

**CONTRÔLE HORMONAL DU DÉVELOPPEMENT
DE L'APPAREIL COPULATEUR MÂLE AU COURS DE LA MÉTAMORPHOSE
D'*AESHNA CYANEA* (MÜLLER) (ANISOPTERA: *AESHNIDAE*)**

A. DEFOSSEZ

Laboratoire de Biologie animale et Laboratoire associé au C.N.R.S. no. 148
"Endocrinologie des Invertébrés", Université des Sciences et Techniques de Lille I,
B.P. 36, F-59650 Villeneuve d'Ascq. France

Reçu le 14 Septembre 1973 / Accepté le 22 Septembre 1973

ENDOCRINE CONTROL OF DEVELOPMENT OF THE MALE COPULATORY APPARATUS DURING METAMORPHOSIS IN *AESHNA CYANEA* (MÜLLER) (ANISOPTERA: *AESHNIDAE*). In *A. cyanea*, molting hormone and juvenile hormone control the metamorphosis of the copulatory apparatus. Two experiments have been carried out: (1) ablation of the molting glands during the first day of the last larval instar; (2) injection of a juvenile hormone mimic (farnesyl methyl ester) at various times during this instar. The arrest of molting hormone secretion stopped the development of the copulatory organ. Injection of juvenile hormone, if performed before the seventh day of the last larval instar, also inhibited this development.

INTRODUCTION

L'appareil copulateur mâle des *Aeshnidae* est un organe de structure complexe qui occupe une position tout à fait originale sur les deuxième et troisième sternites abdominaux. Le développement de cet organe se réalise essentiellement au dernier stade larvaire et a donc toutes chances d'être placé sous le même contrôle hormonal que celui de la métamorphose. Par la complexité de sa morphogenèse à partir de l'épiderme sternal, l'appareil copulateur est un organe effecteur approprié à des recherches endocrinologiques chez les Odonates.

Dans cette étude, qui résume l'ensemble de nos travaux déjà publiés, nous rappelons d'abord la structure de l'appareil copulateur chez l'adulte, puis son développement chez la larve du dernier stade. Le contrôle hormonal de ce développement par les deux principales hormones impliquées dans le déclenchement de la métamorphose des Insectes, l'hormone de mue et l'hormone juvénile, a

ensuite été envisagé. Nos résultats sont enfin discutés à la lumière des connaissances actuellement acquises dans le domaine de l'endocrinologie des Insectes.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

La structure de l'appareil copulateur a été décrite chez des adultes d'*Aeshna cyanea* (Müll.) obtenus au laboratoire ou capturés dans la nature. La métamorphose et son contrôle par les hormones ont été étudiés chez des larves de la même espèce élevées au laboratoire dans les conditions optimales de température (22°C), de nourriture (larves de chironomes) et de lumière (16 h de lumière pour 8 h d'obscurité). La durée du dernier stade est alors de 24 jours environ. Des coupes transversales sériées des deuxième et troisième sternites abdominaux des larves opérées et des larves témoins ont permis la reconstruction graphique de la morphogenèse de l'appareil copulateur de ces différents individus.

RÉSULTATS

Structure et développement de l'appareil copulateur

Nous rappellerons très brièvement la structure de cet organe qui a déjà fait l'objet de plusieurs descriptions détaillées (PFAU, 1970, 1971; DEFOSSEZ, 1972, 1973). Le deuxième sternite abdominal porte différents sclérites dont les principaux sont d'avant en arrière la lame antérieure, les hameçons antérieurs et les hameçons postérieurs situés de part et d'autre de la ligule. La partie antérieure du troisième sternite se prolonge par un bulbe génital qui supporte un pénis composé de trois articles. Enfin le bulbe génital contient une paire de sacs élastiques qui encadrent une vésicule séminale. Au cours de l'accouplement, les spermatozoïdes contenus dans la vésicule séminale sont introduits dans l'orifice génital de la femelle au moyen du pénis. L'étude du fonctionnement de l'appareil copulateur mâle au moment du coït a fait l'objet d'un important travail réalisé par PFAU (1971).

Le développement de l'appareil copulateur, bien qu'ébauché dès l'antépénultième stade larvaire (DEFOSSEZ, 1970), s'effectue essentiellement au cours de la métamorphose. Il est le résultat d'importants mouvements morphogénétiques qui affectent l'épiderme des deuxième et troisième sternites et qui se réalisent grâce à une abondante activité mitotique des cellules épidermiques et à un décollement cuticulaire précoce (DEFOSSEZ, 1973). En effet, dès le sixième jour du dernier stade, la cuticule larvaire est totalement décollée de l'épiderme sur toute la portion génitale des deuxième et troisième sternites alors que le même phénomène affecte par exemple les tergites seulement au quatorzième jour (SCHALLER, 1960). Par ailleurs, des mitoses peuvent être observées dès le

premier jour; elles atteignent leur maximum au treizième jour puis leur nombre décroît rapidement jusqu'au dix-neuvième jour.

Le déroulement chronologique de la morphogenèse de l'appareil copulateur a été décrit à l'aide de reconstructions topographiques des deuxième et troisième sternites abdominaux, réalisées à différents moments au cours du dernier stade (DEFOSSEZ, 1973). Dès le sixième jour, sont déjà ébauchés sous la forme de plis et d'épaississements de l'épiderme, la vésicule séminale, le pénis et les hameçons antérieurs alors que la lame antérieure, la ligule, les hameçons postérieurs et le bulbe génital apparaissent au huitième jour. Toutes ces ébauches continuent à se développer ensuite de manière accélérée jusqu'au quinzième jour, date à laquelle commence la sécrétion de la cuticule imaginale.

Cependant, il faut remarquer qu'au moment de la mue imaginale, l'appareil copulateur est encore imparfaitement constitué. En effet, dans le bulbe génital de la jeune imago, les sacs élastiques ne sont encore qu'à peine ébauchés; ils ne se développent qu'au cours de la vie imaginale grâce à une importante activité mitotique (DEFOSSEZ, 1972).

Contrôle hormonal de la métamorphose de l'appareil copulateur

Le rôle joué par l'hormone de mue a été étudié à l'aide de la technique antérieurement décrite (SCHALLER, 1960) de l'ablation des glandes de mue (ou glandes ventrales). L'injection d'un mimétique de l'hormone juvénile, l'ester méthylique du farnésol (E.M.F.) a permis de considérer l'action de cette seconde hormone au cours de la métamorphose de l'appareil copulateur.

Rôle de l'hormone de mue

L'ablation des glandes ventrales le jour même de la dernière mue larvaire (premier jour du dernier stade) donne naissance à des larves permanentes, incapables de muer (SCHALLER, 1960). L'appareil copulateur de ces larves, sacrifiées une centaine de jours après l'opération, présente un début de développement caractérisé par un décollement cuticulaire localisé (au niveau des ébauches des hameçons antérieurs et du pénis) et un début de morphogenèse (croissance des ébauches des hameçons antérieurs et du pénis et invagination de la vésicule séminale) qui ont cependant été interrompus très précocement. En effet, la morphologie des deuxième et troisième sternites abdominaux d'une larve permanente âgée de cent jours environ reste identique à celle d'un témoin âgé de six jours (DEFOSSEZ & SCHALLER, 1972). Il semble donc exister chez les larves permanentes venant d'être opérées, un taux d'hormone de mue suffisant pour amorcer la métamorphose de l'appareil copulateur, mais trop faible pour assurer sa continuation.

Enfin, il est remarquable de constater que les cellules épidermiques des larves permanentes continuent à sécréter de l'endocuticule qui remplit les espaces

ménagés par le décollement cuticulaire survenu au niveau de l'appareil copulateur. Cette synthèse cuticulaire ne semble donc pas être contrôlée par l'hormone de mue.

Rôle de l'hormone juvénile

Bien que l'implantation de corps allates actifs à des larves d'*Aeshna cyanea* du dernier stade ait été utilisée avec succès dans l'étude de la métamorphose de divers organes (SCHALLER, 1962), nous avons préféré employer la technique plus précise de l'injection d'une substance qui mime l'action de l'hormone juvénile produite par ces glandes, l'ester méthylique du farnésol (E.M.F.).

Neuf concentrations différentes de ce produit dissous dans l'huile de tournesol ont été utilisées. Les injections ont été pratiquées dans l'abdomen d'une centaine de larves, à des moments variés au cours du dernier stade.

Les individus opérés subissent la mue quelques jours avant les témoins et donnent naissance, soit à des larves surnuméraires géantes (la métamorphose a été totalement inhibée), soit à des individus présentant une morphologie intermédiaire entre celle de la larve et celle de l'adulte, appelés adultoïdes (la métamorphose a été partiellement inhibée), soit enfin à des imagos (la métamorphose s'est déroulée normalement). Le degré d'inhibition de la métamorphose dépend à la fois de la dose d'E.M.F. injecté et du moment de l'injection. Plus la dose administrée un jour donné est importante, plus la métamorphose est empêchée. Cependant, les doses deviennent vite toxiques. Par ailleurs, à dose égale d'E.M.F., plus l'injection est tardive (premier, troisième et cinquième jours du dernier stade), plus la morphologie des individus obtenus est proche de celle des imagos. Toutefois, l'E.M.F. injecté après le sixième jour n'est plus capable de modifier le déroulement normal de la métamorphose, quelle que soit la dose employée (SCHALLER & DEFOSSEZ, en préparation).

Le contrôle par l'hormone juvénile de la métamorphose de l'appareil copulateur a été précisé par l'examen histologique de cet organe chez trois adultoïdes obtenus à la suite de l'injection d'une même dose d'E.M.F. aux premier, troisième et cinquième jours du dernier stade (respectivement adultoïdes I, II, et III) (DEFOSSEZ & SCHALLER, 1973). La morphologie de l'appareil copulateur de l'adultoïde I est comparable à celle que l'on peut observer chez une larve témoin âgée de sept jours. En effet, la lame antérieure, la ligule et la vésicule séminale sont à peine ébauchées et seuls les hameçons antérieurs et le pénis ont amorcé un faible développement. L'appareil copulateur de cet adultoïde a donc conservé une morphologie de type larvaire. Par contre, il est recouvert par une cuticule de type imaginal. Une cuticule du même type tapisse d'ailleurs l'appareil copulateur de l'adultoïde II qui présente un développement comparable à celui trouvé chez une larve témoin âgée de dix à douze jours. Chez ces individus les hameçons antérieurs, la ligule, le pénis et la vésicule séminale sont déjà bien différenciés alors que la lame antérieure, les hameçons postérieurs et le bulbe génital ne sont

encore qu'ébauchés. Enfin, l'appareil copulateur de l'adultoïde III peut être identifié à celui trouvé chez une larve témoin proche de l'émergence. En effet, les différents sclérites portés par le deuxième sternite et l'ensemble du bulbe génital et du pénis semblent avoir acquis leur forme définitive et sont recouverts par une cuticule du type imaginal.

Ainsi, l'injection d'un mimétique de l'hormone juvénile au cours des cinq premiers jours du dernier stade larvaire inhibe le développement de l'appareil copulateur. C'est donc durant cette période semble-t-il que la baisse du taux de l'hormone juvénile naturelle détermine la métamorphose de cet organe.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Le développement de l'appareil copulateur mâle d'*Aeshna cyanea* est donc le résultat d'importants mouvements morphogénétiques qui s'effectuent grâce à un décollement cuticulaire précoce et à une importante activité mitotique et qui s'achèvent avec la sécrétion d'une cuticule imaginale. Ces différents processus de différenciation qui affectent l'épiderme sternal dans un ordre donné au cours du dernier stade larvaire (décollement cuticulaire au sixième jour, maximum de mitoses au treizième jour, morphogenèse des hameçons antérieurs à partir du sixième jour . . .) nécessitent la présence de l'hormone de mue. En effet, chez les larves permanentes, le développement de l'appareil copulateur est à peine amorcé sous l'impulsion semble-t-il de l'hormone produite par les glandes de mue, avant leur ablation et le catabolisme rapide de cette hormone (OHTAKI et al., 1968) ne permet pas la poursuite de la morphogenèse ébauchée. Ainsi, il est probable que chez la larve normale, le taux de l'hormone de mue (POSTLETHWAIT & SCHNEIDERMAN, 1968) qui croît au cours du dernier stade (SHAAYA & KARLSON, 1965), ou bien le temps d'exposition des tissus cibles à l'hormone (OHTAKI et al., 1968) soient responsables du déroulement successif des différents processus morphogénétiques à l'origine de l'appareil copulateur. Il faut cependant remarquer que le développement de cet organe s'achève chez la jeune imago avec la formation des sacs élastiques. Cette ultime organogenèse qui s'effectue à l'aide des mêmes processus différenciateurs que ceux cités précédemment (décollement cuticulaire, mitoses, mouvements morphogénétiques) semble cette fois échapper au contrôle des glandes de mue qui dégénèrent quelques heures après la mue imaginale (PFLUGFELDER, 1947; ARVY & GABE, 1953; SCHALLER, 1960).

A l'inverse de l'hormone de mue, l'hormone juvénile voit son taux décroître au début du dernier stade larvaire (WILLIAMS, 1961). C'est cette diminution de la quantité d'hormone juvénile dans l'hémolymphe des Insectes qui est directement responsable de la métamorphose. Chez *Aeshna cyanea*, la baisse du taux de l'hormone juvénile semble s'effectuer rapidement, au cours des six premiers jours du dernier stade, puis, passé cette période critique, l'injection d'un mimé-

tique n'entrave pas la métamorphose de l'appareil copulateur, pas plus d'ailleurs que celle de nombreux autres organes de la larve (SCHALLER & DEFOSSEZ, en préparation). Il semble donc que les différents processus morphogénétiques à l'origine de l'appareil copulateur soient déterminées dès le sixième jour du dernier stade. Cette détermination est cependant progressive. En effet, certains caractères de l'appareil copulateur adulte sont "programmés" très précocement et échappent à l'injection de fortes doses d'E.M.F. pratiquées dès le premier jour du dernier stade. Ainsi la cuticule de l'adultoïde I obtenu de cette manière présente l'apparence de la cuticule imaginale. Par contre, d'autres aspects du développement de l'appareil copulateur sont déterminés plus tardivement et peuvent être inhibés par des injections tardives d'E.M.F. Par exemple, chez l'adultoïde II obtenu à la suite d'une injection pratiquée au troisième jour du dernier stade, le bulbe génital est resté à l'état d'ébauche.

En conclusion, la métamorphose de l'appareil copulateur est sujette au contrôle d'une part de l'hormone juvénile, d'autre part de l'hormone de mue. La baisse du taux de la première hormone au cours des six premiers jours du dernier stade larvaire détermine les cellules de l'épiderme sternal à devenir des cellules de l'appareil copulateur. Cette détermination est progressive et dévoile un à un les futurs caractères imaginaires, certainement à l'aide de synthèses de nouveaux acides nucléiques (KRISHNAKUMARAN et al., 1967; EMMERICH, 1968; CHASE, 1970). La seconde hormone, l'hormone de mue utiliserait le même procédé (JOLY, 1968) pour contrôler la différenciation même de l'appareil copulateur qui s'effectue tout au long du stade. Seul, le développement des sacs élastiques échapperait à ce double contrôle.

BIBLIOGRAPHIE

- ARVY, L. & M. GABE, 1953. Données histologiques sur les formations endocrines rétro-cérébrales de quelques Odonates, *Annls. Sci. nat. (Zool.)* 14: 345-375.
- CHASE, A.M., 1970. Effects of antibiotics on epidermal metamorphosis and nucleic acid synthesis in *Tenebrio molitor* (Coléoptère). *J. Insect Physiol.* 16: 865-884.
- DEFOSSEZ, A., 1970. Organogenèse et différenciation de l'appareil génital durant la vie post-embryonnaire des Insectes Odonates. *Ann. Biol.* 9: 465-477.
- DEFOSSEZ, A., 1972. Développement d'un organe érectile dans l'appareil copulateur mâle des Odonates adultes. *Odonatologica* 1 (4): 191-198.
- DEFOSSEZ, A., 1973. Développement de l'appareil copulateur mâle au cours de la métamorphose des Aeshnidae (Odonata) (Sous presse).
- DEFOSSEZ, A. & F. SCHALLER, 1972. Inhibition de la métamorphose de l'appareil copulateur mâle de larves d'*Aeschna cyanea* Müll. (Insecte, Odonate) privées de leurs glandes de mue. *C. R. Acad. Sc. Paris (D)* 275: 971-974.
- DEFOSSEZ, A. & F. SCHALLER, 1973. Inhibition de la métamorphose de l'appareil copulateur mâle des larves d'*Aeschna cyanea* (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. Dtsch. Zool. Ges. 56: 519-526.
- JOLY, P., 1968. Endocrinologie des Insectes. Masson et Cie, Paris.
- KRISHNAKUMARAN, A., S.J. BERRY, J. OBERLANDER & H.A. SCHNEIDERMAN, 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.
- OHTAKI, T., R.D. MILKMAN & C.M. WILLIAMS, 1968. Dynamics of ecdysone secretion and action in the fleshfly *Sarcophaga peregrina*. Biol. Bull. 135: 322-334.
- PFAU, H.K., 1970. Die Vesica spermalis von *Aeschna cyanea* Müll. und *Cordulegaster annulatus* Latr., ihre Anatomie, Funktion und phylogenetische Bedeutung. Tombo 13 (1-4): 5-11.
- PFAU, H.K., 1971. Struktur und Funktion des sekundären Kopulationsapparates der Odonaten (Insecta, Palaeoptera), ihre Wandlung in der Stammesgeschichte und Bedeutung für die adaptive Entfaltung der Ordnung. Z. Morph. Tiere 70: 281-371.
- PFLUGFELDER, O., 1947. Über die Ventraldrüsen und einige andere inkretorische Organe des Insektenkopfes. Biol. Zbl. 66: 212-235.
- POSTLETHWAIT, J.H. & H.A. SCHNEIDERMAN, 1968. Effects of an ecdysone on growth and cuticle formation of *Drosophila* imaginal disks cultured in vivo. Biol. Bull. 135: 431-432.
- SCHALLER, F., 1960. Etude du développement post-embryonnaire d'*Aeschna cyanea* Müll. Anns Sci. Nat. (Zool.) 12: 751-868.
- SCHALLER, F., 1962. Phénomènes d'inhibition de la métamorphose chez des larves âgées d'*Aeschna cyanea* Müll. (Insecte, Odonate). Bull. Soc. Zool. 87: 582-600.
- SCHALLER, F. & A. DEFOSSEZ, en préparation. Inhibition de la métamorphose chez des larves d'*Aeshna cyanea* Müll. (Insecte, Odonate) par injection d'un mimétique de l'hormone juvénile.
- SHAAYA, E. & P. KARLSON, 1965. Der Ecdysontiter während der Insektenentwicklung. II. Die postembryonale Entwicklung der Schmeisfliege *Calliphora erythrocephala* Meig. J. Insect Physiol. 11: 65-69.
- WILLIAMS, C.M., 1961. The juvenile hormone. II. Its role in the endocrine control of molting, pupation and adult development in the *Cecropia* silkworm. Biol. Bull. 121: 572-585.