

**NOUVEAUX ASPECTS DU CONTRÔLE HORMONAL DU CYCLE
BIOLOGIQUE DES ODONATES: RECHERCHES SUR LA LARVE
D'*AESHNA CYANEA* (MÜLLER) (ANISOPTERA: *AESHNIDAE*)**

F. SCHALLER¹, J.C. ANDRIES², M. MOUZE² et A. DEFOSSEZ²

¹Laboratoire de Biologie générale, Université Louis Pasteur,
12 Rue de l'Université, F-67 Strasbourg, France

²Laboratoire de Biologie animale, Université des Sciences et Techniques
de Lille I, B.P. 36, F-59650 Villeneuve d'Ascq, France

Reçu le 10 janvier 1974

NEW ASPECTS OF THE HORMONAL CONTROL OF LIFE HISTORY IN ODONATA: STUDIES ON THE LARVA OF *AESHNA CYANEA* (MÜLLER) (ANISOPTERA: *AESHNIDAE*). The life history of this insect consists of successive events, among which development and diapause occupy the longest duration. These processes are controlled by a series of physiological mechanisms of hormonal nature in answer to external factors (photoperiod, temperature, feeding). Although the hormonal control of the main biological processes, such as moulting, metamorphosis and diapause is known as a whole, the recent use of chemically pure hormones, or of substances which mimic their action, makes it possible to clarify numerous problems, as well as to contest some others. (1) **M o u l t i n g**. — Following the classical scheme, ventral glands secrete ecdysone or moulting hormone (a steroid compound) in response to a hormonal stimulus from the brain. This hormone acts on the epidermis and on other target organs involved in moulting. However, it is noteworthy that an important time interval separates the functional activity of ventral glands from the moulting hormone activity itself. Indeed, ventral glands must be extirpated within 24 hours after ecdysis if a permanent larva is to be obtained which cannot undergo moulting anymore. Only the implantation of these glands to such a larva, even after several months, allows the resumption of development, i.e. moulting and metamorphosis. On the other hand, in a normal last larval instar (duration: 25 days), moulting hormone activity can be demonstrated in the *Calliphora*-bioassay over an 8 day period, starting on day 16 and reaching a maximum on day 20. The requirements of this hormone are the highest just on day 20, as is shown by studies on the

metabolic fate of injected radiolabelled ecdysone. Indeed, at this time the radioactivity which can be recovered from whole insects is very high after the injection, whereas at beginning of the intermoult (on day 6 for instance) injected ecdysone will be excreted rapidly. No moulting hormone activity can be detected in permanent larvae. Such larvae do not contain the factor elaborated by the ventral glands, which is perhaps of polypeptidic nature, and are unable to secrete ecdysone. The injection of chemically pure ecdysone into permanent larvae induces apolysis and secretion of a new cuticle within a very short period. Penultimate instar larvae complete a normal morphogenesis, in contrast to last instar larvae in which the growth and differentiation processes of metamorphosis cannot take place in consequence of the rapidity of both apolysis and secretion of the new cuticle. Therefore it seems that two hormonal factors are necessary to ensure a normal moulting. (2) *M e t a m o r p h o s i s*. — This phenomenon occurs only if moulting hormone is acting alone. In fact, if juvenile hormone (secreted by the corpora allata) is present in addition to moulting hormone the insects perform a typical larval moult. The removal of corpora allata being surgically impossible, their role was investigated by implanting active corpora allata into last instar larvae where these glands are normally inactive. This operation leads to a supernumerary larval moult or an intermediate form between larva and adult called adultoid. The use of a substance which mimics juvenile hormone effects, farnesyl methyl ether, makes it possible to dose accurately the juvenilizing effect and to obtain as desired (by injecting this compound to last instar larvae) adultoids which are more or less close either to a larva or to an adult. The response of larvae depends both on the dose of mimicking substance and on the time of injection. The 6th day of the last instar, after which the juvenilizing factor is unable to affect metamorphosis, corresponds to a critical period coinciding with the definitive programming of adult development. (3) *D i a p a u s e*. — Induction and termination of larval diapause which are subjected to photoperiod, are also under the same hormonal control as moulting. However the brain, acting as the integration site of the photoperiodic stimuli, has a considerable importance in the control of diapause. Indeed, whereas implanting active ventral glands into diapausing larvae has no effect, an active brain is able to terminate diapause. Finally, the injection of chemically pure ecdysone into diapausing larvae makes it possible for them to resume development. It seems, therefore, that the brain hormone is able not only to stimulate ventral glands, but also to maintain their activity until ecdysone is secreted in sufficient amounts in order to ensure the resumption of development.

INTRODUCTION

Le développement des Odonates est jalonné par une série d'évènements (éclosion de l'oeuf, mues larvaires, émergence de l'imago) qui s'inscrivent dans un cycle biologique au cours duquel la croissance et la diapause occupent la durée la plus longue (CORBET, 1957, 1962; SCHALLER, 1960, 1962a; AGUESSE, 1961). Ces phénomènes sont régis par un enchaînement de mécanismes physiologiques de nature hormonale en réponse à divers facteurs externes (photopériode, température, alimentation). Le contrôle hormonal des principaux

processus biologiques du développement des Odonates, à savoir, la mue, la métamorphose et la diapause, est connu dans ses grandes lignes (SCHALLER, 1959, 1960) et s'inscrit parfaitement dans un schéma général valable pour l'ensemble des insectes (GERSCH, 1964; WIGGLESWORTH, 1965; NOVAK, 1966; JOLY, 1968).

Depuis la découverte de l'ecdysone par BUTENANDT & KARLSON (1954), suivie de l'identification chimique de cette hormone (KARLSON & HOFFMEISTER, 1963), ainsi que de celle de l'hormone juvénile par DAHM, TROST & RÖLLER (1967), la connaissance de l'activité biologique de ces corps n'a cessé de faire de grands progrès. En outre, divers composés chimiques qui miment l'action des hormones, en particulier celle de l'hormone juvénile, ont été largement utilisés. Les tests d'activité hormonale de ces substances (hormones et leurs mimétiques) sur les organes cibles se sont révélés à la fois plus sûrs et plus précis que ceux obtenus par implantation de glandes endocrines. Il a ainsi été possible de confirmer de nombreuses données classiques, mais aussi d'en infirmer d'autres, acceptées jusque là par la grande majorité des auteurs.

La présente étude a pour but de dresser le bilan de nos connaissances actuelles sur le contrôle endocrinien de la mue, de la métamorphose et de la diapause d'un représentant très répandu d'Odonates Anisoptères, *Aeshna cyanea*.

LA MUE

La nature hormonale du processus physiologique qui déclenche la mue des insectes semble actuellement bien établie. D'après le schéma classique les glandes de mue (appelées glandes prothoraciques ou ventrales) élaborent, en réponse à la stimulation d'une hormone cérébrale, un facteur hormonal qui agit sur l'épiderme et sur les autres effecteurs impliqués dans la mue. On admet que le facteur élaboré par les glandes de mue correspond à l'ecdysone ou hormone de mue, dont la nature stéroïde a été reconnue par Karlson.

Ce mécanisme hormonal a été retrouvé chez les Odonates dont la larve possède des glandes ventrales (logées dans la partie inférieure de la tête) d'accès relativement facile, ce qui en permet l'ablation chirurgicale avec un bon pourcentage de réussite. Une larve privée de ses glandes ventrales en début d'intermue est incapable de poursuivre son développement (SCHALLER, 1959, 1960). Son cycle de mue est bloqué et sa métamorphose est empêchée. L'implantation de glandes ventrales à de telles larves, dites permanentes, permet la reprise du développement, même après une interruption relativement longue et bien supérieure à la durée d'une intermue normale.

La rôle activateur du cerveau, producteur de l'hormone dite prothoracotrope, élaborée dans les cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis* et dont l'effet est de stimuler les glandes de mue, a aussi été reconnu chez les Odonates. Ce relais hormonal entre le cerveau et la glande ventrale intervient notamment dans la

diapause larvaire, phénomène que l'on peut assimiler à un repos tégumentaire passager de la larve et dont on sait qu'il est induit par des jours courts. La levée de la diapause et le déclenchement de la mue qui lui fait suite peuvent être obtenus chez une larve en diapause par implantation d'un cerveau prélevé sur une larve élevée en jour long (SCHALLER, 1960, 1962b). Il a suffi d'implanter un cerveau activé à une larve aux glandes ventrales "bloquées" par la diapause pour qu'il y ait reprise rapide du développement.

Cependant, la conception classique selon laquelle les glandes de mue des insectes sécrètent l'ecdysone est actuellement mise en doute à la suite de recherches ayant porté d'une part sur l'ultrastructure de ces glandes qui suggère une sécrétion protéique et non stéroïde (JOLY et al., 1969), d'autre part sur leur physiologie et sur le métabolisme de l'ecdysone (KING, 1972). L'étude du contrôle de la mue chez les Odonates a également fourni un certain nombre d'arguments qui plaident contre le schéma du mécanisme hormonal de la mue tel qu'il est communément admis à l'heure actuelle.

Activité de la glande de mue et taux d'ecdysone chez la larve

Parmi ces arguments, celui de l'important décalage chronologique existant entre l'activité hormonale des glandes ventrales et l'activité de l'hormone elle-même paraît décisif. Les glandes ventrales présentent dans les heures qui suivent l'exuviation une activité hormonale intense qui décline assez rapidement au cours de l'intermue. En effet, le pourcentage de larves permanentes obtenues par ablation des glandes ventrales est très élevé, avec un rendement de 80 à 90%, lorsque celle-ci est effectuée dans les premières 24 heures de l'intermue (SCHALLER, 1959, 1960). Passé ce délai, l'effet de la ventralectomie se fait de moins en moins sentir (au-delà du 5e jour il est nul), l'hormone des glandes ventrales ayant été sécrétée en quantité suffisante pour que les processus préparatoires à la mue soient déclenchés.

Dans ces conditions il était intéressant d'étudier les variations du taux d'ecdysone au cours de l'intermue, afin de vérifier si le maximum d'activité de cette hormone coïncide ou non avec celui des glandes ventrales. Par voie de conséquence, il devenait possible de confirmer ou d'infirmer l'opinion selon laquelle ces glandes constituent le site d'élaboration de l'ecdysone. A cet effet, on a soumis des extraits de larves d'*Aeshna cyanea* au test-*Calliphora* connu pour sa haute sensibilité vis à vis de l'ecdysone (BECKER & PLAGGE, 1939; KARLSON & SHAAYA, 1964). Ce test consiste à injecter l'extrait à étudier dans l'abdomen isolé de la larve de *Calliphora erythrocephala*. Au préalable on a posé une ligature post-thoracique sur des larves ayant terminé leur alimentation et on attend que la portion antérieure à la ligature soit empupée pour utiliser les abdomens restés larvaires.

Les extraits obtenus par homogénéisation dans l'eau distillée de larves entières

ont été réalisés à partir d'individus du dernier stade (durée minimum de ce stade: 25 jours) sacrifiés à intervalle régulier du 8e au 23e jour. Les extraits sont repris par chromatographie en couche mince dans le but d'isoler l'ecdysone (il s'agit, en fait, d'un mélange d' α - et de β -ecdysone) et injectés dans l'abdomen de larves de *Calliphora* ligaturées avant la période critique (SCHALLER & HOFFMANN, 1973). La présence d'ecdysone dans les extraits est indiquée par le brunissement du tégument larvaire de *Calliphora*, c'est à dire la pupaison de l'abdomen injecté. Ce test est considéré comme positif lorsque plus de 50% des abdomens subissent la pupaison. Le résultat des dosages montre que l'activité hormonale liée à l'ecdysone ne se manifeste que durant le dernier tiers du stade avec un maximum au 20e jour de l'intermue. Le calcul permet d'établir que le taux maximum d'activité hormonale observé correspond à 0,1 μ g d'ecdysone pure par g de poids frais d'*Aeshna*.

Le décalage, de l'ordre d'une dizaine de jours au minimum, entre l'activité de la glande de mue, qui ne se fait sentir que dans les premiers jours de l'intermue, et l'activité de l'ecdysone, qui ne se manifeste qu'à partir du 16e jour, indique donc clairement que les glandes ventrales ne sécrètent pas l'ecdysone.

Métabolisme de l'ecdysone

Il semble que les besoins de la larve en ecdysone sont maximum vers la fin du stade larvaire. Afin d'apprécier avec plus de précision ces besoins et aussi d'essayer de suivre le métabolisme de cette hormone au cours de l'intermue, on a injecté de l' α -ecdysone radioactive à la larve du dernier stade. L'injection a été pratiquée soit sur une larve en début d'intermue (au 6e jour), soit sur une larve en fin d'intermue (au 20e jour). La radioactivité des extraits de larves a été testée soit 6 heures, soit 24 heures après l'injection. Les résultats montrent que l'on retrouve dans les extraits non seulement l' α -ecdysone, mais aussi son premier produit de transformation, la β -ecdysone, ce qui prouve qu'*Aeshna*, comme tout insecte, est capable d'assurer cette transformation, à laquelle fait suite une dégradation en produits d'inactivation. Ce qu'il est important de retenir, c'est qu'en début d'intermue la larve retient peu l'ecdysone qui est excrétée rapidement, comme le montre la chute brutale de la radioactivité, alors qu'en fin d'intermue elle accumule fortement l'ecdysone, à un moment précisément (au 20e jour) où le test d'activité hormonale présente le maximum d'intensité en raison des besoins massifs en cette hormone.

Rôle des glandes de mue dans l'élaboration de l'ecdysone

Etant donné que les glandes ventrales elles-mêmes ne sécrètent pas l'ecdysone, on peut cependant se demander si leur présence n'est pas nécessaire à la production de cette hormone. Au cas où les glandes ventrales constituent un

relais indispensable à l'élaboration de l'ecdysone, les larves permanentes ne devraient pas être en mesure d'en produire. Il était donc nécessaire de vérifier si les larves permanentes renferment ou non de l'ecdysone.

En fait, des extraits de larves permanentes soumis au test-*Calliphora* se sont montrés négatifs (SCHALLER & HOFFMANN, 1973): l'ablation des glandes ventrales a donc pour effet la suppression de l'élaboration de l'ecdysone. Ce fait qui aurait pu signifier que ces glandes constituent la source de l'ecdysone, doit être interprété autrement, étant donné qu'une activité hormonale liée à l'ecdysone n'est décelable qu'à la fin de l'intermue. L'absence d'ecdysone chez les larves permanentes permet de penser que cette hormone ne peut être produite qu'une fois élaboré le facteur propre des glandes ventrales. Des recherches effectuées sur un Orthoptère, *Locusta migratoria*, ont montré que d'autres organes que les glandes ventrales sont impliquées dans le processus de la mue, tel le tissu hématopoïétique dont l'irradiation sélective en début d'intermue bloque la mue (HOFFMANN, 1971). Il est remarquable de constater que les glandes ventrales des larves permanentes ainsi obtenues ont conservé leur activité physiologique, ce qui implique évidemment que le site de production de cette hormone doit être recherché ailleurs (JOLY et al., 1973). Quoiqu'il en soit, l'ecdysone constitue le terme ultime du processus d'élaboration de l'hormone de mue par une autre région du corps qui reste à préciser, bien que divers sites de production, tels les oenocytes, le corps gras, etc. (LOCKE, 1969; WEIR, 1970) aient été envisagés.

Injection d'ecdysone à des larves permanentes

L'apport d'ecdysone à des larves permanentes qui en sont dépourvues devrait permettre à celles-ci de reprendre leur cycle de mue, tout comme elles le font après réimplantation de glandes ventrales. Dans ce but des injections d'ecdysone ont été pratiquées sur des larves permanentes de l'avant-dernier stade ayant atteint quatre mois et demi (durée de l'intermue normale: 14 jours) et du dernier stade dont l'âge variait entre 50 et 108 jours (MOUZE, ANDRIES & SCHALLER, 1973). Les larves permanentes ont reçu une injection intra-abdominale unique d' α -ecdysone ou de β -ecdysone dont les effets sont à peu près similaires, ainsi que l'ont montré des injections de ces substances à des larves normales. Les doses de 1 à 30 μg par g de poids frais sont à la fois tolérées et efficaces. Le résultat de ces injections a été un décollement cuticulaire, une apolyse, extrêmement rapide, survenant en l'espace de 36 à 48 heures, d'abord dans les ptérothèques, puis dans le masque. Au bout de 5 à 8 jours se manifestent les premiers indices de la synthèse d'une nouvelle cuticule, mise en évidence par la sclérisation des griffes qui apparaissent par transparence sous la vieille cuticule décollée. L'apport d'ecdysone à des larves permanentes a donc rétabli les processus de la mue, à savoir, l'apolyse et la formation d'une nouvelle cuticule avec sclérisation

du tégument ainsi que du revêtement chitineux d'organes internes (dents du gésier, p.e.).

Si les phénomènes tégumentaires de la mue se sont déroulés chez toutes les larves permanentes injectées d'ecdysone avec une chronologie absolument identique, l'évolution de ces larves diffère néanmoins, selon qu'il s'agit de l'avant-dernier ou du dernier stade larvaire, ce dernier seul étant impliqué dans le phénomène de la métamorphose.

Chez les larves permanentes de l'avant-dernier stade injectées d'ecdysone, on constate que malgré la reprise rapide du développement, la morphogenèse, qui s'est déroulée d'une manière normale, aboutit à un nouveau stade larvaire typique. La preuve en est que ces larves, bien que n'étant pas arrivées à franchir le cap de l'exuviation, apparaissent à l'intérieur de leur exuvie comme la réplique exacte du stade précédent. Il n'est pas de même pour les larves permanentes du dernier stade qui, elles, subissent une perturbation de la métamorphose. Celle-ci, ne pouvant être menée à terme, aboutit à des formes intermédiaires entre la larve et l'adulte, dites adultoides (MOUZE, ANDRIES & SCHALLER, 1973). D'une manière générale, on constate chez ces individus que les organes larvaires destinés à disparaître ou à subir une modification profonde au cours de la métamorphose, tels le masque, la pyramide anale ou les épines abdominales, ne sont que peu transformés, ce qui leur confère un caractère adultoïde à prédominance larvaire. En outre, on ne note chez ces larves l'acquisition d'aucune différenciation nouvelle de type imaginal, telle que des yeux devenant contigus sur la ligne médiane, une pilosité noire de la tête ou du thorax ou encore la présence d'épines noires allongées sur les pattes. Les larves permanentes du dernier stade injectées d'ecdysone, bien que capables de reprendre leur développement, ont donc une morphogenèse imaginale bloquée précocement. Il est à remarquer que des individus absolument semblables ont pu être obtenus par injection précoce de quantités identiques d'ecdysone à des larves normales.

Evolution des larves permanentes après injection d'ecdysone ou après implantation de glandes ventrales

La perturbation de la morphogenèse subie par les larves permanentes du dernier stade à la suite de l'injection de l'ecdysone ne peut s'expliquer qu'à la lumière des remaniements profonds que doit subir la larve durant la métamorphose. On peut penser que les organes destinés à régresser au cours de la métamorphose, ou, au contraire, ceux qui sont le siège d'une morphogenèse imaginale, sont comme "pris de court" par l'apolyse brutale et la précocité des synthèses cuticulaires déclenchées par l'apport massif d'ecdysone. Les adultoides obtenus sont le résultat d'une rupture de la "balance entre croissance et divisions cellulaires d'une part, dépôt de nouvelle cuticule d'autre part" (WIGGLESWORTH, 1966).

Si l'on admet cette explication, il est fort possible que le blocage de la métamorphose des larves permanentes consécutif à l'ablation des glandes ventrales puisse être levé par un apport continu de quantités faibles d'ecdysone. De telles conditions semblent remplies dans le cas de l'implantation de glandes ventrales à des larves permanentes du dernier stade qui subissent alors une métamorphose pratiquement normale. En fait, il est remarquable de constater que l'évolution des larves permanentes diffère totalement selon qu'elles ont reçu une injection unique d'ecdysone ou une implantation de glandes ventrales.

Alors que l'apolyse survient en l'espace de 1 à 2 jours dans le cas d'une injection d'ecdysone, elle ne se manifeste que très lentement après implantation des glandes ventrales: au 10^e jour pour les ptérothèques, au 13^e - 14^e jour dans le masque. Ce délai de 13 à 14 jours est valable également pour la mise en route de la morphogenèse oculaire de type imaginal, phénomène que l'on n'observe pas après injection d'ecdysone. Les synthèses cuticulaires dont les premiers effets observables se traduisent par la sclérisation des griffes dans un délai de 5 à 7 jours après injection d'ecdysone, s'effectuent au bout d'un laps de temps beaucoup plus long (environ 25 jours) après l'implantation de glandes ventrales. Ces résultats indiquent donc que la réalisation de la programmation imaginale nécessite une action lente et progressive de l'ecdysone. En conclusion, il semble établi que le déroulement normal de la mue des Odonates, comme celui de tout insecte, nécessite l'intervention d'un facteur spécifique sécrété par les glandes ventrales dont la présence est indispensable à l'élaboration de l'ecdysone qui, elle, constitue l'hormone de mue proprement dite.

LA MÉTAMORPHOSE

Les Odonates constituent, parmi les insectes hémimétaboles, l'ordre dont les représentants subissent la métamorphose la plus importante. La transformation d'une larve aux moeurs aquatiques en un adulte menant une vie aérienne se traduit par des modifications anatomiques et physiologiques profondes qui affectent la plupart des appareils et organes.

Il revient à Wigglesworth d'avoir établi pour la première fois en 1934 sur la punaise *Rhodnius prolixus* le rôle inhibiteur de la métamorphose joué par l'hormone juvénile sécrétée par les corps allates. Dans les conditions naturelles le déclenchement de la métamorphose s'explique par l'arrêt de la sécrétion de l'hormone juvénile au dernier stade larvaire. La mise hors circuit par un moyen expérimental des corps allates chez une larve plus jeune provoque une métamorphose anticipée.

L'ablation des corps allates s'est révélée techniquement irréalisable chez *Aeshna cyanea* en raison des difficultés d'accès de ces glandes endocrines logées dans la tête. Il a donc fallu, dans le but de perturber la métamorphose, implanter dans des larves du dernier stade des corps allates prélevés sur des adultes matures

où ils exercent normalement un rôle gonadotrope, tout en ayant conservé leurs propriétés juvénilisantes. Le résultat de cette opération réalisée sur des larves venant de muer, a été l'obtention de larves surnuméraires présentant tous les caractères anatomiques d'une larve normale, mais aussi de formes intermédiaires, appelées adultoïdes en raison du mélange de caractères larvaires et adultes qu'elles présentent (SCHALLER, 1959, 1960, 1962c).

Action de l'ester méthylique du farnésol, mimétique de l'hormone juvénile, sur la métamorphose

Etant donné la variabilité des résultats obtenus par implantation de corps allates, et afin d'en rechercher le déterminisme, il a été fait appel à une substance chimique, l'ester méthylique du farnésol (E.M.F.) qui mime l'action de l'hormone juvénile. Cette substance, administrée sous forme d'une solution huileuse en injection intra-abdominale, présente sur l'implantation des corps allates l'avantage de l'apport d'un produit actif en quantité bien définie, alors que le degré d'activité des glandes introduites ne peut être connu avec certitude. De plus, les effets du mimétique peuvent être appréciés non seulement en fonction de la dose (doses allant de 150 à 1000 μ ml d'E.M.F. pour 10 μ l de solution par g de poids frais), mais aussi du moment de son injection. L'introduction de l'E.M.F. qui vient modifier l'équilibre hormonal s'établissant au moment de la métamorphose, a permis de préciser le degré de réactivité des cellules épidermiques et les potentialités morphogénétiques de divers organes larvaires sujets à des modifications importantes. Les recherches qui ont porté sur l'oeil (MOUZE, 1971), l'appareil copulateur mâle (DEFOSSEZ & SCHALLER, 1973), le labium, les ailes, les tergites abdominaux et la pyramide anale (SCHALLER & DEFOSSEZ, 1974) viennent confirmer les résultats des implantations de corps allates.

Rôle juvénilisant et prothoracotrope du mimétique de l'hormone juvénile

L'inhibition totale de la métamorphose est obtenue à l'aide d'une forte dose de mimétique (700 μ ml) de l'hormone juvénile administrée le jour même de la mue à une larve du dernier stade. Celle-ci a donné naissance à un stade larvaire surnuméraire, reculant ainsi au rang d'avant-dernier stade la larve injectée. Bien que ne réussissant en général pas à quitter son enveloppe exuviale, une telle larve est d'une taille supérieure à la normale (SCHALLER, 1960) et présente tous les caractères morphologiques et anatomiques d'une larve typique. Un fait remarquable est le raccourcissement de la durée de l'intermue des larves surnuméraires par rapport aux larves normales destinées à se métamorphoser; cette durée se situe entre celle de l'avant-dernier et celle du dernier stade. Ce phénomène qui doit être attribué à une activation des glandes de mue par l'hormone juvénile (dans le cas de l'implantation de corps allates) ou par son mimétique (dans le cas

de l'injection d'E.M.F.) a été signalé par de nombreux auteurs (JOLY, 1968) chez différents insectes sous le nom d'effet prothoracotrope.

L'inhibition partielle de la métamorphose telle qu'on peut l'observer chez les adultoïdes doit également être attribuée à l'effet prothoracotrope du mimétique de l'hormone juvénile. En effet, le raccourcissement de la durée de l'intermue qu'il provoque permet d'expliquer que les différents processus morphogénétiques, bien qu'engagés dans la voie imaginale, n'ont pas le temps de s'achever avant la fin de l'intermue.

Importance de la dose du mimétique et du moment de l'injection

Si de fortes doses d'E.M.F. administrées précocement inhibent complètement la métamorphose, il a été possible, en variant la dose du mimétique et le moment de son injection, d'obtenir une série d'adultoïdes dont le degré de métamorphose est le résultat d'une inhibition plus ou moins prononcée des caractères imaginaires. Les individus qui présentent des caractères larvaires prédominants sont appelés adultoïdes larvaires, ceux à caractères larvaires rares étant qualifiés d'adultoïdes imaginaires. Bien entendu, il ne faut pas prendre à la lettre cette distinction dont le caractère artificiel est accentué par le fait que les différents organes d'un adultoïde donné ne présentent pas un degré de développement ou d'inhibition équivalent. Plus la dose d'E.M.F. augmente (à condition de ne pas utiliser des doses supérieures à 700 μ ml qui sont létales), plus importante devient l'inhibition de la métamorphose. A dose égale d'E.M.F., plus l'injection est tardive, plus le degré de métamorphose est avancé. Mais l'insensibilité à l'action du mimétique se manifeste très tôt, car, passé l'âge de six jours, les injections restent sans effet et la larve subira une métamorphose normale. Une telle période critique a été signalée chez d'autres insectes, tels les Lépidoptères, par plusieurs auteurs utilisant soit l'hormone juvénile (SEHNAL & MEYER, 1968), soit son mimétique (NOWOCK, 1973). A la suite de ces résultats on peut tenter d'expliquer le déterminisme de la métamorphose dans un développement normal, en admettant que les différents processus de la métamorphose dont la réalisation sera assurée par l'ecdysone, sont déjà définitivement programmés dès le 6e jour du dernier stade par la baisse du taux d'hormone juvénile.

Période de sensibilité des organes larvaires à l'action du mimétique

L'inactivation ou l'élimination rapide de l'E.M.F., dont on peut admettre qu'elle s'effectue au même rythme que celle de l'hormone naturelle (KRISHNA-KUMARAN & SCHNEIDERMAN, 1965; RÖLLER & DAHM, 1968), permet d'expliquer que certains processus morphogénétiques particulièrement sensibles à la baisse du taux d'hormone juvénile aient pu se dérouler très précocement, alors que la métamorphose d'autres organes, moins sensibles, reste à peine

ébauchée. En d'autres termes, il existerait une période critique propre à chacun des organes larvaires lesquels semblent présenter une sensibilité particulière à l'hormone juvénile. Parmi ceux dont la transformation imaginale est déterminée précocement, il faut citer le masque, alors que la régression de la pyramide anale, au contraire, semble être programmée tardivement, puisque de fortes doses d'E.M.F. appliquées au 5e jour sont encore capables de l'interrompre.

La sensibilité particulière de chaque organe à la baisse du taux d'hormone juvénile ne peut s'expliquer que par le mode d'action de celle-ci au niveau cellulaire. En se référant à des travaux de différents auteurs sur d'autres insectes (EMMERICH, 1968; CHASE, 1970), on peut admettre que chez *Aeshna cyanea* la baisse du taux d'hormone juvénile oriente les synthèses d'acides nucléiques dans le sens imaginal durant les six premiers jours du dernier stade. Une fois acquise la détermination cellulaire de type imaginal, l'ecdysone intervient alors dans l'utilisation de ces acides nucléiques en vue de la différenciation et de la morphogenèse avec un rythme propre à chaque organe.

LA DIAPAUSE

Le développement post-embryonnaire d'*Aeshna cyanea* subit habituellement une interruption survenant à la fin de l'été et ne reprend qu'au printemps suivant. Lorsqu'un tel arrêt de la croissance frappe les larves âgées (de l'antépénultième au dernier stade) il constitue une diapause, phénomène qui doit être distingué de la quiescence, simple ralentissement du métabolisme qu'une élévation de la température permet de supprimer. Cependant la diapause larvaire présente chez *Aeshna cyanea* un caractère facultatif, car certaines larves achèvent leur développement dans l'année de l'éclosion (SCHALLER, 1960). L'induction de la diapause est soumise à un ensemble de facteurs externes parmi lesquels la diminution de la durée de l'éclairage journalier, la photopériode, exerce une action prépondérante. De même, la rupture de la diapause est déclenchée par l'allongement de la photopériode à la fin de l'hiver (CORBET, 1956; SCHALLER, 1960, 1965). C'est à la photopériode que revient le rôle de *primum movens*, les autres facteurs, comme la température et l'alimentation, n'intervenant que secondairement.

Le rôle prothoracotrope du cerveau

La diapause est soumise à un contrôle hormonal en réponse au stimulus photopériodique initial. Le cerveau constitue à la fois le site d'intégration de ce stimulus et le centre hormonal (en l'occurrence, les deux massifs neurosécréteurs de la *pars intercerebralis*) qui commande le mécanisme endocrine de l'induction, comme celui de la levée de la diapause. Ce dernier processus est régi par le même mécanisme que celui qui conditionne la mue, à savoir, le relais hormonal cerveau-

glandes ventrales, ainsi qu'il a été montré pour la première fois sur des nymphes de Lépidoptères en diapause (WILLIAMS, 1952). Par son effet prothoracotrope, le cerveau activé induit la sécrétion hormonale des glandes ventrales qui, à leur tour, sont responsables de la formation par la larve d'ecdysone en quantité suffisante pour rétablir la mue.

Dans ces conditions, l'implantation à des larves d'*Aeshna cyanea* en diapause de l'un ou l'autre de ces organes (prélevés sur des larves ayant été soumises au préalable à une photopériode longue) devrait assurer la reprise rapide du développement. L'implantation de glandes ventrales provenant de larves activées (à raison d'une à quatre paires de glandes par larve) n'a pas été en mesure de provoquer la levée de la diapause et d'assurer la reprise immédiate du développement (SCHALLER, 1960). Par contre, l'implantation d'un cerveau activé, tout particulièrement lorsque celui-ci est accompagné des corps cardiaques restés en connexion avec lui, s'est montrée efficace (SCHALLER, 1960, 1962b).

Ce résultat nous montre, d'une part, que le cerveau exerce bien son rôle de centre endocrine, d'autre part, que le seul apport de glandes ventrales activées n'est pas suffisant pour assurer la mue des larves en diapause. A cet égard, l'état physiologique de la larve en diapause ne peut donc être assimilé à celui d'une larve permanente qui, elle, répond positivement à l'implantation de glandes ventrales. Il semble donc que la présence d'un cerveau activé soit nécessaire pour que celui-ci exerce son action prothoracotrope sur les glandes ventrales *in situ* de la larve en diapause, le dernier maillon de la chaîne de réaction hormonale restant l'ecdysone.

Action de l'ecdysone sur la levée de la diapause

Quoiqu'il en soit, l'introduction d'ecdysone dans le corps de larves en diapause devrait montrer si, oui ou non, celles-ci réagissent en reprenant leur développement. En fait, l'injection d'ecdysone à des larves de l'antépénultième stade en diapause a provoqué l'apolyse (en l'espace de 48 heures) et la sclérification de la cuticule (en l'espace de 12 jours), phénomènes suivis de l'exuviation qui est intervenue 20 jours après l'injection contre 60 jours chez les témoins qui n'ont reçu qu'une injection de sérum physiologique (SCHALLER, 1964).

Ces résultats confirment donc l'action positive de l'ecdysone sur les phénomènes de la mue, soit que celle-ci s'incrive dans un cycle d'intermue normal, soit qu'elle ait été précédée d'une diapause. Comparée à l'action extrêmement rapide de l'ecdysone, celle du cerveau est beaucoup plus lente. En effet, l'apolyse des larves en diapause ayant reçu une implantation d'un cerveau actif n'intervient qu'au bout de 19 jours en moyenne (SCHALLER, 1962b) Ceci prouve bien que le mécanisme hormonal de la levée de la diapause est soumis aux mêmes règles que celui qui conditionne la mue, à savoir, en premier lieu l'effet prothoracotrope de l'hormone cérébrale, et à la fin de la chaîne de réaction la sécrétion de

l'ecdysone. Toutefois, l'originalité du contrôle hormonal de la diapause réside dans le rôle prépondérant du cerveau qui est nécessaire non seulement pour stimuler les glandes ventrales, mais surtout pour entretenir leur activité jusqu'à ce que l'ecdysone soit sécrétée en quantité suffisante pour assurer la reprise du développement.

BIBLIOGRAPHIE

- AGUESSE, P., 1961. Contribution à l'étude écologique des Zygoptères de Camargue. Thèse, Paris, sér. A, no. 3660.
- BECKER, E. & E. PLAGGE, 1939. Ueber das die Pupariumbildung auslösende Hormon der Fliegen. *Biol. Zbl.* 59: 326-341.
- BUTENANDT, A. & P. KARLSON, 1954. Ueber die Isolierung eines Metamorphose-Hormons der Insekten in kristallisierter Form. *Z. Naturf.* (B), 9: 389-391.
- CHASE, A.M., 1970. Effects of antibiotics on epidermal metamorphosis and nucleic acid synthesis in *Tenebrio molitor*. *J. Insect Physiol.* 16: 865-884.
- CORBET, P.S., 1956. Environmental factors influencing the induction and termination of diapause in the Emperor Dragonfly, *Anax imperator* Leach (Odonata: Aeshnidae). *J. exp. Biol.* 33: 1-14.
- CORBET, P.S., 1957. The life-history of the Emperor Dragonfly *Anax imperator* Leach (Odonata: Aeshnidae). *J. Anim. Ecol.* 26: 1-69.
- CORBET, P.S., 1962. A Biology of Dragonflies. Witherby, London.
- DAHM, K.H., B.M. TROST & H. RÖLLER, 1967. The juvenile hormone. V. Synthesis of the racemic juvenile hormone. *J. Am. chem. Soc.* 89: 5292-5294.
- DEFOSSEZ, A. & F. SCHALLER, 1973. Inhibition de la métamorphose de l'appareil copulateur mâle des larves d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte, Odonate) par injection d'un mimétique de l'hormone juvénile. *C. R. Acad. Sc. Paris* (D), 276: 2051-2054.
- EMMERICH, H., 1968. Beeinflussung der Imaginalentwicklung von *Tenebrio molitor* durch Farnesylmethyläther und Actinomycin. *Verh. dtsh. zool. Ges.* 56: 519-526.
- GERSCH, M., 1964. Vergleichende Endokrinologie der wirbellosen Tiere. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig.
- HOFFMANN, J.A., 1971. Obtention de larves permanentes par irradiations sélectives du tissu hématopoïétique de jeunes larves de stade V de *Locusta migratoria*. *C. R. Acad. Sc. Paris* (D) 273: 2568-2571.
- JOLY, L., P. JOLY & A. PORTE, 1969. Remarques sur l'ultrastructure de la glande ventrale de *Locusta migratoria* L. (Orthoptère) en population dense. *C. R. Acad. Sc. Paris* (D) 269: 917-918.
- JOLY, L., M.J. WEINS, J.A. HOFFMANN & A. PORTE, 1973. Evolution des glandes prothoraciques de larves permanentes de *Locusta migratoria* obtenues par irradiation sélective du tissu hématopoïétique. *Z. Zellf.* 137: 387-397.
- JOLY, P., 1968. Endocrinologie des Insectes. Masson, Paris.
- KARLSON, P. & H. HOFFMEISTER, 1963. Zur Biogenese des Ecdysons. I. Umwandlung von Cholesterin in Ecdyson. *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 331: 298-300.
- KARLSON, P. & E. SHAYYA, 1964. Der Ecdysontiter während der Insektenentwicklung. I. Eine Methode zur Bestimmung des Ecdysongehalts. *J. Insect Physiol.* 10: 797-804.
- KING, D.S., 1972. Ecdysone metabolism in insects. *Am. Zool.* 12: 343-345.
- KRISHNAKUMARAN, A. & H.A. SCHNEIDERMAN, 1965. Prothoracotropic activity of compounds that mimic juvenile hormone. *J. Insect Physiol.* 11: 1517-1532.

- LOCKE, M., 1969. The ultrastructure of the oenocytes in the molt-intermolt cycle of an insect. *Tissue Cell* 1: 103-154.
- MOUZE, M., 1971. Rôle de l'hormone juvénile dans la métamorphose oculaire de larves d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte Odonate). *C. R. Acad. Sc. Paris* (D), 273: 2316-2319.
- MOUZE, M., J.C. ANDRIES & F. SCHALLER, 1973. Effets sur la mue et la métamorphose de l'injection d'ecdysone à des larves permanentes d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte, Odonate). *C. R. Acad. Sc. Paris* (D), 277: 2509-2512.
- NOVAK, V.J.A., 1966. *Insect Hormones*. Methuen, London.
- NOWOCK, J., 1973. Der Einfluss von Farnesylmethyläther auf die Häutungsfolge und die Hodenentwicklung bei *Ephestia kühniella*. Untersuchungen in vivo und in vitro. *Wilhelm Roux'Arch. EntwMech. Org.* 172: 303-316.
- RÖLLER, H. & K.H. DAHM, 1968. The chemistry and biology of juvenile hormone. *Rec. Progr. Hormone Res.* 24: 651-680.
- SCHALLER, F., 1959. Contrôle humoral du développement post-embryonnaire d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte Odonate). *C. R. Acad. Sc. Paris* 248: 2525-2527.
- SCHALLER, F., 1960. Etude du développement post-embryonnaire d'*Aeshna cyanea* Müll. *Anns. Sci. Nat. Zool.* (XII), 2: 751-868.
- SCHALLER, F., 1962a. Rôle de la diapause et de la vitesse du développement dans le cycle biologique d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte Odonate). *Bull. Ass. philomath. Als. Lorr.* 11: 128-137.
- SCHALLER, F., 1962b. Rupture de la diapause larvaire chez *Aeshna cyanea* Müll. (Insecte Odonate) par implantation de complexes cerveau-corps cardiaques de larves activées. *C. R. Soc. Biol.* 156: 658-661.
- SCHALLER, F., 1962c. Phénomènes d'inhibition de la métamorphose chez des larves âgées d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte Odonate). *Bull. Soc. zool. Fr.* 87: 582-600.
- SCHALLER, F., 1964. Action de l'ecdysone sur des larves d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte Odonate) en diapause. *Mem. Soc. nat. math. Cherbourg* (VI), 51: 135-140.
- SCHALLER, F., 1965. Action de la photopériode croissante sur des larves en diapause d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte Odonate) maintenues à basse température. *C. R. Soc. Biol.* 159: 846-849.
- SCHALLER, F. & J.A. HOFFMANN, 1973. Evolution du taux d'ecdysone au cours du dernier stade larvaire d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte Odonate). *C. R. Acad. Sc. Paris* (D), 277: 741-743.
- SCHALLER, F. & A. DEFOSSEZ, 1974. Inhibition de la métamorphose de larves d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte Odonate) par un mimétique de l'hormone juvénile. *Wilhelm Roux'Arch. EntwMech. Org.* 172: 20-32.
- SEHNAL, F. & A.S. MEYER, 1968. Larval-pupal transformation : control by juvenile hormone *Science* 159: 981-984.
- WEIR, B.S., 1970. Control of moulting in an insect. *Nature* 228: 580-581.
- WIGGLESWORTH, V.B., 1965. *The principles of insect physiology*. 6th ed. Methuen, London.
- WIGGLESWORTH, V.B., 1966. Hormonal regulation of differentiation in insects. *In: Cell Differentiation and Morphogenesis*, pp. 180-209. North Holland Publ. Co., Amsterdam.
- WILLIAMS, C.M., 1952. Physiology of insect diapause. IV. The brain and prothoracic glands as an endocrine system in the *Cecropia* silkworm. *Biol. Bull.* 103: 120-138.