utilisées et moment de l'injection), ce qui n'exclue toutefois pas une certaine variabilité dans les résultats. Ainsi, pour des conditions données, l'épithélium de certaines larves a conservé une structure type de caractère fonctionnel, alors que chez d'autres, on note des signes de dégénérescence plus ou moins avancée (caryolyse, altérations des organites cytoplasmiques et dilatation des espaces intercellulaires). Il semble cependant difficile de distinguer les signes de dégénérescence épithéliale qui accompagnent normalement la métamorphose mésentérique, ici simplement hâtée par l'injection d'ecdysone, de ceux provoqués par une injection massive dont le caractère nocif ne semble pas faire de doute.

#### CONCLUSION DU CHAPITRE V

Au cours du dernier stade larvaire l'intestin moyen d'*Aeshna cyanea* est le théâtre d'une série de modifications qui, à la suite de l'épithélium larvaire, font apparaître le tissu réticulé, dont on a rappelé le caractère de formation nymphale transitoire, lui-même relayé par l'épithélium imaginal. Ces changements font inévitablement penser aux remaniements tégumentaires qui marquent si profondément la métamorphose des Insectes holométaboles. Il est admis à l'heure actuelle que les cellules épidermiques responsables de prestations cuticulaires (larvaire, nymphale, imaginale) si différentes d'un stade à l'autre du développement ont été programmées en vue de ces différenciations successives. Peut-on admettre pour les cellules dont dérive le tissu réticulé une programmation différente de celle qui affecte les cellules destinées à former l'épithélium imaginal ?



### 1) Programmation "nymphe" et imaginaire des cellules de régénération

Si, dès le début du dernier stade larvaire, toutes les cellules de régénération étaient programmées dans le même sens, il nous serait impossible d'expliquer les variations du nombre des cellules du tissu réticulé en fonction du moment de l'injection d'ecdysone, tandis que le nombre de cellules de l'épithélium imaginal reste sensiblement constant pour une injection donnée d'ecdysone ( $\alpha$  ou  $\beta$ ).

Il semble donc qu'il faille admettre l'existence de deux programmations différentes, s'échelonnant dans le temps, à savoir, une première de type nymphal qui détermine les cellules souches du tissu réticulé et une seconde de type imaginal qui programme les cellules à l'origine de l'épithélium imaginal. Soulignons cependant que nous n'avons pas réussi, par injection de thymidine 3H en début de dernier stade, à marquer sélectivement l'un ou l'autre de ces épithéliums.

Comme une injection d'E.M.F. appliquée au jour 1 ou 2 inhibe la genèse du tissu réticulé, alors qu'une administration plus tardive est sans effet, il est logique de penser que la programmation des cellules du tissu réticulé s'effectue à ce moment. Il est cependant plus difficile de discerner la période à laquelle s'effectue la programmation des cellules souches de l'épithélium imaginal puisqu'il est encore possible, par des injections tardives d'E.M.F. (du moins pour une dose maximale de 1 $\mu$ l administrée dans les neuf premiers jours de l'intermue), d'empêcher la formation d'un épithélium imaginal complètement différencié. Tout en admettant que la raison en a été le sacrifice trop précoce des animaux expérimentés qui survivent difficilement à la sclérisation des griffes, nous ne pouvons pas exclure totalement le fait que l'injection ait pu inhiber la formation d'un épithélium imaginal. Quoiqu'il en soit, nous constatons une augmentation sensible du nombre de cellules de régénération, ainsi qu'un alignement des cellules du futur épithélium imaginal (Pl. 32, fig. a), après injection d'1 $\mu$ l d'E.M.F. au jour 5. Bien qu'aucun autre critère de différenciation ne soit visible, nous en concluons que la programmation imaginaire se déroule avant le 5<sup>e</sup> jour de la dernière intermue. S'il en était autrement, cela ne changerait rien aux rôles respectifs que l'on peut attribuer dans la programmation à l'hormone juvénile ou à son mimétique l'E.M.F. et à l'ecdysone, tant chez les témoins que chez les expérimentés.

### 2) Rôle respectif de l'hormone juvénile et de l'ecdysone

Il est communément admis qu'un taux élevé d'hormone juvénile est responsable d'une programmation larvaire, un taux moyen d'une programmation nymphale et enfin un taux faible ou nul d'une programmation imaginaire. Plus récemment, les travaux relatifs à *Manduca sexta* ont amené divers auteurs (TRUMAN et RIDDIFORD, 1974 ;

TRUMAN et coll., 1974 ; RIDDIFORD, 1975 ; NIJHOUT, 1976) à envisager l'éventualité d'un rôle de l'ecdysone dans la programmation ; l'hormone juvénile n'interviendrait que pour diriger la séquence dans laquelle le tissu est engagé ; ainsi se réaliserait le modèle larvaire en présence d'hormone juvénile, ou le modèle nymphal en son absence. Une telle interprétation ne nous permet cependant pas d'expliquer comment une injection d'ecdysone au jour 1, par exemple, inhibe presque complètement la formation du tissu réticulé, alors qu'elle permet la genèse d'un épithélium imaginal. Comme la programmation des cellules souches du tissu réticulé se fait avant celle des cellules à l'origine de l'épithélium imaginal, une telle injection devrait avoir un effet inverse. Il est donc probable, bien que les sites récepteurs de l'ecdysone et de l'hormone juvénile soient différents (CHIHARA et FRISTROM, 1973), que l'ecdysone interfère avec l'hormone juvénile pour programmer d'abord les cellules souches à l'origine du tissu réticulé, puis celles à l'origine de l'épithélium imaginal. Sans préjuger du mode d'action de l'ecdysone et de l'hormone juvénile à l'échelon cellulaire, on peut penser que c'est un certain équilibre entre les taux respectifs de ces hormones qui serait responsable des programmations nymphale, puis imaginale, dans l'hypothèse où le taux d'hormone juvénile reste inférieur à un certain seuil. Dans ces conditions nos résultats expérimentaux s'expliquent de la manière suivante :

. Injection d'ecdysone au jour 0 (fig. 20, a)

Le taux d'hormone juvénile étant vraisemblablement encore élevé le jour de l'exuviation, l'injection d'une forte dose d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone fait que les deux hormones sont présentes en même temps à un taux inhabituel. L'hormone juvénile est alors en mesure de moduler l'action de l'ecdysone ce qui se traduit généralement par un accroissement du nombre de cellules de régénération, tandis qu'il n'apparaît qu'un nombre infime de cellules du tissu réticulé.

. Injection d'E.M.F. ou d'ecdysones au jour 1 (fig. 20 b et c)

L'injection d'E.M.F. au jour 1 ou même 2 est encore susceptible d'inhiber complètement la métamorphose mésentérique (fig. 20, b) ce qui laisse entrevoir que la programmation n'est pas encore achevée à ce moment. Cependant le taux d'hormone juvénile endogène présent chez la larve dès le lendemain de l'exuviation doit avoir diminué suffisamment pour que l'injection d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone en quantité importante détermine la programmation des cellules souches dans le sens imaginal (fig. 20, c). Par contre, lorsque la dose d'ecdysone injectée est trop faible, il n'est pas possible d'obtenir la genèse d'un épithélium imaginal.

Dans ces conditions il serait tentant d'affirmer que le type de réponse mésentérique est uniquement la résultante du rapport quantitatif d'ecdysone et d'hormone juvénile. Mais comme le soulignent GILBERT et coll. (1975) à propos de la cuticule synthétisée au moment de la métamorphose on peut également invoquer la quantité absolue d'hormone juvénile dont la valeur jouerait le rôle principal.

. Injection d'ecdysones au jour 5 (fig. 20, d)

Les programmations nymphale et imaginale des cellules de régénération étant acquises, l'ecdysone ne fait que les extérioriser. A noter, cependant, que les doses faibles de  $\beta$ -ecdysone ( $<5\mu\text{g}$ ), qui ne permettent pas la réalisation d'un épithélium imaginal, n'assurent pas non plus la différenciation d'un nombre important de cellules du tissu réticulé ; ceci s'explique peut-être en raison de l'insuffisance de la dose ou alors parce que chez les animaux sacrifiés trop précocement les cellules du futur tissu réticulé ne peuvent pas encore être distinguées de celles qui sont destinées à former l'épithélium imaginal.

. Injection d'ecdysones aux larves permanentes (fig. 20, e)

Nous avons vu que la réponse obtenue équivaut à celle enregistrée chez des larves normales lors de l'injection d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone au jour 1. Deux hypothèses sont envisageables :

1 - la programmation a lieu en début d'intermue comme chez les larves normales

2 - la programmation a lieu au moment de l'injection

Si la détermination a lieu en début d'intermue, l'injection d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone devrait donner des résultats comparables à ceux enregistrés chez les animaux non ventralectomisés injectés à partir du 5e jour. Comme ce n'est pas le cas, nous devons donc admettre que la programmation est différée jusqu'au moment de l'injection. Nous ignorons cependant si l'hormone juvénile est synthétisée par les larves permanentes. Le fait que de l'ecdysone injectée à des larves normales puisse favoriser la synthèse d'hormone juvénile (SIEW et GILBERT, 1975 ; JOLY et JOLY, 1975) ne nous renseigne pas sur le comportement des larves permanentes à cet égard. Il est toutefois très vraisemblable que le taux d'hormone juvénile est très faible chez ces dernières. Dans ces conditions, la programmation qui en résulte est donc essentiellement de type imaginal.

3) Rôles respectifs de l' $\alpha$ - et de la  $\beta$ -ecdysone

Il est remarquable de constater que la genèse d'un épithélium imaginal est plus rapide après l'injection de  $\beta$ -ecdysone qu'après celle d' $\alpha$ -ecdysone, ce

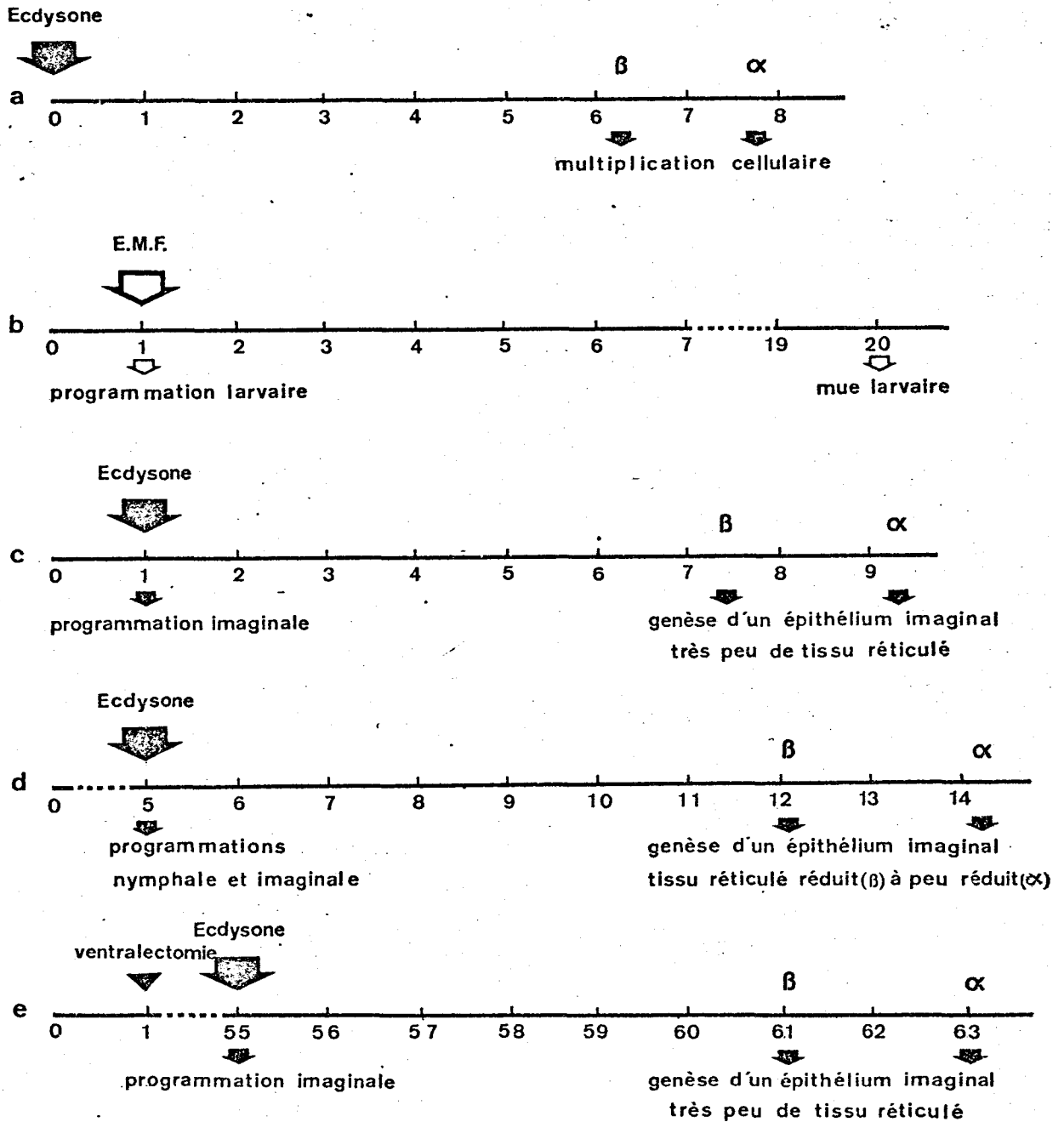


Figure 20 : Schéma illustrant les différents types de programmation obtenus en fonction du moment de l'injection d'E.M.F., d' $\alpha$ - et de  $\beta$ -ecdysone au cours de la dernière intermue (en jours), ainsi que la réponse du mésentéron à ces injections. A noter que celle-ci est toujours plus rapide après administration de  $\beta$ -ecdysone.

a) Injection au jour 0 d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone

b) Injection au jour 1 d'E.M.F.

c) Injection au jour 1 d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone

d) Injection au jour 5 d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone

e) Injection à des larves permanentes d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone



qui se traduit, en particulier, par un nombre plus faible de cellules différenciées, non seulement dans l'épithélium imaginal, mais aussi dans le tissu réticulé. L'ecdysone serait donc responsable de la multiplication des cellules de régénération avec cependant un effet différent selon qu'il s'agit d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone.

Tous nos résultats expérimentaux concernant l'utilisation d' $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone, autant sur des larves normales que ventralectomisées, tendent à prouver que l' $\alpha$ -ecdysone exerce une action spécifique sur les synthèses d'ADN.

Les recherches sur les effets de l' $\alpha$ - ou de la  $\beta$ -ecdysone *in vitro* dans la métamorphose des disques imaginaires de *Galleria* ont montré le rôle déterminant de l' $\alpha$ -ecdysone dans la synthèse d'ADN (OBERLANDER, 1969 a et b) et ont mis en évidence une action inhibitrice de la  $\beta$ -ecdysone envers la stimulation de la synthèse d'ADN par l' $\alpha$ -ecdysone (OBERLANDER, 1972). Cet auteur émet l'hypothèse selon laquelle, dans un développement normal, l' $\alpha$ -ecdysone induit la métamorphose et la synthèse d'ADN dans les disques imaginaires, mais dès sa conversion en  $\beta$ -ecdysone le processus de synthèse s'arrête, tandis que s'engage la morphogenèse sous l'effet de la  $\beta$ -ecdysone.

En l'absence d'expérimentation *in vitro* nous nous bornons à constater que dans le mésentéron d'*Aeshna cyanea* l'action plus soutenue de l' $\alpha$ -ecdysone s'exerce avant tout sur la multiplication cellulaire dans les nids de régénération, alors que la  $\beta$ -ecdysone, opérant plus rapidement en tant que facteur différenciateur assure essentiellement la genèse de l'épithélium imaginal.

En ce qui concerne plus particulièrement le tissu réticulé, tout se passe comme si, après une injection d' $\alpha$ -ecdysone, les synthèses d'ADN s'arrêtaient moins vite qu'après injection de doses moyennes ou fortes de  $\beta$ -ecdysone. En effet l'apparition régulière du tissu réticulé à la suite d'une injection d' $\alpha$ -ecdysone, alors que celui-ci est plus ou moins inhibé par la  $\beta$ -ecdysone, s'expliquerait en partie de la même manière que précédemment. Il n'est cependant pas possible, à défaut de cultures *in vitro*, d'affirmer que lors d'une métamorphose normale la genèse du tissu réticulé résulte d'une action spécifique de l' $\alpha$ -ecdysone, se trouvant sous la dépendance d'un premier pic d'ecdysone précédant le pic hormonal principal.



CONCLUSION GENERALE

L'intestin moyen de l'Insecte Odonate *Aeshna cyanea* a fait l'objet d'une étude ultrastructurale dans laquelle la morphologie de la cellule mésentérique a été abordée d'abord sous son aspect statique, puis sous l'aspect dynamique qui en est le trait essentiel. Les remaniements de l'épithélium mésentérique qui ont comme point de départ des cellules de régénération ont été envisagés en fonction de l'alimentation, du cycle des mues et enfin de la métamorphose. Celle-ci affecte profondément l'intestin moyen qui est soumis au cours du dernier stade larvaire à un contrôle endocrinien particulier dont les modalités ont été étudiées grâce à des injections d'hormones synthétiques ou de leurs mimétiques.

### ULTRASTRUCTURE DE L'INTESTIN MOYEN (SES MODIFICATIONS EN FONCTION DE L'ALIMENTATION ET DE LA MUE)

L'étude ultrastructurale de l'épithélium mésentérique a révélé l'existence, en dehors de la grande masse des cellules épithéliales principales, de plusieurs types cellulaires de nature exocrine ou endocrine indiscutable. Toutefois, le nombre restreint et les difficultés de mise en évidence en microscopie optique de ces cellules sécrétrices ne nous ont pas permis de leur assigner un rôle physiologique particulier. Une attention particulière a été apportée aux cellules de régénération groupées en nids à la base de l'épithélium. Ces cellules de type embryonnaire, caractérisées par une activité mitotique et différenciatrice incessante, sont destinées tout au long de la vie larvaire et imaginaire à pourvoir au remplacement des cellules épithéliales qui, usées par leur activité digestive, sont rejetées dans la lumière intestinale.

Les modifications des cellules mésentériques, liées à l'alimentation et à la mue n'avaient jusqu'à présent fait l'objet que de peu de travaux. La prise de nourriture par la larve ou l'absorption d'eau au moment de son exuviation se traduisent par des variations morphologiques et ultrastructurales de l'épithélium intestinal. Parmi les premières on note une augmentation du diamètre de l'intestin moyen avec, comme corollaire, la diminution de la hauteur de l'épithélium. Quant aux modifications que présente la cellule mésentérique au cours d'un cycle digestif, elles sont l'expression de sa fonction physiologique normale. Les plus remarquables de ces modifications se manifestent avant tout au niveau du réticulum endoplasmique granulaire et agranulaire. Ce dernier, abondant à proximité de la membrane apicale, est censé capter les molécules ayant diffusé à travers cette membrane. Le contenu

des vésicules du réticulum lisse passerait ensuite à l'intérieur de profils ergastoplasmiques dont le rôle serait de convoier un certain nombre de métabolites de la région apicale en direction des espaces intercellulaires de la région basale. Notons, en outre, que l'arrivée de la nourriture dans la lumière intestinale provoque l'exocytose de granules denses apicaux, considérés par certains auteurs comme des réservoirs d'enzymes digestives, notamment chez les Diptères.

L'étude ultrastructurale de la membrane péritrophique dont les feuilletts sont destinés à emballer les déchets de la digestion a confirmé la morphologie classique de cette formation chez *Aeshna cyanea* et a, en outre, apporté des précisions sur sa genèse qui se déroule essentiellement au niveau des cellules situées dans la région de la valvule oesophagienne. La genèse de la membrane péritrophique est due, comme l'avaient suggéré les anciens auteurs, à un processus de délamination du plateau strié comportant d'abord l'apparition, entre les microvillosités et au contact du "cell coat" de ces dernières, d'une lame fibrillaire qui est ensuite progressivement refouée dans la lumière intestinale. Sans doute le mode de transport au sein des cellules mésentériques des précurseurs de la lame péritrophique reste-t-il inconnu. Une étude autoradiographique à haute révolution utilisant le fucose 3H apporterait peut-être la solution de ce problème et donnerait des éclaircissements sur le rôle exact des granules denses apicaux. Nous pensons, en effet qu'en dehors de leur rôle de réservoir d'enzymes, ces granules pourraient, en outre, assurer le transport du matériel du "cell coat", lequel se trouve au contact de la membrane péritrophique.

Enfin, nous avons établi le rôle capital des granules apicaux dans la genèse de la coiffe de matériel dense au sein de laquelle se forment les microvillosités lors de la différenciation des cellules mésentériques. Des études ultérieures permettront peut-être de faire le lien entre la présence de grains apicaux et ces divers processus.

## DYNAMIQUE CELLULAIRE (PROLIFERATION, DIFFERENCIATION ET DEGENERESCENCE) DE L'EPITHELIUM MESENTERIQUE

Les cellules de régénération constituent le point de départ de la dynamique cellulaire qui est le trait fondamental de l'évolution de l'épithélium mésentérique. Celui-ci est le siège d'un perpétuel renouvellement au cours duquel se succèdent les processus de prolifération, de différenciation et enfin de dégénérescence des



cellules mésentériques. La prise de nourriture et le cycle des mues larvaires interviennent dans leur déroulement, mais c'est avant tout la métamorphose qui imprime sa marque particulière à l'épithélium intestinal dont la structure subit un bouleversement total. En effet, l'épithélium larvaire va être doublé par un anneau de tissu réticulé dont la différenciation a débuté dès le 14<sup>e</sup> jour de l'intermue sur les 24 que compte le dernier stade. Il s'agit d'une formation transitoire aux caractères cytologiques bien tranchés qui sera relayée par l'épithélium imaginal apparaissant à partir du 17<sup>e</sup> jour. Trois jours avant l'émergence l'ensemble de l'épithélium larvaire et du tissu réticulé est rejeté dans la lumière intestinale.

Il existe une corrélation positive entre la prise de nourriture et la division des cellules de régénération dont la multiplication active correspond à une activité fonctionnelle momentanément accrue de l'épithélium. Une corrélation positive s'établit également au moment de la mue entre le phénomène de l'exuviation et l'activité mitotique des cellules de régénération. En effet, le mode de croissance particulier aux Insectes entraîne aussi un allongement notable de l'intestin qui sera facilité par l'augmentation rapide du nombre des cellules épithéliales.

Le renouvellement de l'épithélium mésentérique par cellules isolées au cours des intermues larvaires contraste avec la genèse complète de celui-ci durant la métamorphose. Il est évident que la larve du dernier stade se prête bien à une étude de la dynamique cellulaire telle que nous l'avons conçue. Le comptage des mitoses dans les nids de régénération et le marquage cellulaire après injection de thymidine tritiée au début de la dernière intermue ont mis en évidence, d'une part l'activité mitotique intense des cellules de régénération à partir du 6<sup>e</sup> jour de l'intermue, d'autre part le fait que ces cellules sont douées au départ de potentialités identiques, car leur descendance est susceptible d'enrichir indifféremment l'épithélium larvaire, le tissu réticulé ou l'épithélium imaginal. Mais, à la différence de l'épithélium larvaire dont la restauration cellulaire s'arrête dès le 12<sup>e</sup> jour, les cellules destinées à former le tissu réticulé et *a fortiori* l'épithélium imaginal, non seulement continuent à se diviser, mais se différencient plus tardivement, et ceci dans l'ordre d'apparition des formations correspondantes.

Les phénomènes de différenciation entraînent au cours de la métamorphose mésentérique un arrangement architectural nouveau. Il s'établit, en effet, entre les cellules de l'épithélium imaginal nouvellement constitué des contacts de type *zonula continua* et entre le tissu réticulé et l'épithélium imaginal sous-jacent des jonctions d'un type particulier (dont la description est originale) destinées à

assurer momentanément une certaine cohésion de la paroi intestinale en profond remaniement durant la métamorphose. La lame basale sur laquelle va reposer le nouvel épithélium subit, en prévision d'un allongement notable de l'intestin après l'émergence, un épaissement par adjonction de matériel dont l'origine mésentérique est démontrée.

Toute différenciation cellulaire, sous contrôle des synthèses nucléaires implique la genèse d'organites nouveaux. L'évolution nucléaire préluant à la différenciation cellulaire est caractérisée par un transit au travers des pores nucléaires d'un matériel de nature sans doute ribonucléoprotéique. Le noyau de ces cellules émet, en outre, des bourgeons de grande taille, processus que nous pensons pouvoir être interprété comme un mode d'épuration, plutôt que comme un transfert de matériel *sensu stricto*. L'allongement progressif des cellules s'accompagne de l'apparition de nombreux microtubules orientés selon le grand axe cellulaire. La multiplication des différents organites (mitochondries et dictyosomes) a été suivie, ainsi que la diminution du nombre des ribosomes libres et le développement corrélatif de l'ergastoplasme. Enfin la genèse intraépithéliale des microvillosités (présentes tant dans l'épithélium larvaire qu'imaginal ; seules les cellules du tissu réticulé en sont dépourvues) au sein d'une coiffe de matériel dense formée à partir de granules cellulaires apicaux, telle qu'elle a été décrite chez *Aeshna cyanea*, semble constituer un mode de formation original propre aux Insectes.

Les processus de dégénérescence revêtent au niveau de l'épithélium larvaire et du tissu réticulé, destinés à être rejetés en bloc, un caractère particulier et illustrent bien la notion de "mort cellulaire programmée". En effet, les noyaux de ces épithéliums perdent leur activité de synthèse, et entrent en caryolyse, ce qui a comme conséquence une série d'altérations du cytoplasme : disparition des dictyosomes, diminution du nombre des ribosomes, vésiculation du réticulum endoplasmique. L'apparition de nombreuses vacuoles autophagiques dans l'épithélium larvaire dépendrait tout comme la caryolyse déjà citée, de l'anoxie qui frappe les cellules épithéliales à la suite de leur perte d'adhérence à la lame basale, prélude au refoulement des deux épithéliums lors de la constitution définitive de l'épithélium imaginal.

Par ailleurs, il n'est pas rare d'observer parmi les cellules de régénération destinées à se différencier en cellules imaginaires certaines d'entre elles dont le noyau et le cytoplasme se condensent et se fragmentent. Les débris cellulaires qui résultent de cette dégénérescence sont finalement phagocytés par des cellules voisines qui les transportent au sein du tissu réticulé. Un tel mode de dégénérescence, décrit sous le nom d'apoptosis, qui survient à la suite d'une phase de prolifération

cellulaire intense, apparaît comme un processus complémentaire de la mitose, dont le rôle essentiel est d'assurer la régulation des populations cellulaires.

### CONTRÔLE HORMONAL DE LA METAMORPHOSE MESENTERIQUE (RÔLE DE L'HORMONE JUVENILE ET DE L'ECDYSONE)

L'injection d'un mimétique de l'hormone juvénile, l'ester méthylé du farnésol, à des larves du dernier stade âgées de 1 à 2 jours, dont l'effet est d'inhiber leur métamorphose (elles deviennent des larves surnuméraires), se répercute aussi sur le mésentéron en empêchant le déroulement de la crise mitotique des cellules de régénération, prélude à leur différenciation en tissu réticulé et en épithélium imaginal. L'utilisation de doses plus faibles ou une injection plus tardive du mimétique n'empêchent pas l'apparition de ces épithéliums dont l'importance est toutefois fonction des variations de ces paramètres. La présence d'un taux élevé d'hormone juvénile ou l'apport de son mimétique en début de dernier stade sont responsables d'une programmation larvaire de l'intestin moyen. L'ecdysone, de son côté, est à l'origine des divisions des cellules de régénération et de leur différenciation imaginaire au cours d'un développement normal. L'un des effets principaux de l'hormone juvénile introduite est donc d'empêcher les événements contrôlés par l'ecdysone, tels la synthèse d'ADN, prélude aux divisions mitotiques intenses, et les synthèses d'ARN indispensables à la différenciation imaginaire.

Le rôle de l'ecdysone dans l'initiation des synthèses nucléaires et des divisions des cellules de régénération a été démontré tant chez des larves jeunes, non impliquées dans la métamorphose, que chez des larves du dernier stade ou encore chez des larves rendues permanentes par ablation de leurs glandes ventrales. En effet, l'ecdysone (sous sa forme  $\alpha$  ou sous la forme  $\beta$ , le dérivé hydroxylé de celle-ci), administrée dès le jour 0 du dernier stade, provoque, une augmentation du nombre des cellules de régénération. Injectée à des doses suffisantes à partir du jour 1 à des larves du dernier stade, permanentes ou non, l'ecdysone provoque une différenciation précoce des cellules de régénération en épithélium imaginal. Les larves sont sacrifiées dès qu'apparaît, par transparence à travers l'ancienne cuticule, la sclérification des griffes ; ce phénomène qui intervient chez les témoins au 17<sup>e</sup> jour de l'intermue et coïncide avec la différenciation de l'épithélium imaginal, se manifeste 7 jours ou 8,5 jours après l'injection de  $\alpha$ - ou de  $\beta$ -ecdysone respectivement.

Quelque soit le moment de l'injection (jour 1 ou plus tard), l'épithélium induit compte un nombre de cellules sensiblement constant : de l'ordre de 1200 ou

de plus de 2000 par coupe transversale après apport de  $\beta$ - ou d' $\alpha$ -ecdysone respectivement. De plus, le délai entre l'injection et la réalisation de l'épithélium imaginal est toujours plus grand après administration d' $\alpha$ - qu'après injection de  $\beta$ -ecdysone. Celle-ci agirait donc plus rapidement en tant que facteur différenciateur, alors que l' $\alpha$ -ecdysone aurait un rôle spécifique dans les synthèses d'ADN et agirait avant tout sur la multiplication cellulaire.

Le nombre de cellules du tissu réticulé induit par l'injection d'ecdysone et dont l'apparition accompagne en général celle de l'épithélium imaginal est fonction de la nature de l'ecdysone introduite ( $\alpha$ - ou  $\beta$ -). Les valeurs obtenues sont en effet toujours plus élevées après injection d' $\alpha$ - ecdysone dont la spécificité plus grande à l'égard des synthèses d'ADN expliquerait en partie l'apparition constante du tissu réticulé, ainsi que son plus fort développement. Néanmoins, le pourcentage du nombre des cellules du tissu réticulé présentes dans l'ensemble des cellules (réticulées ou imaginaires) issues des nids de régénération est toujours plus élevé après injection d' $\alpha$ -ecdysone.

Il semble qu'au début du dernier stade larvaire les cellules de régénération soient le siège de deux programmations successives, l'une de type "nympheal", l'autre de type imaginal, aboutissant à la formation du tissu réticulé, puis de l'épithélium imaginal. En admettant une action spécifique de l' $\alpha$ -ecdysone sur la différenciation du tissu réticulé, il reste à savoir si celle-ci s'exerce au moment de la programmation des cellules de régénération ou au moment de leur différenciation. Une réponse pourrait être apportée par plusieurs injections successives d'ecdysone de même nature (soit  $\alpha$ , soit  $\beta$ ) ou différente ( $\alpha$ , puis  $\beta$ -ecdysone ou inversement), ou encore par des cultures *in vitro* de fragments de mésentéron sur des milieux dont les composantes hormonales seraient modifiées à volonté.

Les points acquis sur le déterminisme de la métamorphose mésentérique d'*Aeshna cyanea* peuvent se résumer ainsi :

- La programmation "nympheale", puis imaginaire des cellules de régénération intervient dès le début de la dernière intermue ; tout en restant sous la dépendance de l'hormone juvénile, elle demande la présence d'ecdysone.

- La multiplication des cellules de régénération est sous le contrôle de l'ecdysone. L' $\alpha$ -ecdysone paraît exercer une action spécifique sur les synthèses d'ADN, alors que la  $\beta$ -ecdysone contrôle avant tout la différenciation de ces cellules.

- L' $\alpha$ -ecdysone semble favoriser la différenciation du tissu réticulé car, injectée en début de stade, elle provoque son apparition d'une manière constante.

Son faible développement après injection de  $\beta$ -ecdysone qui, au contraire, hâte l'apparition de l'épithélium imaginal pourrait s'expliquer par le fait que la présence de doses même faibles de cette hormone a pour effet de court-circuiter l'étape du tissu réticulé.

L'analogie signalée par quelques auteurs entre certains processus de la métamorphose mésentérique des Odonates et des Diptères Cyclorraphes, tels l'apparition puis le rejet du tissu réticulé, mérite d'être réexaminée, chez *Calliphora erythrocephala* par exemple, sous l'angle d'un contrôle hormonal de la genèse et de l'évolution de cette formation intestinale transitoire.

BIBLIOGRAPHIE

## A

- AKAI H., 1970 - An electron microscopic study of the alimentary canal of the silkworm *Bombyx mori* L. I. The structure of the midgut epithelium. Bull. Ser. exp. St. Japan, 24, 303-344.
- ALONSO C., 1972 - The influence of molting hormone on RNA synthesis in isolated polytene nuclei of *Drosophila*. Develop. Biol., 28, 372-381.
- AMSTERDAM A., OHAD I., SCHRAMM M., 1969 - Dynamic changes in the ultrastructure of the acinar cell of the rat parotid gland during the secretory cycle. J. Cell Biol., 41, 753-773.
- ANDERSON E., BEAMS H.W., 1956 - Evidence from electron micrographs for the passage of material through pores of nuclear membranes. J. Biophys. Biochem. Cytol., suppl. 2, 439.
- ANDERSON W.A., ELLIS R.A., 1967 - A comparative electron microscope study of visceral muscle fibers in *Cambarus*, *Drosophila* and *Lumbricus*. Z. Zellforsch., 79, 581-591.
- ANDRIES J.C., 1970 a - Etude de l'activité des nids de régénération au cours de la métamorphose de l'intestin moyen d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte Odonate). Bull. Soc. Zool., 95, 85-97.
- ANDRIES J.C., 1970 b - Activité des nids de régénération de l'intestin moyen de la larve d'*Aeshna cyanea* au cours d'un cycle digestif. J. Insect Physiol., 16, 1961-1973.
- ANDRIES J.C., 1972 a - Genèse intraépithéliale des microvillosités de l'épithélium mésentérique de la larve d'*Aeshna cyanea*. J. Microscopie, 15, 181-204.
- ANDRIES J.C., 1972 b - Remaniements de l'intestin moyen chez les Odonates au cours de la métamorphose. Bull. Soc. Zool., 97, 377-385.
- ANDRIES J.C., 1975 a - Différenciation et mort cellulaires au cours de la métamorphose mésentérique de la larve d'*Aeshna cyanea*. J. Microscopie Biol. Cell., 24, 327-350.

- ANDRIES J.C., 1975 b - L'intestin moyen : un nouveau modèle de réponse aux hormones d'Insectes. Colloques Internationaux C.N.R.S., 251, 483-492.
- ANDRIES J.C., 1976 a - Variations ultrastructurales au sein des cellules épithéliales mésentériques d'*Aeshna cyanea* (Insecte, Odonate) en fonction de la prise de nourriture. Cytobiologie, 13, 451-468.
- ANDRIES J.C., 1976 b - Présence de deux types cellulaires endocrines et d'un type exocrine au sein du mésentéron de la larve d'*Aeshna cyanea* Müller (Odonata : Aeshnidae). Int. J. Morphol. Embryol., sous presse.
- ANDRIES J.C., 1976 c - Dégénérescence et rejet des cellules mésentériques des larves d'Insectes. Bull. Soc. Zool., sous presse.
- ANDRIES J.C., 1976 d - Specialization of the endoplasmic reticulum in the apex of the midgut cells of *Aeshna cyanea* (Insecta, Odonata). Cell Tissue Res., sous presse.
- ANDRIES J.C., MOUZE M., 1975 - Action *in vivo* d'ecdysones sur la morphogénèse imaginaire d'*Aeshna cyanea*. J. Insect Physiol., 21, 111-135.
- APPLEBAUM S.W., GILBERT L.I., 1972 - Stimulation of adenyl cyclase in pupal wing epidermis by  $\beta$ -ecdysone. Develop. Biol., 27, 165-175.
- ARKING R., SHAYYA E., 1969 - Effect of ecdysone on protein synthesis in the larval fat body of *Calliphora*. J. Insect Physiol., 15, 287-296.
- ASHBURNER M., 1973 - Sequential gene activation by ecdysone in polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster*. I. Dependence upon ecdysone concentration. Develop. Biol., 35, 47-61.
- ASHUURST D.E., 1964 - Fibrillogenesis in the wax moth *Galleria mellonella*. Quart. J. Microscop. Sci., 105, 391-403.
- ASHUURST D.E., 1965 - The connective tissue sheath of the locust nervous system : its development in the embryo. Quart. J. Microscop. Sci., 106, 61-73.



- ASHHURST D.E., RICHARDS A.G., 1964 a - A study of the changes occurring in the connective tissue associated with the central nervous system during the pupal stage of the wax-moth *Galleria mellonella* L. J. Morphol., 114, 225-236.
- ASHHURST D.E., RICHARDS A.G., 1964 b - The histochemistry of the connective tissue associated with the central nervous system of the pupa of the wax moth *Galleria mellonella*. J. Morphol., 114, 237-246.
- AUBER J., 1965 - Sur le mécanisme de la formation des filaments primaires au cours de l'accroissement des myofibrilles chez *Calliphora erythrocephala* (Mg.) (Insecte Diptère). C.R. Acad. Sci. Paris, 260, 668-670.
- AUBER J., 1967 - Distribution of the two kinds of myofilaments in insect muscles. Am. Zool., 7, 451-456.
- AUBER J., 1969 - La myofibrillogenèse du muscle strié. I. Insectes. J. Microscopie, 8, 197-232.
- AUBER-THOMAY M., 1967 - Modifications ultrastructurales au cours de la dégénérescence et de la croissance des fibres musculaires chez un Insecte. J. Microscopie, 6, 627-638.
- AUBERTOT M., 1932 - Les sacs péritrophiques des larves d'*Aeshna* (Odonate, Anisoptère) ; leur évacuation périodique. C.R. Soc. Biol. Paris, 111, 746-748.
- AUBRY R., 1975 - Sur l'existence d'un type cellulaire mal connu, d'allure endocrine, dans le mésentéron de *Locusta migratoria*. C.R. Acad. Sci. Paris, 281, 1405-1407.

## B

- BACETTI B., 1961 - Ricerche sull'ultrastruttura dell'intestino degli Insetti. II. La cellula epiteliale del mesentero in un Ortottero, un Coleottero e un Dittero adulti. Redia, 46, 157-165.

- BACETTI B., 1962 - Ricerche sull' ultrastruttura dell' intestino degli Insetti.  
III. Il mesentero ed il colon nell'operaio di *Reticulitermes lucifugus*  
Rossi. Symposia Genet. Biol. ital., 11, 230-255.
- BAERWALD R.J., BOUSCH G.M., 1970 - Fine structure of the hemocytes of *Periplaneta americana* (Orthoptera : Blattidae) with particular reference to marginal bundles. J. Ultrastr. Res., 31, 151-161.
- BAR-ZEV A., KAULENAS M.S., 1975 - The effect of  $\beta$ -ecdysone on *Gromphadorhina* adult female fat body at the transcriptional and translational levels. Comp. Biochem. Physiol., 51 B, 355-361.
- BEAMS H.W., KESSEL R.G., 1968 - The Golgi apparatus : structure and function. Int. Rev. Cytol., 23, 209-276.
- BEAULATON J., 1964 - Les ultrastructures des trachées et de leurs ramifications dans la glande prothoracique du ver à soie Tussor (*Antheraea pernyi* G. Lep. Att.). J. Microscopie, 3, 91-104.
- BEAULATON J., 1968 a - Modifications ultrastructurales des trachées et genèse des petites trachées et trachéoles chez les vers à soie en période de mue. J. Microscopie, 7, 621-646.
- BEAULATON J., 1968 b - Etude ultrastructurale et cytochimique des glandes prothoraciques de vers à soie aux quatrième et cinquième âges larvaires. I. La *tunica propria* et ses relations avec les fibres conjonctives et les hémocytes. J. Ultrastr. Res., 23, 474-498.
- BEERMANN W., 1963 - Cytological aspects of information transfer in cellular differentiation. Amer. Zool., 3, 23.
- BENNETT G., 1970 - Migration of glycoprotein from Golgi apparatus to cell coat in the columnar cells of the duodenal epithelium. J. Cell Biol., 45, 668-673.

- BENNETT G., LEBLOND C.P., 1970 - Formation of cell coat material for the whole surface of columnar cells in the rat small intestine, as visualized by radioautography with L fucose 3H. J. Cell Biol., 46, 409-416.
- BERLIN J.D., 1967 - Early irradiation effects on the localization of acid mucopolysaccharide in intestinal absorptive cells. J. Cell Biol., 35, (2, Pt 2) 12 A.
- BERNHARD W., 1969 - A new staining procedure for electron microscopical cytology. J. Ultrastruct. Res., 27, 250-265.
- BERREUR P., 1965 - Effets de l'hormone de mue sur les synthèses d'acides nucléiques dans les disques imaginaux de *Calliphora erythrocephala* Meig. (Insecte, Diptère). C.R.Acad. Sci. Paris, 260, 2914-2916.
- BERTRAM D.S., BIRD R.G., 1961 - Studies on mosquito borne viruses in their vectors. 1. The normal fine structure of the midgut epithelium of the adult female *Aedes aegypti* (L.) and the functional significance of its modification following a blood meal. Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg., 55, 404-423.
- BHASKARAN G., 1972 - Inhibition of imaginal differentiation in *Sarcophaga bullata* by juvenile hormone. J. exper. Zool., U.S.A., 182, 127-141.
- BOLLENBACHER W.E., VEDECKIS W.V., GILBERT L.I., O'CONNOR J.D., 1975 - Ecdysone titers and prothoracic gland activity during the larval-pupal development of *Manduca sexta*. Develop. Biol., 44, 46-53.
- BOLLENBACHER W.E., GOODMAN W., VEDECKIS W.V., GILBERT L.I., 1976 - The *in vitro* synthesis and secretion of  $\alpha$ -ecdysone by the ring glands of the fly, *Sarcophaga bullata*. Steroids, 27, 309-324.
- BONHAG P.F., ARNOLD W.J., 1961 - Histology, histochemistry and tracheation of the ovariole sheaths in the American cockroach *Periplaneta americana* L. J. Morphol., 108, 107-129.

- BONNEVILLE M.A., WEINSTOCK M., 1970 - Brush border development in the intestinal absorptive cells of *Xenopus* during metamorphosis. *J. Cell Biol.*, 44, 151-171.
- BORDEREAU C., 1975 - Croissance des trachées au cours de l'évolution de la physogastrie chez la reine des termites supérieurs (Isoptera : Termitidae). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.*, 4, 431-465.
- BORST D.W., ENGELMAN F., 1974 - *In vitro* secretion of  $\alpha$ -ecdysone by prothoracic glands of a hemimetabolous insect, *Leucophaea maderae* (Blattaria). *J. exp. Zool.*, 189, 413-419.
- BOUTHIER A., PENNETIER J.L., MAUCHAMP B., LAFONT R., 1975 - Variations du taux de  $\beta$ -ecdysone circulante chez *Locusta migratoria cinerascens* Fabr. (Orthoptère, Acrididae) au cours du dernier stade larvaire. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 280, 1837-1840.
- BRUGAL G., 1973 - Effects of adult intestine and liver extracts on the mitotic activity of corresponding embryonic tissues of *Pleurodeles waltlii* Michah (Amphibia, Urodela). *Cell Tissue Kinet.*, G.B., 6, 519-524.
- BRUGAL G., PELMONT J., 1974 - Présence, dans l'intestin du triton adulte *Pleurodeles waltlii* Michah, de deux facteurs antimitotiques naturels (chalones) actifs sur la prolifération cellulaire de l'intestin embryonnaire. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 278, 2831-2834.
- BULLIERE D., BULLIERE F., 1973 - Hormone de mue et synthèse d'ADN dans les cellules épidermiques d'embryon de blatte en culture in vitro. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 277, 1057-1060.
- BUSHNELL R.J., 1936 - The development and metamorphosis of the mid-intestinal epithelium of *Acanthoscelides obrectus* (Say) (Coleoptera). *J. Morphol.*, 60, 221-241.

BUSSON-MABILLOT S., 1971 - Influence de la fixation chimique sur les ultrastructures. I. Etude sur des organites du follicule ovarien d'un poisson téléostéen. J. Microscopie, 12, 317-348.

BUSSON-MABILLOT S., 1972 - Influence de la fixation chimique sur les ultrastructures. II. Etude sur les enclaves de natures chimiques variées de l'ovocyte d'un Poisson Téléostéen. J. Microscopie, 13, 173-192.

## C

CANDY D.J., KILBY B.A., 1962 - Studies on chitin synthesis in the desert locust. J. exp. Biol., 39, 129-140.

CASSIER P., ALIBERT J., FAIN-MAUREL M., 1972 - Sur la présence de cellules de type endocrine dans l'intestin moyen de *Petrobius maritimus* Leach (Insecte aptérygote, Thysanoure). C.R.Acad. Sci. Paris, 275, 2691-2693.

CHARLET M., 1974 - Mise en évidence d'un centre neurosécréteur protocérébral intervenant dans l'équilibre hydrique de la larve d'*Aeshna cyanea* Müll (Insecte, Odonate). C.R.Acad. Sci. Paris, 279, 835-838.

CHIHARA C.J., PETRI W.H., FRISTROM J.W., KING D.S., 1972 - The assay of ecdysones and juvenile hormones on *Drosophila* imaginal disks *in vitro*. J. Insect Physiol., 18, 1115-1124.

CHIHARA C.J., FRISTROM J.W., 1973 - Effects and interactions of juvenile hormone and  $\beta$ -ecdysone on *Drosophila* imaginal disks cultured *in vitro*. Develop. Biol., 35, 36-46.

CHINO H., SAKURAI S., OHTAKI T., IKEKAWA N., MIYAZAKI H., ISHIBASHI M., ABUKI A., 1974 - Biosynthesis of  $\alpha$ -ecdysone by prothoracic glands *in vitro*. Science, 183, 529-530.

CHLAPOWSKI F.J., NEALBAND R., 1971 - Assembly of lipids into membranes in *Acanthamoeba palestinensis*. II. The origin and fate of glycerol 3H labeled phospholipids of cellular membranes. J. Cell Biol., 50, 634-651.

- CLEVER U., 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.
- CLEVER U., CLEVER I, STORBECK I., YOUNG N., 1973 - The apparent requirement of two hormones,  $\alpha$ -and  $\beta$ -ecdysone, for molting induction in insects. Develop. Biol., 31, 47-60.
- CONE C.D. Jr., 1970 - Variation of the transmembrane potential level as a basic mechanism of mitosis control. Oncology, 24, 438-470.
- CONE C.D. Jr., TONGIER M., 1973 - Contact inhibition of division :involvement of the electrical transmembrane potential. J. Cell Physiol., 82, 373-386.
- CONGOTE L.F., SEKERIS C.E., KARLSON P., 1969 - On the mechanism of hormone action. XIII. Stimulating effects of ecdysone, juvenile hormone and ions on RNA synthesis of fat body cell nuclei from *Calliphora erythrocephala* isolated by a filtration technique. Exp. Cell Res., 56, 338-346.
- CONGOTE L.F., SEKERIS C.E., KARLSON P., 1970 - On the mechanism of hormone action. XVIII. Alterations of the nature of RNA synthesized in isolated fat body cell nuclei as a result of ecdysone and juvenile hormone action. Z. Naturforsch., 25, 279-284.
- COURGEON A.M., 1972 - Effects of  $\alpha$ - and  $\beta$ -ecdysone on *in vitro* diploid cell multiplication in *Drosophila melanogaster*. Nature, G.B., 238, 250-251.
- CRANE R.K., 1966 - Structural and functional organization of an epithelial cell brush border. In: Symposia of the international society for cell biology. Intercellular transport, Werren K.B. editor. Academic Press Inc. New York, 5, 71-102.
- CSOKNYA M., HALÁSZ N., 1973 - Histological investigations on the intestine of *Palingenia longicauda* Oliv. (Ephemeroptera). Z. mikr. anat. Forsch., 87, 561-572.

## D

- DALLAI R., 1966 - L'ultrastuttura dell'intestino di *Orchesella villosa* (Geoffroy) (Insecta Collembola). Ann. Istit. Mus. Zool. Univ. Napoli, 17, 1-18.
- DALLAI R., 1970 - Glycoproteins in the *zonula continua* of the epithelium of the midgut in an Insect. J. Microscopie, 9, 277-280.
- DAY M.F., POWNING R.F., 1949 - A study of the processes of digestion in certain insects. Aust. J. Sci. Res. (B) 2, 175-215.
- DEEGENER P., 1904 - Die Entwicklung des darmkanals der Insekten während der Metamorphose. Zool. Jb. Abt. n. Ontog., 20, 499-676.
- DEHN Van M., 1933 - Untersuchungen über die Bildung der peritrophischen Membran bei den Insekten. Z. Zellforsch., 19, 79-105.
- DELBECQUE J.P., PROST M., MAUME B.F., DELACHAMBRE J., LAFONT R., MAUCHAMP B., 1975 - Dosage de la  $\beta$ -ecdysone par fragmentométrie de masse au cours du dernier stade larvaire de *Tenebrio molitor* L. (Insecte, Coléoptère). C.R.Acad. Sci. Paris, 281, 309-312.
- DEROUX-STALLA D., 1948 - Recherches expérimentales sur le rôles des "glandes ventrales" dans la mue et la métamorphose chez *Aeshna cyanea* Müll. (Odonata). C.R.Acad. Sci. Paris, 227, 1277-1278.
- DHAINAUT A., 1970 - Etude en microscopie électronique et par autoradiographie à haute résolution des extrusions nucléaires au cours de l'ovogenèse de *Nereis pelagica* (Annélide Polychète). J. Microscopie, 9, 99-118.
- DHAINAUT A., 1972 - Evolution nucléolaire au cours de l'ovogenèse de *Nereis pelagica* (Annélide Polychète). I. Etude morphologique. J. Microscopie, 13, 67-84.
- DUBOIS P., 1972 - Origine et développement de l'appareil de Golgi au cours de la différenciation cellulaire dans une glande endocrine chez l'homme : l'antéhypophyse foetale. J. Microscopie, 13, 193-206.

## E

- EDWARDS G.A., RUSKA H., HARVEN De E., 1958 - The fine structure of insects tracheoblasts, tracheae and tracheoles. *Archiv. Biol.*, 69, 351-369.
- EMMERICH H., 1968 - Beeinflussung der Imaginalentwicklung von *Tenebrio molitor* durch Farnesylmethylläther und Actinomycin. *Verh. dtsh. zool. Ges.*, 56, 519-526.
- ERICSSON J.L.E., 1969 - Mechanism of cellular autophagy. In : *Lysosomes in biology and pathology*, Dingle J.T. and Fell H.B. eds, North-Holland Publishing compagny, Amsterdam-London, 2, 345-394.
- ERICSSON J.L.E., TRUMP B.F., WEIBEL J., 1965 - Electron microscopic studies of the proximal tubule of the rat kidney. II. Cytosegregosomes and cytosomes, their relationship to each other and to the lysosome concept. *Lab. Invest.*, 14, 1341-1365.

## F

- FAIN-MAUREL M.A., CASSIER P., ALIBERT J., 1973 - Etude infrastructurale et cytochimique de l'intestin moyen de *Petrobius maritimus* Leach en rapport avec ses fonctions excrétrices et digestives. *Tissue and Cell*, 5, 603-631.
- FAVARD-SERENO C., 1964 - Phénomène de pinocytose, au cours de la vitellogenèse protéique chez le grillon (Orthoptère). *J. Microscopie*, 3, 323-338.
- FAWCETT D.W., ANDERSON W.A., PHILLIPS D.M., 1971 - Morphogenetic factors influencing the shape of the sperm head. *Develop. Biol.*, 26, 220-251.
- FICQ A., 1961 - Contribution à l'étude du métabolisme cellulaire au moyen de la méthode autoradiographique. *Inst. Inter. Univ. Sc. Nucl. Bruxelles*, Monographie, 9, 121 p.
- FLICKINGER C.J., 1968 a - The effects of enucleation on the cytoplasmic membranes of *Amoeba proteus*. *J. Cell Biol.*, 37, 300-315.



- FLICKINGER C.J., 1968 b - Cytoplasmic alterations in amebae treated with actinomycin D. A comparison with the effects of surgical enucleation. *Exp. Cell Res.*, 53, 241-251.
- FLICKINGER C.J., 1973 - Nuclear and mitochondrial alterations in amebae exposed to ethidium bromide. *Exp. Cell Res.*, 81, 293-300.
- FRANCOIS J., 1973 - Sur la présence de fibroblastes caractéristiques chez le Thysanoure *Thermobia domestica* (Packard) (Insecte Aptérygote). *C.R.Acad. Sci. Paris*, 277, 2505-2507.
- FRANCOIS J., 1975 - Hémocytes et organe hématopoiétique de *Thermobia domestica* (Packard) (Thysanura : Lepismatidae). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.*, 4, 477-494.
- FRANKE W.W., SCHEER U., 1970 - The ultrastructure of the nuclear envelope of Amphibian oocytes : a reinvestigation. II. The immature oocyte and dynamics aspects. *J. Ultrastruct. Res.*, 30, 317- 327
- FRIEND D.S., FARQUHAR M.G., 1967 - Functions of coated vesicles during protein absorption in the rat vas deferens. *J. Cell Biol.*, 35, 357-376.
- FRISTROM J.W., GREGG T.L., SIEGEL J., 1974 - The effect of  $\beta$ -ecdysone on protein synthesis in imaginal disks of *Drosophila melanogaster* cultured *in vitro*. *Develop. Biol.*, 41, 301-313.
- FULLILOVE S.L., JACOBSON A.G., 1971 - Nuclear elongation and cytokinesis in *Drosophila montana*. *Develop. Biol.*, 26, 560 -577.

## G

- GABE M., 1973 - Etat actuel des connaissances sur les cellules endocrines gastro-intestinales des vertébrés. *Ann. Biol.*, 12, 209-279.
- GALJAARD H., MEER-FIEGENN W. Van Der, GIESEN J., 1972 - Feedback control by functional villus cells in cell proliferation and maturation in intestinal epithelium. *Exp. Cell Res.*, 73, 197-207.

- GARANT P.R., NALBANDIAN J., 1968 - Observations on the ultrastructure of ameloblasts with special reference to the Golgi complex and related components. J. Ultrastruct. Res., 23, 427-443.
- GARTNER L.P., 1976 - Fine structure of adult *Drosophila* midgut musculature. J. Submicr. Cytol., 8, 131-136.
- GILBERT L.I., SCHNEIDERMAN H.A., 1960 - The development of a bioassay for the juvenile hormone of insects. Trans. Am. Micr. Soc., 79, 38-67.
- GILBERT L.I., GOODMAN W., NOWOCK J., 1975 - The possible roles of binding proteins in juvenile hormone metabolism and action. Colloques internationaux C.N.R.S 251, 413-434.
- GILULA N.B., FAWCETT D.W., AOKI A., 1976 - The Sertoli cell occluding junctions and gap junctions in mature and developing mammalian testis. Develop. Biol., 50, 142-168.
- GOLDSTEIN M.A., BURDETTE W.J., 1971 - Striated visceral muscle of *Drosophila melanogaster*. J. Morphol., 134, 315-334.
- GUPTA B.L., BERRIDGE M.J., 1966 - Fine structural organization of the rectum in the blowfly *Calliphora erythrocephala* (Meig.) with special reference to connective tissues tracheae and neurosecretory innervation in the rectal papillae. J. Morphol., 120, 23-82.

## H

- HAGOPIAN M., 1971 - Unique structures in the insect granular hemocytes. J. Ultrastruct. Res., 36, 646-658.
- HASEMAN , 1910 - Structure and metamorphosis of the alimentary canal of *Psychoda alternata* Say. Ann. Ent. Soc. Amer., 3, 277-313.
- HECKER H., FREYVOGEL T.A., BRIEGEL H., STEIGER R., 1971 - The ultrastructure of midgut epithelium in *Aedes aegypti*(L.) (Insecta Diptera) males. Acta trop., 28, 275-290.

- HEINRICH D., ZEBE E., 1973 - Zur Feinstruktur der Mitteldarmzellen von *Locusta migratoria* in verschiedenen Phasen der Verdauung. *Cytobiologie*, 7, 315-326.
- HEINRICH D., SURHOLT B., ZEBE E., 1974 - Autoradiographische Untersuchungen zum Einbau von <sup>14</sup>C-Glukose und <sup>3</sup>H-N-Acetyl-Glukosamin bei der Wanderheuschrecke *Locusta migratoria*. *Cytobiologie*, 9, 45-58.
- HELMINEN H.J., ERICSSON J.L.E., 1968 - Studies on mammary gland involution. III. Alterations outside auto- and heterophagocytic pathways for cytoplasmic degradation. *J. Ultrastruct. Res.*, 25, 228-239.
- HICKS R.M., 1966 - The function of the Golgi complex in transitional epithelium. Synthesis of the thick cell membrane. *J. Cell Biol.*, 30, 623-643.
- HOFFMANN J.A., 1966 - Etude ultrastructurale de deux hémocytes à granules de *Locusta migratoria* (Orthoptère). *C.R.Acad. Sci.Paris*, 263, 521-524.
- HOFFMANN J.A., KOOLMAN J., KARLSON P., JOLY P., 1974 - Molting hormone titre and metabolic fate of injected ecdysone during the fifth larval instar and in adults of *Locusta migratoria* (Orthoptera). *Gen. Comp. Endocr.*, 22, 90-97.
- HOFFMANN J.A., KOOLMAN J., BEYLER C., 1975 - Rôle des glandes prothoraciques dans la production d'ecdysone au cours du dernier stade larvaire de *Locusta migratoria* L. *C.R.Acad. Sci. Paris*, 280, 733-736.
- HOURDRY J., 1969 - Remaniements ultrastructuraux de l'épithélium intestinal chez la larve d'un amphibien anoure en métamorphose *Alytes obstetricans* Laur. I. Phénomènes histolytiques. *Z. Zellforsch.*, 101, 527-554.
- HOURDRY J., 1971 - Etude histochimique de quelques hydrolases lysosomiques de l'épithélium intestinal, au cours du développement de la larve de *Discoglossus pictus* Otth, Amphibien anoure. I. Observation au microscope photonique. *Histochemie*, 26, 126-141.

HUMBERT W., 1974 - Localisation, structure et genèse des concrétions minérales dans le mésentéron des Collemboles Tomoceridae (Insecta, Collembola). Z. Morph. Tiere, 78, 93-109.

## I

ITO S., 1965 - The enteric surface coat on cat intestinal microvilli. J. Cell Biol., 27, 475-491.

## J

JAMIESON J.D., PALADE G.E., 1967 a - Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. I. Role of the peripheral elements of the Golgi complex. J. Cell Biol., 34, 577-596.

JAMIESON J.D., PALADE G.E., 1967 b - Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. II. Transport to condensing vacuoles and zymogen granules. J. Cell Biol., 34, 597-615.

JAMIESON J.D., PALADE G.E., 1971 - Synthesis, intracellular transport and discharge of secretory proteins in stimulated pancreatic exocrine cells. J. Cell Biol., 50, 135-158.

JEANTET-GRENARD A.Y., 1969 - Différenciation des cellules intestinales au début de la nymphose de *Formica rufa polyctena* (Hyménoptère). Bull. Soc. Zool., 94, 297.

JEANTET A.Y., 1971 - Recherches histophysiologiques sur le développement post-embryonnaire et le cycle annuel de *Formica* (Hyménoptère). II. Particularités histochimiques et ultrastructurales de l'intestin moyen de *Formica polyctena* Foerst. Z. Zellforsch., 116, 405-424.

JOHNSON C.F., 1966 - Intestinal invertase activity and a macromolecular repeating unit of hamster brush border plasma membrane. In : Proc. 6th Intern. Congr. Electron Microscopy, Kyoto, UYEDA R. editor, 2, 389.

JOLY L., JOLY P., 1975 - Interaction entre l'hormone juvénile et l'ecdysone chez *Locusta migratoria* L. 3ème Colloque Physiologie Insectes Strasbourg.

## K

KERR J.F.R., WYLLIE A.H., CURRIE A.R., 1972 - Apoptosis : a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer*, 26, 239-257.

KESSEL R.G., 1963 - Electron microscopic studies on the origine of annulate lamellae in oocytes of *Necturus*. *J. Cell Biol.*, 19, 391-414.

KESSEL R.G., 1966 - Some observations on the ultrastructure of the oocyte of *Thyone briareus* with special reference to the relationship of the Golgi complex and endoplasmic reticulum in the formation of yolk. *J. Ultrastruct. Res.*, 16, 305-319.

KESSEL R.G., 1968 - Annulate lamellae. *J. Ultrastruct. Res.*, suppl. 10, 1-82.

KESSEL R.G., 1971 - Origin of the Golgi apparatus in embryonic cells of the grasshopper. *J. Ultrastruct. Res.*, 34, 260-273.

KIM S.K., NASJLETI C.E., HAN S.S., 1972 - The secretion processes in mucous and serous secretory cells of the rat sublingual gland. *J. Ultrastruct. Res.*, 38, 371-389.

KING D.S., BOLLENBACHER W.E., BORST D.W., VEDECKIS W.V., O'CONNOR J.D., ITTYCHERIAH P.I., GILBERT L.I., 1974 - The secretion of  $\alpha$ -ecdysone by the prothoracic glands of *Manduca sexta* *in vitro*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 71, 793-796.

KRISHNAKUMARAN A., SCHNEIDERMAN H.A., 1963 - Brain hormone activity of certain terpene derivatives in insects. *Am. Zool.*, 3, 532.

KRISHNAKUMARAN A., SCHNEIDERMAN H.A., 1965 - Prothoracotrophic activity of compounds that mimic juvenile hormone. *J. Insect Physiol.*, 11, 1517-1532.

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.

KÜMMEL G., 1956 - Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die chitinösen Auskleidungen der verschiedenen Abschnitte des Insektendarms. Z. Morph. Ökol. Tiere, 45, 309-342

L

LAFONT R., DELBECQUE J.P., HYS De L., MAUCHAMP B., PENNETIER J.L., 1974 - Etude du taux de  $\beta$ -ecdysone dans l'hémolymphe de *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera). C.R.Acad. Sci. Paris, 279, 1911-1914.

LAGUNOFF D., 1973 - Membrane fusion during mast cell secretion. J. Cell Biol., 57, 252-257.

LAVERDURE A., 1971 - Etude des conditions hormonales nécessaires à l'évolution de l'ovaire chez la nymphe de *Tenebrio molitor* (Coléoptère). Gen. Comp. Endocr., 17, 467-478.

LEDUC E.H., BERNHARD W., 1967 - Recent modifications of the glycol methacrylate embedding procedure. J. Ultrastruct. Res., 19, 196-199.

LEHANE M.J., 1976 - Digestive enzyme secretion in *Stomoxys calcitrans* (Diptera : Muscidae). Cell Tiss. Res., 170, 275-287.

LEZZI M., 1974 - *In vitro* effects of juvenile hormone on puffing in *Chironomus salivary* glands. Molec. Cell. Endocr., 1, 189-207.

LOCKE M., 1957 - The structure of insect tracheae. Quart. J. Microsc. Sci., 98, 487-492.

LOCKE M., 1958 - The formation of tracheae and tracheoles in *Rhodnius prolixus*. Quart. J. Microsc. Sci., 99, 29-46.

LOCKE M., 1964 - The structure and formation of the integument in insects. In : The Physiology of Insecta, Rockstein M. editor, Academic Press, New York, 3, 379-470.

- LOCKE M., 1966 - The structure and formation of the cuticulin layer in the epicuticle of an insect, *Calpodes ethlius* (Lep. Hesperidae). J. Morphol., 118, 461-494.
- LOCKE M., HUIE P., SYKES A.K., 1973 - An intercellular phosphatase in the epidermis of an insect. J. Cell Biol., 59, 199 a.
- LOCKSHIN R.A., WILLIAMS C.M., 1965 - Programmed cell death. V. Cytolytic enzymes in relation to the breakdown of the intersegmental muscles of silkmths. J. Insect Physiol., 11, 831-844.
- LOGAN W.R., FRISTROM D., FRISTROM J.W., 1975 - Effect of ecdysone and juvenile hormone on DNA metabolism of imaginal disks of *Drosophila melanogaster*. J. Insect Physiol., 21, 1343-1354.
- LOTMAR R., 1940 - Das Mitteldarmepithel der Raupe von *Tineola biselliella* (Kleidermotte), insbesondere sein Verhalten während der Häutungen. Mitt. schweiz. ent. Ges., 18, 233-248.
- LOTMAR R., 1942 - Das Mitteldarmepithel der Raupe von *Tineola biselliella* (Kleidermotte) während der Metamorphose. Mitt. schweiz. ent. Ges., 18, 445-455.
- LOTMAR R., 1945 - Die Metamorphose des Bienendarms (*Apis mellifica*). Schweiz. Bienen-Ztg., 443-506.

## M

- MANDARON P., 1973 - Effects of  $\alpha$ -ecdysone,  $\beta$ -ecdysone and inokosterone on the *in vitro* evagination of *Drosophila* leg disks and the subsequent differentiation of internal integumentary structures. Develop. Biol., 31, 101-113.
- MARMARAS V.J., SEKERIS C.E., 1972 - Pattern and activity of polyribosomes from integument of blowfly larvae during development-stimulation of polyribosome formation with  $\beta$ -ecdysone. Exp. Cell Res., 75, 143-153.

- MARTOJA R., 1970 - Sur la sous cuticule et la basale du canal éjaculateur d'un Insecte *Locusta migratoria* (Orthoptère). J. Microscopie, 9, 643-652.
- MARTOJA R., BASSOT J.M., 1965 - Existence d'un tissu conjonctif de type cartilagineux chez certains Insectes Orthoptères. C.R.Acad. Sci. Paris, 261, 2954-2957.
- MASUR S.K., HOLTZMAN E., WALTER R., 1972 - Hormone-stimulated exocytosis in the toad urinary bladder. Some possible implications for turnover of surface membranes. J. Cell Biol., 52, 211-219.
- MAYER-CRIEL De G., 1971 - Localisation de la phosphatase acide au niveau des cloisons intercellulaires dans la glande coquillière d'*Artemia salina*. Arch. Biol. Liège, 82, 163-165.
- McGILL M., HSU T.C., BRINKLEY B.R., 1973 - Electron-dense structures in mitochondria induced by short-term ethidium bromide treatment. J. Cell Biol., 59, 260-265.
- MELDOLESI J., 1974 - Dynamics of cytoplasmic membranes in guinea pig pancreatic acinar cells. I. Synthesis and turnover of membrane proteins. J. Cell Biol., 61, 1-13.
- MELDOLESI J., COVA D., 1971 - In vitro stimulation of enzyme secretion and the synthesis of microsomal membranes in the pancreas of the guinea pig. J. Cell Biol., 51, 396-404.
- MERCER E.H., DAY M.F., 1952 - The fine structure of the peritrophic membranes of certain insects. Biol. Bull., 103, 384-394.
- MICHAELS J.E., LEBLOND C.P., 1976 - Transport of glycoprotein from Golgi apparatus to cell surface by means of "carrier" vesicles, as shown by radioautography of mouse colonic epithelium after injection of 3H fucose. J. Microscopie Biol. Cell., 25, 243-248.



- MILLER F., PALADE G.E., 1964 - Lytic activities in renal protein absorption droplets. An electron microscopical cytochemical study. *J. Cell Biol.*, 23, 519-552.
- MILLER P.L., 1964 - Respiration aerial gas transport. In : *The Physiology of Insecta*, M. Rockstein, editor, Academic Press, New-York, 3, 558-615.
- MISCH D.W., 1963 - The relationship of phosphomonoesterase to histolysis of larval tissues in the flesh fly *Sarcophaga bullata* (Parker). *Diss. Abstr.*, 24, 904.
- MISCH D.W., 1965 - Alteration in subcellular structure of metamorphosing intestinal cells. *Amer. Zool.*, 5, 699.
- MÖBUSZ A., 1897 - Über den Darmkanal der *Anthrenus* larve nebst Bemerkungen zur Epithelregeneration. *Arch. Naturgesch.*, 63, 89-108.
- MORAN D.T., 1971 - The fine structure of cockroach blood cells. *Tissue and Cell*, 3, 413-422.
- MORIYAMA H., NAKANISHI K., KING D.S., OKAUCHI T., SIDDALL J.B., HAFFERL W., 1970 - On the origin and metabolic fate of  $\alpha$ -ecdysone in insects. *Gen. Comp. Endocr.*, 15, 80-87.
- MORRE D.J., MOLLENHAUER H.H., BRACKER C.E., 1971 - In : *Origin and continuity of cell organelles*, Reinert J. and Ursprung H., editors, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, II, 82-126.
- MOUZE M., ANDRIES J.C., SCHALLER F., 1973 - Effets sur la mue et la métamorphose de l'injection d'ecdysones à des larves permanentes du dernier stade d'*Aeshna cyanea* (Insecte Odonate). *C.R. Acad. Sci. Paris*, 277, 2509-2512.
- MOYNE G., 1973 - Feulgen-derived techniques for electron microscopical cytochemistry of DNA. *J. Ultrastruct. Res.*, 45, 102-103.

## N

- NAGAI T., GRAHAM W.G., 1974 - Insect visceral muscle. Fine structure of the proctodeal muscle fibres. *J. Insect Physiol.*, 20, 1999-2013.
- NEEDHAM J.G., 1897 - The digestive epithelium of dragonfly nymphs. *Zool. Bull.*, 1, 103-113.
- NEUFELD G.J., THOMSON J.A., HORN D.H.S., 1968 - Short-term effects of crustecdysone (20-hydroxyecdysone) on protein and RNA synthesis in third instar larvae of *Calliphora*. *J. Insect Physiol.*, 14, 789-804.
- NIJHOUT H.F., 1976 - The role of ecdysone in pupation of *Manduca sexta*. *J. Insect Physiol.*, 22, 453-463.
- NISIZAWA K., YAMAGUCHI T., HANDA N., MAEDA M., YAMAZAKI H., 1963 - Chemical nature of a uronic acid containing polysaccharide in the peritrophic membrane of the silkworm. *J. Biochem.*, 54, 419-426.
- NOIROT C., NOIROT-TIMOTHEE C., 1967 - Un nouveau type de jonction intercellulaire (*zonula continua*) dans l'intestin moyen des Insectes. *C.R.Acad. Sci. Paris*, 264, 2796-2798.
- NOIROT C., NOIROT-TIMOTHEE C., 1972 - Structure fine de la bordure en brosse de l'intestin moyen chez les Insectes. *J. Microscopie*, 13, 85-96.
- NOIROT-TIMOTHEE C., NOIROT C., 1965 - L'intestin moyen chez la reine des Termites supérieurs. Etude au microscope électronique. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 7, 185-208.
- NOPANITAYA W., MISH D.W., 1974 - Developmental cytology of the midgut in the flesh fly, *Sarcophaga bullata* (Parker). *Tissue and Cell*, 6, 487-502.
- NORBERG H.S., 1972 - The follicular oocyte and its granulosa cells in domestic pig. *Z. Zellforsch.*, 131, 497-517.
- NØRREVANG A., 1968 - Electron microscopic morphology of oogenesis. *Int. Rev. Cytol.*, 23, 113-186.

## 0

- OBERLANDER H., 1969 a - Effects of ecdysone, ecdysterone and inokosterone on the *in vitro* initiation 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, 1803-1806.
- OBERLANDER H., 1972 -  $\alpha$ -ecdysone induced DNA synthesis in cultured wing disks of *Galleria mellonella* : inhibition by 20-hydroxyecdysone and 22-isoecdysone. J. Insect Physiol., 18, 223-228.
- OBERLANDER H., TOMBLIN C., 1972 - Cuticle deposition in imaginal disks : effects of juvenile hormone and fat body *in vitro*. Science, U.S.A., 177, 441-442.
- ODHIAMBO T.R., 1970 - The architecture of the accessory reproductive glands of the male desert locust. III. Components of the muscular wall. Tissue and Cell, 2, 233-248.
- OHMORI K., OHTAKI T., 1973 - Effects of ecdysone analogues on development and metabolic activity of wing disks of the fleshfly *Sarcophaga peregrina*, *in vitro*. J. Insect Physiol., 19, 1199-1210.
- ONO M., KATO S., 1968 - Amino acid composition of the peritrophic membrane in the silk worm, *Bombyx mori* L. Bull. Sericult. exp. Stat., 23, 1-8.
- OVERTON J., 1965 - Fine structure of the free cell surface in developing mouse intestinal mucosa. J. exp. Zool., 159, 195-202.
- OVERTON J., SHOUP J., 1964 - Fine structure of cell surface specializations in the maturing duodenal mucosa of the chick. J. Cell Biol., 21, 75-85.

## P

- PALADE G.E., 1975 - Intracellular aspects of the process of protein secretion. Science, 189, 347-358.

- PALADE G.E., BRUNS R.R., 1968 - Structural modulations of plasmalemma vesicles. J. Cell Biol., 37, 633-649.
- PAPILLON M., FAIN-MAUREL M.A., CASSIER P., 1974 - Contribution à l'étude morphologique de l'intestin moyen de *Locusta migratoria migratorioides* (R. et F.). Rech. Biol. contemporaines, 119-138.
- PASTEELS J.J., 1971 - Activité phosphatasique acide dans les cloisons intercellulaires de l'épithélium branchial de *Mytilus edulis* (Mollusque Lamelli-branchie). Arch. Biol. Liège, 82, 567-570.
- PATAY R., 1939 - Contribution à l'étude d'un Coléoptère *Leptinotarsa decemlineata* (Say). Evolution des organes au cours du développement. Bull. Soc. Sci. Bretagne, 16, 1-145.
- PATEL N., MADHAVAN K., 1969 - Effects of hormones on RNA and protein synthesis in the imaginal wing disks of the Ricini silkworm. J. Insect Physiol., 15, 2141-2150.
- PAULSON J., ROSENBERG M.D., 1972 - The function and transposition of lining bodies in developing avian oocytes. J. Ultrastruct. Res., 40, 25-43.
- PEHANI H., RAKOVEC V., PIPAN N., 1969 - Microscopie électronique des cellules de l'intestin moyen d'abeilles nourries normalement et d'abeilles affamées. Bull. apic. Fr., 12, 131-146.
- PEREZ C., 1903 - Contribution à l'étude des métamorphoses. Bull. Scient. Fr. Belg., 37, 195-405.
- PEREZ C., 1910 - Recherches histologiques sur la métamorphose des Muscidés : *Calliphora erythrocephala* Mg. Arch. Zool. exp. gen., 5, 1-274.
- PETERS W., 1968 - Vorkommen, Zusammensetzung und Feinstruktur peritrophischer Membranen in Tierreich. Z. Morph. Tiere Dtsch., 62, 9-57.
- PETRI W.H., FRISTROM J.W., STEWART D.J., HANLY E.W., 1971 - The *in vitro* synthesis and characteristics of ribosomal RNA in imaginal disks of *Drosophila melanogaster*. Mol. Gen. Genet., 110, 245-262.

- PIEPHO H., 1963 - Wirkung des juvenilhormons auf den Mitteldarm der Wachsmotte.  
J. Insect Physiol., 9, 713-719.
- PIEPHO H., HOLZ I., JUNG U., 1964 - Hormonale Verjüngung des Mitteldarmes.  
Naturwissenschaften, 51, 250.
- PIPA R.L., WOOLEVER P.S., 1964 - Insect neurometamorphosis. I. Histological changes during ventral nerve cord shortening in *Galleria mellonella* L. Z. Zellforsch., 63, 405-417.
- PIPA R.L., WOOLEVER P.S., 1965 - Insect neurometamorphosis. II. The fine structure of perineurial connective tissue, adipohaemocytes, and the shortening ventral nerve cord of a moth *Galleria mellonella* (L.). Z. Zellforsch., 68, 80-101.
- PLANTEVIN G., 1975 - Contribution à l'étude de la biologie de *Galleria mellonella*. La différenciation des cellules épithéliales de l'intestin et son contrôle hormonal. Thèse doctorat es-Sciences Lyon.
- PLATZER-SCHULTZ I., 1969 - Zur Entstehung und Feinstruktur der peritrophischen Membran der Larven von *Chironomus strenzkei*. Fihkau (Diptera). Z. Zellforsch., 100, 594-605.
- POLYARKOFF E., 1910 - Recherches histologiques sur la métamorphose d'un Coléoptère. Arch. Anat. amer., 12, 333-472.
- PRIESTER W. De, 1971 - Ultrastructure of the midgut epithelial cells in the fly *Calliphora erythrocephala*. J. Ultrastruct. Res., 36, 783-805.
- PRIESTER W. De, 1972 - Ultrastructural changes in the developing midgut epithelium of *Calliphora erythrocephala* Meigen. Z. Zellforsch., 129, 278-289.

## R

- RADFORD S.V., MISCH D.W., 1971 - The cytological effect of ecdysterone on the midgut cells of the flesh fly *Sarcophaga bullata*. J. Cell Biol., 49, 702-711.

- RAFIQ KHAN M., FORD J.B., 1962 - Studies on digestive enzyme production and its relationship to the cytology of the midgut epithelium in *Dysdercus fasciatus* Sign. (Hemiptera, Pyrrhocoridae). J. Insect Physiol., 8, 597-608.
- RAIKOV R., FRISTROM J.W., 1971 - Effects of  $\beta$ -ecdysone on RNA metabolism of imaginal disks of *Drosophila melanogaster*. J. Insect Physiol., 17, 1599-1614.
- RAMBOURG A., 1967 - Détection des glycoprotéines en microscopie électronique : coloration de la surface cellulaire et de l'appareil de Golgi par un mélange acide chromique-phosphotungstique. C.R.Acad. Sci. Paris, 265, 1426-1428.
- RAMBOURG A., HERNANDEZ W., LEBLOND C.P., 1969 - Detection of complex carbohydrates in the Golgi apparatus of rat cells. J. Cell Biol., 40, 395-414.
- RAO K.D.P., KRISHNAKUMARAN A., 1974 - Effect of juvenile hormone on DNA synthesis during embryogenesis in *Acheta domesticus*. Wilhem Roux'archiv., 174, 276-284.
- RICE M.J., 1970 - Supercontracting and non-supercontracting visceral muscle in the tse-tse fly, *Glossina austeri*. J. Insect Physiol., 16, 1109-1122.
- RICHARDS A.G., RICHARDS P.A., 1971 - Origin and composition of the peritrophic membrane of the mosquito, *Aedes aegypti*. J. Insect Physiol., 17, 2253-2275.
- RIDDIFORD L.M., 1972 - Juvenile hormone in relation to the larval pupal transformation of the cecropia silkworm. Biol. Bull., 142, 310-325.
- RIDDIFORD L.M., 1975 - Juvenile hormone-induced delay of metamorphosis of the viscera of the cecropia silkworm. Biol. Bull., 148, 429-439.
- RIJKE R.P.C., PLAISIER H., HOOGEVEEN L.F., LAMERTON L.F., GALJAARD H., 1975 - The effects of continuous irradiation on cell proliferation and maturation in small intestinal epithelium. Cell tissue kinet., 8, 441-454.
- ROBERT P.A., 1958 - Les libellules (Odonates). Neuchatel Delachaux et Niestlé, S.A. Editors.

ROHLICH P., 1962 - Formation of the brush border by fusion of vesicles. In Electron microscopy. Fifth international Congress for Electron microscopy Philadelphia 1962, Breese S.S. Jr, Editor. Academic Press, Inc., New York, 2, II-5.

ROMER F., EMMERICH H., NOWOCK J., 1974 - Biosynthesis of ecdysones in isolated prothoracic glands and oenocytes of *Tenebrio molitor in vitro*. J. Insect Physiol., 20, 1975-1987.

RUH M.F., RUH T.S., DEWERT W., DUENAS V., 1974 - Ecdysterone-induced protein synthesis *in vitro*. J. Insect Physiol., 20, 1729-1736.

## S

SABATINI D.D., BENSCH K., BARNETT R.J., 1963 - Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. J. Cell Biol., 17, 19-58.

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, 1649-1654.

SANDBORN E.B., DUCLOS S., MESSIER P.E., ROBERGE J.J., 1967 - Atypical intestinal striated muscle in *Drosophila melanogaster*. J. Ultrastruct. Res., 18, 695-702.

SCHAEFER C.W., VANDERBERG J.P., RHODIN J., 1967 - The fine structure of mosquito midgut muscle. J. Cell Biol., 34, 905-911.

SCHALLER F., 1960 - Etude du développement post-embryonnaire d'*Aeshna cyanea* Müll. Ann. Sci. nat. Zool., 12, 751-868.

SCHALLER F., ANDRIES J.C., 1970 a - Effets d'une inhibition de la métamorphose sur l'activité des nids de régénération dans l'intestin moyen d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte Odonate). C.R.Acad. Sci. Paris, 270, 3079-3082.

- SCHALLER F., ANDRIES J.C., 1970 b - Rôle de l'ecdysone dans la multiplication des cellules de régénération de l'intestin moyen chez la larve d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte, Odonate). C.R.Acad. Sci. Paris, 271, 426-429.
- SCHALLER F., HOFFMANN J., 1973 - Evolution du taux d'ecdysone au cours du dernier stade larvaire d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte, Odonate). C.R.Acad. Sci. Paris, 277, 741-743.
- SCHALLER F., DEFOSSEZ A., 1974 - Inhibition de la métamorphose de larves d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte Odonate) par un mimétique de l'hormone juvénile. Arch. Entw. Mech. Org., 174, 20-32.
- SCHALLER F., HOFFMANN J., 1975 - Métabolisme de l' $\alpha$ -ecdysone *in vivo* et *in vitro* chez *Aeshna cyanea* (Insecte, Odonate). Colloques internationaux C.N.R.S., 251, 393-401.
- SCHALLER F., HOFFMANN J., KOOLMAN J., 1975 - Métabolisme de l'ecdysone chez *Aeshna cyanea* (Insecte, Odonate). Résultats d'injections d' $\alpha$ -ecdysone radioactive à des animaux normaux et à des larves au cycle de mue bloqué. C.R.Acad. Sci. Paris, 280, 1813-1816.
- SCHARRER B., 1972 - Cytophysiological features of hemocytes in cockroaches. Z.Zellforsch., 129, 301-319.
- SCHARRER B., WURZELMANN S., 1969 - Ultrastructural study on nuclear-cytoplasmic relationships in oocytes of the African lungfish *Protopterus aethiopicus*. Z. Zellforsch., 96, 325-343.
- SCHNEIDERMAN H.A., KRISHNAKUMARAN A., KULKARNI V.G., FRIEDMAN L., 1965 - Juvenile hormone activity of structurally unrelated compounds. J. Insect Physiol., 11, 1641-1649.
- SEHNAL F., 1968 - Influence of the corpus allatum on the development of internal organs in *Galleria mellonella* L. J. Insect Physiol., 14, 73-85.
- SEHNAL F., MEYER A.S., 1968 - Larval-pupal transformation : control by juvenile hormone. Science, 159, 981-984.



- SEKERIS C.E., 1972 - Ecdysone and RNA synthesis in target tissues. Gen. Comp. Endocr., (suppl.) 3, 149-158.
- SEKERIS C.E., LANG N., KARLSON P., 1965 - Zum Wirkungsmechanismus der Hormone. V. Der Einfluss von Ecdyson auf der RNA Stoffwechsel in der Epidermis der Schmeissfliege *Calliphora erythrocephala*. Z. Physiol. Chem., 341, 36-43.
- SELIGMANN A.M., HANKER J.S., WASSERKRUG H., DMOCHOWSKI H.M., KATZOFF L., 1965 - Histochemical demonstration of some oxidized macromolecules with thio-carbohydrazide (TCH) or thiosemicarbazide (TSC) and osmium tetroxide. J. Histochem. Cytochem., 13, 629-639.
- SELIGMAN M., FILSHIE B.K., DOY F.A., CROSSLEY A.C., 1975 - Hormonal control of morphogenetic cell death of the wing hypodermis in *Lucilia cuprina*. Tissue and Cell, 7, 281-296.
- SELMAN K., KAFATOS F.C., 1974 - Thymidine metabolism and the monitoring of DNA synthesis in insects. J. Insect Physiol., 20, 513-528.
- SHAFIQ S.A., 1963 - Electron microscopy of the development of tracheoles in *Drosophila melanogaster*. Quart. J. Microsc. Sci., 104, 135-140.
- SIEGEL J.G., FRISTROM J.W., 1974 - The effect of  $\beta$ -ecdysone on protein synthesis in imaginal disks of *Drosophila melanogaster* cultured *in vitro*. Develop. Biol., 41, 314-330.
- SIEW Y.C., GILBERT L.I., 1971 - Effects of moulting hormone and juvenile hormone on insect endocrine gland activity. J. Insect Physiol., 17, 2095-2104.
- SMITH D.S., 1961 a - The structure of insect fibrillar flight muscle. J. Biophys. Biochem. Cytol., 10, suppl., 123-158.
- SMITH D.S., 1961 b - The organization of the flight muscle in a dragonfly, *Aeshna* sp. (Odonata). J. Biophys. Biochem. Cytol., 11, 119-146.

- SMITH D.S., 1963 - The organization and innervation of the luminescent organ in a firefly *Photuris pennsylvanica* (Coleopt.). J. Cell Biol., 16, 323-359.
- SMITH D.S., 1966 - The organization of flight muscle fibres in the Odonata. J. Cell Biol., 28, 109-126.
- SMITH D.S., 1968 - Insect cells. Their structure and function. Oliver and Boyd editors, Edinburgh.
- SMITH D.S., GUPTA B.L., SMITH U., 1966 - The organization and myofilaments array of insect visceral muscles. J. Cell Science, 1, 49-57.
- SMITH D.S., COMPHER K., JANNERS M., LIPTON C., WITTLE L.W., 1969 - Cellular organization and ferritin uptake in the midgut epithelium of a moth ; *Ephestia kühniella*. J. Morphol., 127, 31-72.
- SOCHA R., SEHNAL F., 1972 - Inhibition of adult development in *Tenebrio molitor* by insect hormones and antibiotics. J. Insect Physiol., 18, 317-337.
- SOCHA R., SEHNAL F., 1973 - Inhibition of insect development by simultaneous action of prothoracic gland hormone and juvenile hormone. J. Insect Physiol., 19, 1449-1453.
- SOLCIA E., CAPELLA C., VASSALIO G., BUFFA R., 1975 - Endocrine cells of gastric mucosa. Int. Rev. Cytol., 42, 223-286.
- STARRE-MOLEN Van Der L.G., PRIESTER De W., 1972 - Brush border formation in the midgut of an insect *Calliphora erythrocephala* Meigen. The formation of microvilli in the midgut during embryonic development. Z. Zellforsch., 125, 295-305.
- STAÜBLI W., FREYVOGEL T.A., SUTER J., 1966 - Structural modification of the endoplasmic reticulum of midgut epithelium cells of mosquitoes in relation to blood intake. J. Microscopie, 5, 189-204.

STEVENS A.R., 1967 - Machinery for exchange across the nuclear membrane. In : The control of nuclear activity. Goldstein L., editor, Englewood Cliffs, New Jersey, Prentice-Hall, Inc., 189.

STEVENS B.J., SWIFT H., 1966 - RNA transport from nucleus to cytoplasm in *Chironomus* salivary glands. J. Cell Biol., 31, 55-77.

STRAUB E., 1943 - Stadien und Darmkanal der Odonaten in Metamorphose und Häutung, sowie die Bedeutung der Schlüpfaktes für die systematische Biologie. Arch. Naturgesch., 12, 1-93.

## T

TANDLER B., POULSEN J.H., 1976 - Fusion of the envelope of mucous droplets with the luminal plasma membrane in acinar cells of the cat submandibular gland. J. Cell Biol., 68, 775-780.

TCHANG YUNG TAI, 1928 a - Les rénovations successives (partielles et totales) de l'épithélium de l'intestin moyen chez les chenilles de *Galleria mellonella*. C.R.Soc. Biol., 98, 204-205.

TCHANG YUNG TAI, 1928 b - La structure du tube digestif et les rénovations successives de l'épithélium de l'intestin moyen chez les chenilles d'*Achroia* (ou *Achroea*) *grisella*. C.R.Soc. Biol., 981, 580-582.

THIBAUD J.M., 1968 - Cycle du tube digestif lors de l'intermue chez les Hypogastruridae (Collemboles) épigés et cavernicoles. Rev. Ecol. Biol. Sol., 5, 647-655.

THIERY J.P., 1967 - Mise en évidence des polysaccharides sur coupes fines en microscopie électronique. J. Microscopie, 6, 987-1018.

TILNEY L.G., 1971 - Origin and continuity of microtubules. In : Origin and continuity of cell organelles, Reinert J. and Ursprung H. editors, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York II, 222-260.

- TONER P.G., 1968 - Cytology of intestinal epithelial cells. *Int. Rev. Cytol.*, 24, 233-343.
- TOSELLI P.A., PEPE F.A., 1968 a - The fine structure of the ventral intersegmental abdominal muscles of the Insect *Rhodnius prolixus* during the molting cycle. I. Muscle structure at molting. *J. Cell Biol.*, 37, 445-461.
- TOSELLI P.A., PEPE F.A., 1968 b - The fine structure of the ventral intersegmental abdominal muscles of the Insect *Rhodnius prolixus* during the molting cycle. II. Muscles changes in preparation for molting. *J. Cell Biol.*, 37, 462-481.
- TRUMAN J.W., RIDDIFORD L.M., 1974 - Physiology of insect rythms. III. The temporal organization of the endocrine events underlying pupation of the tobacco hornworm. *J. exp. Biol.*, 60, 371-382.
- TRUMAN J.W., RIDDIFORD L.M., SAFRANEK L., 1974 - Temporal patterns of response to ecdysone and juvenile hormone in the epidermis of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Develop. Biol.*, 39, 247-262.
- TRUMP B.F., GOLDBLATT P.J., STOWELL R.E., 1962 - An electron microscopic study of early cytoplasmic alterations in hepatic parenchymal cells of mouse liver during necrosis *in vitro* (autolysis). *Lab. Invest.*, 11, 986-1015.
- TRUMP B.J., GOLDBLATT P.J., STOWELL R.E., 1965 a - Studies on necrosis of mouse liver *in vitro*. Ultrastructural alterations in the mitochondria of hepatic parenchymal cells. *Lab. Invest.*, 14, 343-371.
- TRUMP B.J., GOLDBLATT P.J., STOWELL R.E., 1965 b - Studies on mouse liver necrosis *in vitro*. Ultrastructural and cytochemical alterations in hepatic parenchymal cell nuclei. *Lab. Invest.*, 14, 1969-1999.
- TS'AO C., 1970 - Lysosomes and acid phosphatase activity in normal aorta and vena cava. *Arch. Path.*, 89, 500-506.

## V

- VEDECKIS W.V., BOLLENBACHER W.E., GILBERT L.I., 1976 - Insect prothoracic glands : a role for cyclic AMP in the stimulation of  $\alpha$ -ecdysone secretion. *Molec. Cell. Endocrinol.*, 5, 81-88.
- VERSON E., 1905 - Zur Entwicklung des Darmkanals bei *Bombyx mori*. *Z. wiss. Zool.*, 82, 523-600.
- VIJVERBERG A.J., 1973 - Incorporation of tritiated thymidine in the wing and leg disks of *Calliphora erythrocephala* Meigen. Short term effect of ecdysterone on DNA synthesis during larval and prepupal development. *Neth. J. Zool.*, 23, 189-214.
- VIJVERBERG A.J., GINSEL L.A., 1976 - Juvenile hormone and DNA synthesis in imaginal disks of *Calliphora erythrocephala* : results of a new incubation technique. *J. Insect Physiol.*, 22, 181-186.
- VOINOV D.N., 1898 - Recherches physiologiques sur l'appareil digestif et le tissu adipeux des larves des Odonates. *Bull. Soc. Sti. Buc.*, 7, 472-493.
- VOLLRATH L., 1971 - Über die Mikrovillibildung im fetalen Rattendünndarm. *Z. Zellforsch.*, 114, 557-579.

## W

- WALL B.J., OSCHMAN J.L., 1973 - Structure and function of rectal pads in *Blatella* and *Blaberus* with respect to the mechanism of water uptake. *J. Morphol.*, 140, 105-108.
- WARREN R.H., PORTER K.R., 1968 - An electron microscope study of differentiation of the molting muscles of *Rhodnius prolixus*. *Am. J. Anat.*, 124, 1-30.
- WATERHOUSE D.F., 1957 - Digestion in insects. *Ann. Rev. Entomol.*, 2, 1-18.

- WATERHOUSE D.F., WRIGHT M., 1960 - The fine structure of the mosaic midgut epithelium of blowfly larvae. *J. Insect Physiol.*, 5, 230-239.
- WEBSTER D.A., GROSS J., 1970 - Studies on possible mechanisms of programmed cell death in the chick embryo. *Develop. Biol.*, 22, 157-184.
- WESTON J.C., 1968 - Ribosome-like granules within areas of the perinuclear space in cells of 13-14 somite embryos. *Z. Zellforsch.*, 87, 199-209.
- WEYER F., 1935 - Epithelerneuerung im Mitteldarm der Termiten während der Häutung. *Z. Morph. Oekol. Tiere Berlin*, 30, 648-672.
- WEYER F., 1936 - Regenerationsvorgänge am Mitteldarm der Insekten. *Verh. dtsh. Zool. Ges. Leipzig.*, 38, 157-163.
- WHALEY W.G., MOLLENHAUER H.H., 1963 - The Golgi apparatus and cell plate formation. A postulate. *J. Cell Biol.*, 17, 216-221.
- WIGGLESWORTH V.B., 1930 - The formation of the peritrophic membrane in insects, with special reference to the larvae of mosquitoes. *Quart. J. Micr. Sci.*, 73, 593-616.
- WIGGLESWORTH V.B., 1940 - The determination of characters at metamorphosis in *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). *J. exp. Biol.*, 17, 201-222.
- WIGGLESWORTH V.B., 1942 - The significance of "chromatic droplets" in the growth of Insects. *Quart. J. Micr. Sci.*, 83, 141-152.
- WIGGLESWORTH V.B., 1953 - The principles of insect physiology. Methuen and Co. Editors, London.
- WIGGLESWORTH V.B., 1954 - Growth and regeneration in the tracheal system of an insect, *Rhodnius prolixus* (Hemiptera). *Quart. J. Microscop. Sci.*, 95, 115-137.
- WIGGLESWORTH V.B., 1956 - The haemocytes and connective tissue formation in an insect, *Rhodnius prolixus*. *Quart. J. Microscop. Sci.*, 97, 89-98.
- WIGGLESWORTH V.B., 1959 - Insect blood cells. *Ann. Rev. Entomol.*, 4, 1-16.

- WIGGLESWORTH V.B., 1963 a - The action of moulting hormone and juvenile hormone at the cellular level in *Rhodnius prolixus*. J. exp. Biol., 40, 231-245.
- WIGGLESWORTH V.B., 1963 b - The juvenile hormone effect of farnesol and some related compound : quantitative experiments. J. Insect Physiol., 9, 105-119.
- WIGGLESWORTH V.B., 1969 a - Chemical structure and juvenile hormone activity : comparative tests on *Rhodnius prolixus*. J. Insect Physiol., 15, 73-94.
- WIGGLESWORTH V.B., 1969 b - Juvenile hormone assays in insects with special reference to metabolic breakdown. Gen. Comp. Endocr., 13, 541.
- WIGGLESWORTH V.B., 1973 - Haemocytes and basement membrane formation in *Rhodnius*. J. Insect Physiol., 19, 831-844.
- WILLIAMS J.R., LITTLE J.B., SHIPLEY W.U., 1974 - Association of mammalian cell death with a specific endonucleolytic degradation of DNA. Nature, 252, 754-755.
- WINZLER R.J., 1970 - Carbohydrates in cell surfaces. Int. Rev. Cytol., 29, 77-125.
- WISCHNITZER S., 1973 - The submicroscopic morphology of the interphase nucleus. Int. Rev. Cytol., 34, 1-48.
- WRIGHT R.D., SAUER J.R., MILLS R.R., 1970 - Midgut epithelium of the american cockroach : possible sites of neurosecretory release. J. Insect Physiol., 16, 1485-1491.
- WYATT S.S., WYATT G.R., 1971 - Stimulation of RNA and protein synthesis in silkmoth pupal wing tissue by ecdysone *in vitro*. Gen. Comp. Endocrinol., 16, 369-374.

## Y

- YAMAMOTO T., EBE T., KOBAYASHI S., 1969 - Intramitochondrial inclusions in various cells of a snake (*Elaphae quadrivirgata*). Z.Zellforsch., 99, 252-262.

YOUNG N.L., 1976 - The metabolism of 3H-moulting hormone in *Calliphora erythrocephala* during larval development. J. Insect Physiol., 22, 153-155.

YUND M.A., FRISTROM J.W., 1975 - Uptake and binding of  $\beta$ -ecdysone in imaginal disks of *Drosophila melanogaster*. Develop. Biol., 43, 287-298.

Z

ZLOTKIN E.P., LEVINSON H.Z., 1968 - Influence of cecropia oil on the epidermis of *Tenebrio molitor*. J. Insect Physiol., 14, 1719-1723.

