

short-day mothers mainly develop into macropters (80–90% macropters) (figure 1).

The prolonged exposure of short-day females to cold terminates the diapause and induces immediate oviposition under short-day conditions<sup>3</sup>. The cold treatment also increases the percentage of macropters, even when both the mothers (before and after chilling), and the progeny larvae are held under short-day conditions. The proportion of macropters increases to about 60% and approaches that of long-day activated mothers. Also, the wounding of short-day females elicits oviposition in a large portion of diapausing females. In contrast to cold activation, however, it does not increase the proportion of macropters among their short-day offspring (25% of macropters). If larvae are held under long-day conditions the proportion of macropters is high after cold treatment as well (figure 1).

Young unchilled females transferred from long-day to

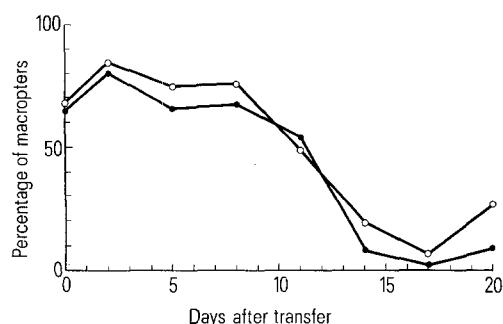


Fig. 2. The decrease in the proportion of long-winged individuals among the offspring (reared under short-day conditions as larvae) of parents transferred from long-day to short-day photoperiodic conditions. ●—● males, ○—○ females.

short-day conditions ceased laying eggs after about 20–25 days. Before this cessation, however, the production of macropters turned to the production of brachypters at about day 12–13 (figure 2). Thus, if not activated by chilling, the mothers remain sensitive to photoperiods.

The maternal influence on wing polymorphism in the progeny has been demonstrated in several aphid species<sup>4</sup>. In viviparous aphids young embryos within the maternal body may be influenced by the physiological condition of the mother. In other insect groups, however, the mediation of maternal influence on wing polymorphism to progeny through the egg stage has rarely been observed. Perhaps the only case known is *Nilaparvata lugens* (Homoptera, Delphacidae)<sup>5,6</sup>. In *P. apterus* this mechanism could clearly be demonstrated only in a selected strain. In wild material in the open, its possible contribution to the determination of morphology would be of little importance. The species has in principle one generation per year, the eggs are laid by overwintered chilled females, and the larvae develop mostly under long-day conditions<sup>7</sup>. Thus, as far as populations of Central Europe are concerned, the maternal influencing of wing form is a hidden potentiality of the organism, perhaps without biological meaning for the life of the species.

- 1 A. Honěk, Zool. Jb. Syst. 103, 1 (1976).
- 2 A. Honěk, Experientia 35, 762 (1979).
- 3 I. Hodek, Věst. čsl. Spol. zool. 38, 161 (1974).
- 4 H. Kunkel and W. Kloft, in: Sozialpolymorphismus bei Insekten, p. 152. Ed. G. H. Schmidt. Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1974.
- 5 A. Mori and K. Kiritani, Japan. J. Ecol. 21, 146 (1971).
- 6 M. Takagi, Jap. J. Ecol. 22, 118 (1972).
- 7 A. Honěk and K. Šrámková, Oecologia 24, 277 (1976).

## Effets de la température d'élevage sur la croissance et l'équilibre hormonal de *Schistocerca gregaria* au cours des deux derniers stades larvaires

## Effects of the rearing temperature upon growth and hormonal balance in *Schistocerca gregaria* during the last two larval instars

M. Papillon, P. Porcheron et J. C. Baehr

Université P. et M. Curie, ERA 070620, 105, Boulevard Raspail, F-75006 Paris (France), 19 juin 1979

**Summary.** A fall in diurnal rearing temperature (from 33 °C to 28 °C) during the 2 last larval instars of *Schistocerca gregaria* induces a lengthening of development and a slowing down of growth. At 28 °C, circulating levels of juvenile hormones, particularly those of JH<sub>3</sub>, diminish from the middle of the 4th instar but ecdysteroids and proteins accumulate in haemolymph.

L'existence de perturbations physiologiques graves, mais réversibles, liées à la température d'élevage a été démontrée chez les adultes de *Schistocerca*<sup>1–4</sup>. Chez ces criquets, un abaissement de 30 à 28 °C de la température diurne suffit à stériliser totalement les mâles en provoquant des anomalies de la spermiogénèse et détermine, chez les femelles, des troubles de la vitellogénèse qui s'opposent, non à la ponte, mais au développement des œufs fécondés. En outre, les animaux élevés à 28 °C présentent une rétention des produits de neurosécrétion dans la pars intercerebralis et manifestent un freinage de l'activité sécrétrice des corpora allata et des lobes glandulaires des corpora cardiacs<sup>5</sup>.

Nous abordons ici l'étude des répercussions de la température d'élevage sur la physiologie des larves des 2 derniers stades.

**Matériel et méthodes.** Les larves sont élevées en groupes denses depuis l'éclosion. La durée d'éclairement journalier est de 12 h, la température diurne de 33 ou 28 °C. L'humidité relative est automatiquement maintenue à 30–35%. Le poids sec des animaux est obtenu après dessication à 60 °C pendant 72 h. Le dosage des protéines (méthode du biuret) est pratiqué sur l'hémolymphé après une centrifugation (9600 × g; 20 min; 4 °C) qui élimine les hémocytes. Les moyennes rapportées pour ces 2 paramètres (figure 1) concernent des ensembles de 10–20 individus de chaque sexe.

Le dosage radioimmunologique (RIA) des ecdystéroides est réalisé à partir de prélèvements de 10–20 µl d'hémolymphé<sup>6,7</sup>. Dans le système utilisé, c'est la somme de l'ecdysone et de l'ecdystérone qui est mesurée<sup>6</sup>.

Le RIA des hormones juvéniles (JH), JH<sub>1</sub> et JH<sub>3</sub> est réalisé

pour les deux hormones sur le même prélèvement à partir de 150 à 300  $\mu$ l d'hémolymph. Dès le prélèvement, le sang est placé dans 500  $\mu$ l d'un mélange de méthanol/diéthyl éther (V/V). 10000 dpm de JH<sub>1</sub> tritiée (NEN, 10 Ci/mmole) sont ajoutés à ce mélange afin de suivre les rendements d'extraction et de reprise par le tampon de RIA; cette masse de JH<sub>1</sub> sera déduite des valeurs dosées. Les JH sont extraites par l'hexane puis purifiées sur colonne de silice<sup>8</sup>. Les RIA, utilisant des traceurs iodés, sont effectués dans des conditions déjà décrites<sup>8</sup>. Les antisérum utilisés ont les taux de croisement suivants: anti-JH<sub>1</sub> avec JH<sub>2</sub>: 7,3% et JH<sub>3</sub>: 0,8%, anti-JH<sub>3</sub> avec JH<sub>1</sub>: 0,3% et JH<sub>2</sub>: 0,9%. Les résultats exprimés ci-dessous ont été corrigés pour tenir compte des rendements de purification et de reprise (60-80%) et des taux de croisement.

Aucune différence liée au sexe n'ayant été décelée dans l'évolution des taux hormonaux, les valeurs rapportées concernent l'ensemble des mâles et des femelles de même âge.

**Résultats.** Durée des stades. A 33 °C le 4ème stade dure généralement 7 jours et le 5ème stade 11-12 jours. A 28 °C,

il existe une grande variabilité individuelle. Pour la majorité des larves le 4ème stade dure 13-16 jours, le 5ème stade 16-23 jours. Cette hétérogénéité de la population se traduit par des fluctuations des paramètres étudiés en fin de stade à 28 °C.

$$\text{Teneur en eau} \left( \frac{\text{Poids frais} - \text{Poids sec}}{\text{Poids frais}} \times 100 \right).$$

Elle n'est pas modifiée par la température ambiante. Les valeurs minimales se situent vers le milieu des stades (74% au stade IV, 70% au stade V). Les valeurs maximales atteignent 78% immédiatement avant et après les mues, dans les 2 stades et aux 2 températures.

Croissance pondérale (évaluée par le poids sec, figure 1), 4ème stade. A 33 °C, la croissance pondérale est importante jusqu'au 3ème jour; elle se ralentit ensuite chez les mâles mais reprend au cours du 5ème jour chez les femelles. A 28 °C, la croissance se poursuit jusqu'au 8ème jour, mais reste moins importante qu'à 33 °C. Les poids maxima sont inférieurs de 17% chez les mâles, de 26% chez les femelles, à ceux des larves élevées à 33 °C.

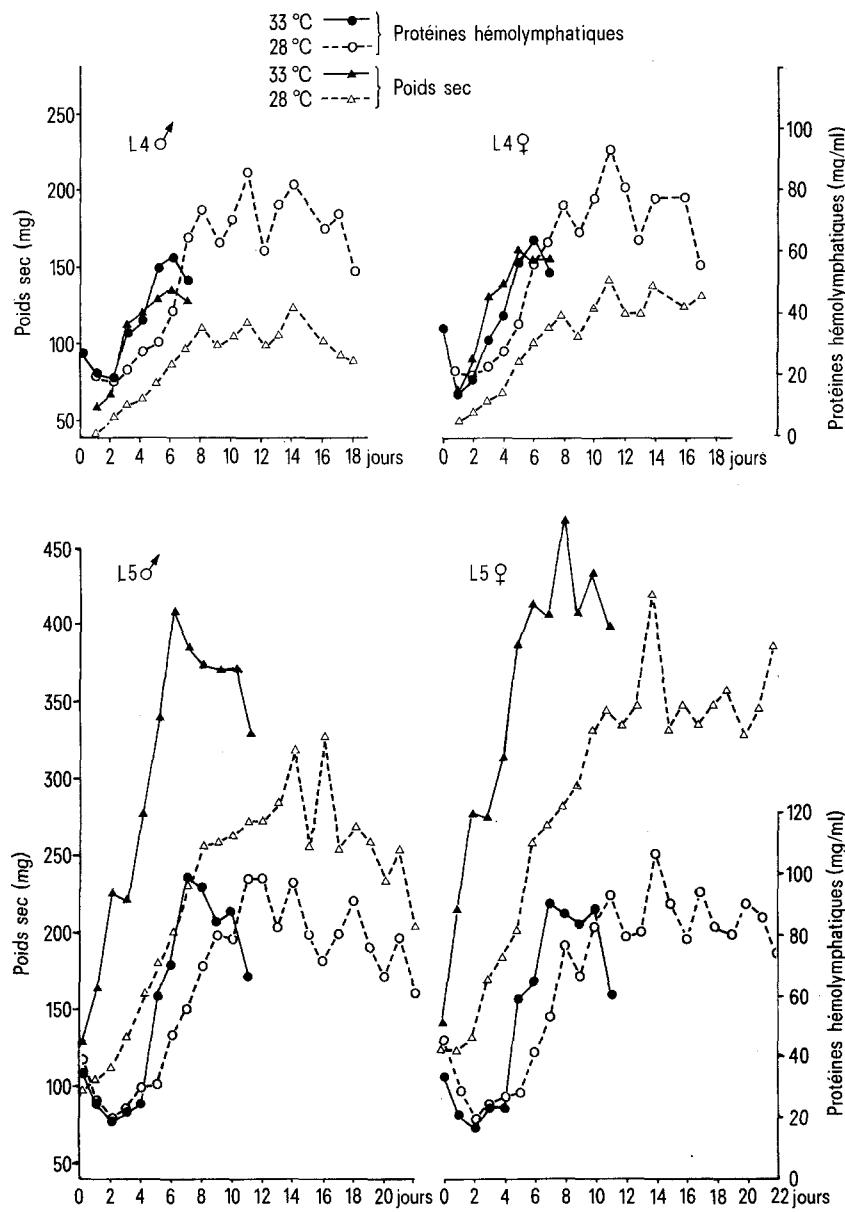


Fig. 1. Variations du poids sec et du taux de protéines hémolymphatiques au cours des 2 derniers stades larvaires chez des insectes élevés à 33 °C ou à 28 °C. Chaque point représente la moyenne de 10-15 individus.

5ème stade. A 33 °C une croissance pondérale rapide se manifeste pendant les 2 premiers jours; celle subit un arrêt au cours du 3ème jour, dans les 2 sexes, puis reprend à son rythme initial jusqu'au 6ème jour. Les mâles ont alors atteint leur poids maximal, tandis que chez les femelles, l'accroissement pondéral reprend le 8ème jour. A 28 °C, le développement pondéral n'est important qu'à partir du 2ème jour; il se continue jusqu'au 8ème jour chez les mâles, jusqu'au 10ème jour chez les femelles; après un fort ralentissement, il reprend le 14ème jour dans les 2 sexes. Les poids maxima sont alors atteints et sont de 20-25% plus faibles qu'à 33 °C. Ces observations montrent que la croissance tissulaire s'effectue surtout au début des stades, qu'elle dure plus longtemps chez les femelles que chez les mâles et que son rythme n'est pas régulier, les périodes

d'accroissement pondéral rapide étant entrecoupées de périodes brèves de ralentissement ou d'arrêt. Protéinémie (figure 1), 4ème stade. - A 33 °C, les taux de protéines hémolymphatiques diminuent au début du stade puis augmentent rapidement du 2ème au 6ème jour, où se situent les valeurs maximales (58 mg/ml chez les mâles; 64 mg/ml chez les femelles). A 28 °C, l'augmentation de la protéinémie commence également le 2ème jour et se poursuit jusqu'au 8ème, puis au cours des 10ème et 11ème jours. Les taux sont alors nettement plus élevés qu'à 33 °C: 85 mg/ml chez les mâles, 94 mg/ml chez les femelles. Il existe une certaine correspondance entre les variations pondérales et celles des taux de protéines: les maxima de ces 2 variables sont généralement synchrones aux 2 températures.

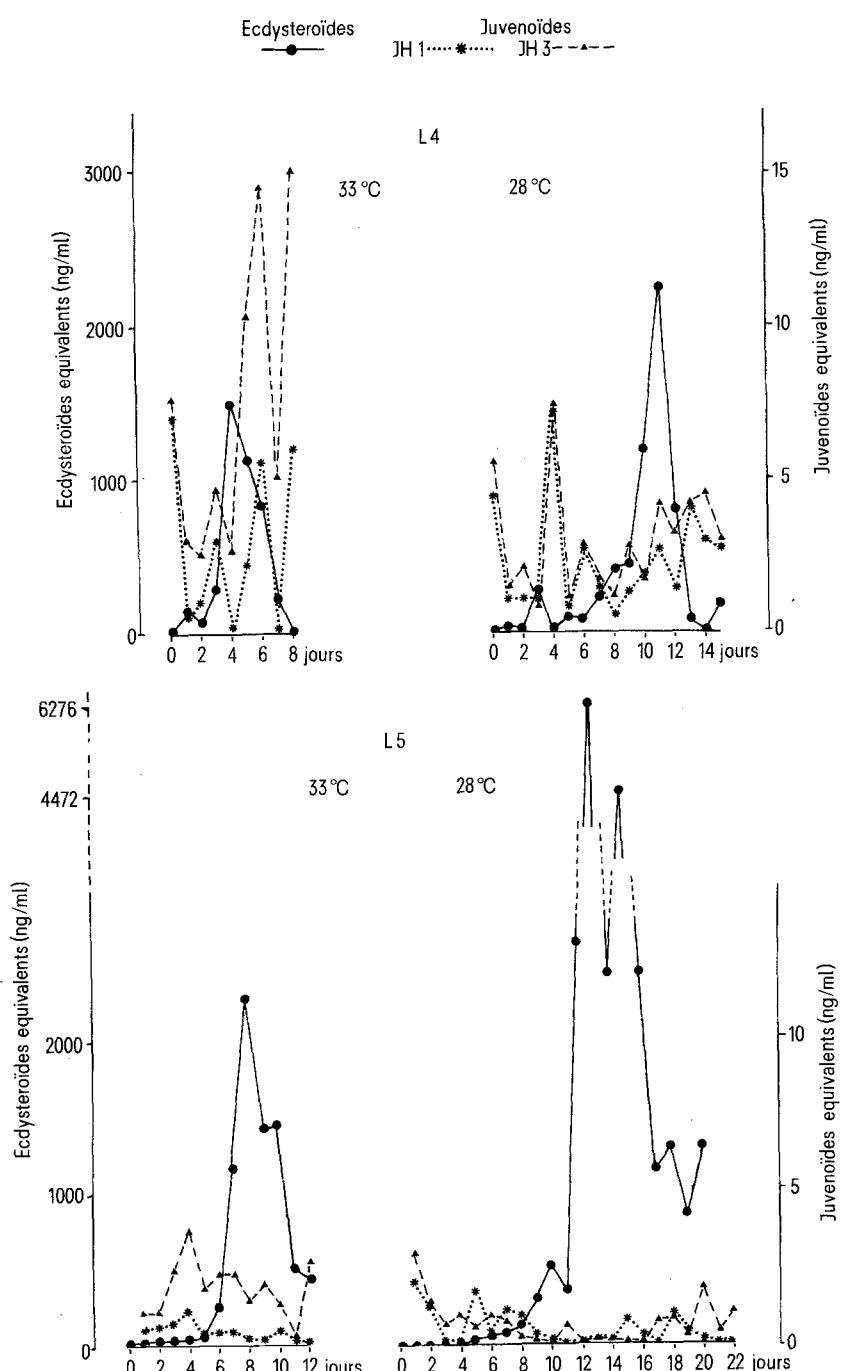


Fig. 2. Variations des taux hémolymphatiques en ecdystéroïdes et en juvénolides au cours des 2 derniers stades larvaires chez des insectes élevés à 33 °C ou à 28 °C. Pour les ecdystéroïdes, chaque point représente la moyenne de 5-15 prélèvements de 10-20 µl chacun. Pour les hormones juvéniles ( $JH_1$  et  $JH_3$ ) qui sont dosées sur le même échantillon, chaque point représente la moyenne de 4-8 prélèvements de 150-300 µl chacun.

5ème stade. A 33 °C, après une réduction pendant les 2 jours qui suivent la mue, les concentrations en protéines n'augmentent fortement que du 4ème au 7ème jour. Elles sont alors de 99 mg/ml chez les mâles, de 90 mg/ml chez les femelles. Les moyennes diminuent significativement la veille de la mue imaginaire. A 28 °C se retrouve la réduction initiale des taux protéiques observés à 33 °C. L'accroissement est important, mais moins rapide qu'à 33 °C, du 5ème au 11ème jour, avec une interruption de 24 h. Les taux élevés se maintiennent jusqu'à la fin du stade, ils sont du même ordre que ceux mesurés à 33 °C. - Si, à 33 °C, la période de forte teneur en protéines correspond bien à celle où les poids sont les plus élevés, sans qu'il y ait synchronisme strict des variations des 2 paramètres, à 28 °C la croissance pondérale manifeste un certain retard par rapport à l'apparition de la protéinémie maximale.

Hormones circulantes (figure 2). Les graphiques représentent les moyennes journalières des taux mesurés; aux périodes où ces moyennes sont élevées, cela signifie, non que toutes les valeurs mesurées sont élevées, mais que la fréquence des valeurs fortes est grande. Il semble, en effet, que l'apparition et la disparition des ecdystéroïdes et des hormones juvéniles dans l'hémolymphé soient extrêmement rapides<sup>10-12</sup>.

1. Ecdystéroïdes, 4ème stade. Un premier pic d'ecdystéroïdes, correspondant à des maxima de 400-650 ng/ml, se situe à la fin du premier jour du stade à 33 °C, le 3ème jour à 28 °C. Un 2nd pic s'observe 4 jours environ avant la 4ème mue aux 2 températures. Les valeurs maximales relevées pendant cette période sont comprises entre 1200 et 3800 ng/ml et sont indépendantes de la température.

5ème stade. Les taux d'ecdystéroïdes restent très bas jusqu'au 5ème jour à 33 °C, jusqu'au 8ème jour à 28 °C. Les valeurs élevées sont fréquentes du 7ème au 10ème jour à 33 °C, du 12ème au 18ème jour à 28 °C. Pendant la période où les taux hormonaux sont importants, les maxima atteints sont de 4300 ng/ml dans 10% des cas (avec une seule exception à 9600 ng/ml) à 33 °C alors que plus d'un quart des échantillons renferment de 4300 à 11500 ng d'ecdystéroïdes par ml d'hémolymphé à 28 °C.

2. JH<sub>1</sub> et JH<sub>3</sub>. 4ème stade. A 33 °C, la JH<sub>3</sub> est nettement plus abondante que la JH<sub>1</sub>; à 28 °C, les taux des 2 hormones sont sensiblement équivalents. Relativement élevés dans les premières heures du stade aux 2 températures, les concentrations chutent rapidement puis s'accroissent momentanément le 3ème jour à 33 °C, le 4ème jour à 28 °C. Pendant les premiers jours du stade, mise à part la concentration relative des 2 hormones, l'évolution des taux hormonaux n'est donc pas très modifiée par la température d'élevage. Par contre, le pic de JH<sub>3</sub> du 6ème jour et la remontée des taux pendant les heures qui précèdent la 4ème mue à 33 °C, sont supprimés à 28 °C. C'est donc pendant la 2nde moitié du stade que les effets de l'abaissement de la température se font sentir en restreignant la production (ou la libération) de JH<sub>3</sub>.

5ème stade. Les taux des hormones juvéniles sont faibles pendant ce stade. Cependant à 33 °C, la JH<sub>3</sub> est plus abondante que la JH<sub>1</sub>; à 28 °C, les 2 hormones sont en quantités négligeables, les taux de JH<sub>3</sub> étant abaissés.

*Conclusions.* L'abaissement de la température diurne de 33 à 28 °C tarde, ralentit et réduit la croissance tissulaire. Cela pourrait être mis au compte d'une déficience alimentaire, les insectes s'alimentant vraisemblablement moins à basse température, si l'on n'observait, dans le même temps, un accroissement très sensible du taux de protéines hémolymphatiques en fin de stade IV et le maintien de taux protéiques normaux pendant le stade V. A 28 °C, la synthèse des protéines circulantes semble donc moins perturbée que leur incorporation dans les tissus. Ceci est confirmé par le fait qu'au 5ème stade, à 28 °C, le développement

pondéral est retardé par rapport à l'évolution de la protéinémie. Quelle que soit la durée du stade, les valeurs maximales moyennes d'ecdystéroïdes circulants se situent durant la mise en place des couches cuticulaires pré-exuviales, soit 3-4 jours avant l'exuviation. Celle-ci se produit à un moment où les taux d'ecdystéroïdes hémolymphatiques diminuent considérablement. L'abaissement de la température tarde l'apparition des pics principaux d'ecdystéroïdes, mais les valeurs maximales atteintes sont, au moins au 5ème stade, plus élevées. Ce dernier fait est à rapprocher d'un résultat comparable obtenu chez *Calliphora erythrocephala*, sous l'influence du groupement, au cours du dernier stade larvaire<sup>13</sup>. Il existe donc une corrélation entre les chronologies d'apparition des maxima d'ecdystéroïdes circulants et l'exuviation. En revanche, nos résultats confirment l'existence d'une certaine indépendance entre la valeur des taux maxima et le déterminisme des processus de mue. L'accumulation des ecdystéroïdes hémolymphatiques à 28 °C peut-être la conséquence d'une production continue associée à un ralentissement de leur utilisation par les tissus cibles en raison d'un déficit en hormones juvéniles<sup>14</sup>. Notons qu'aux 2 températures les fortes teneurs en protéines et en ecdystéroïdes sont synchrones. L'élevage à 28 °C entraîne une diminution des taux d'hormones juvéniles, et notamment de la JH<sub>3</sub>, à partir de la 2ème moitié du 4ème stade, ce qui pourrait être lié à la rétention des facteurs cérébraux allatotropes au niveau de la pars intercerebralis<sup>5</sup>. Chez les adultes, cette hormone est la seule hormone juvénile présente<sup>15</sup>; sa fonction gonadotrope est alors évidente. Une relation possible entre un déficit en JH<sub>3</sub> et les troubles de la physiologie sexuelle observés à 28 °C chez les adultes, est en cours d'étude. Bien que cette hormone n'existe normalement qu'en quantités relativement faibles dans l'hémolymphé pendant le 5ème stade, sa quasi disparition à 28 °C suggère un rôle possible dans le conditionnement à long terme du fonctionnement ovarien. En effet, quel que soit le régime thermique au cours des autres stades, il faut et il suffit que les larves du 5ème stade soient élevées à 28 °C, pour que soit réduit le nombre des ovarioles fonctionnels chez les adultes<sup>3</sup>.

En général, les faits présentés sont compatibles avec l'hypothèse d'un contrôle par les hormones juvéniles de l'incorporation dans les tissus des matériaux circulants - protéines et ecdystéroïdes - peut-être par le biais d'une modification de la perméabilité membranaire.

- 1 M. Papillon, S. Lauverjat et A.M. Cantacuzene, J. Insect Physiol. 18, 2005 (1972).
- 2 A.M. Cantacuzene, S. Lauverjat et M. Papillon, J. Insect Physiol. 18, 2077 (1972).
- 3 M. Papillon et A.M. Cantacuzene-Szekely, Bull. biol. Fr. Belg. 107, 116 (1973).
- 4 M. Papillon et S. Lauverjat, Acrida 44, 155 (1975).
- 5 M. Papillon, P. Cassier, J. Girardie et M. Lafon, Archs Biol. 87, 103 (1976).
- 6 P. Porcheron, J. Foucier, C. Gros, P. Pradelles, P. Cassier et F. Dray, FBS Letters 61, 159 (1976).
- 7 P. Porcheron, P. Cassier et F. Dray, Bull. Soc. Zool. 71, Suppl. 1 (1977).
- 8 J.C. Baehr, P. Pradelles et F. Dray, Annls Biol. anim. Biochim. Biophys. 19, 1827 (1979).
- 9 J.C. Baehr, P. Pradelles, P. Cassier et F. Dray, Bull. Soc. Zool. 102, 300 (1977).
- 10 A. Girardie et M. De Reggi, J. Insect Physiol. 24, 797 (1978).
- 11 M. Hirn, C. Hetru, M. Lagueux et J.A. Hoffmann, J. Insect Physiol. 25, 255 (1979).
- 12 B. Lanzrein, V. Gentinetta, R. Fehr et M. Lüscher, Gen. comp. Endocr. 36, 339 (1978).
- 13 P. Berreur, J. Berreur-Bonnenfant, P. Porcheron et F. Dray, Experientia 35, 1031 (1979).
- 14 P. Porcheron et J.P. Caruelle, en préparation.
- 15 M.M. Blight et M.J. Wenham, Insect Biochem. 6, 35 (1976).