

## INDUCTION DES ARRETS DE VITELLOGENESE CHEZ UN INSECTE SUBSOCIAL: ROLE DES ECDYSTEROIDES ET DU CERVEAU.

Fouad SAYAH, Michel BREUZET & Antoinette KARLINSKY

*Laboratoire de Physiologie des Insectes, Université Pierre et Marie Curie  
4 Place Jussieu, F-75252 Paris Cedex.*

**Résumé:** Chez la femelle adulte du Dermaptère *Labidura riparia*, deux phases comportementales et physiologiques bien contrastées alternent régulièrement. Au cours de phases d'activité générale, des neurohormones de la *pars intercerebralis* stimulent la synthèse d'hormone juvénile (JH) par le *corpus allatum* et la vitellogenèse se réalise; on constate parallèlement une montée des taux d'ecdystéroïdes. Peu avant l'ovulation s'observe un pic de 20-hydroxyecdysone (20E) et le taux d'hormone juvénile chute. Pendant les phases de soins maternels, des dégénérescences folliculaires s'installent. Des injections de 20E entraînent l'apparition prématurée des dégénérescences folliculaires. L'effet de la 20E est annulé par l'application de JH. Chez des femelles privées de *pars lateralis*, la vitellogenèse se déroule normalement et n'est pas perturbée par l'injection de 20E. Cette hormone n'agit donc pas directement sur l'ovaire ni sur le *corpus allatum*. En conclusion, le cycle de *L. riparia* serait régulé par le jeu d'au moins 2 centres cérébraux et 2 hormones: la *pars intercerebralis* stimule le *corpus allatum* dont la JH induit la vitellogenèse. Celle-ci s'accompagne d'une synthèse d'ecdystéroïdes. Un taux élevé d'ecdystéroïdes inhibe en retour la vitellogenèse, via la *pars lateralis* et probablement par l'intermédiaire d'un facteur allatostatique responsable d'une baisse du taux de JH.

**Mots-clés:** Cycle reproducteur, régulations, ecdystéroïdes, hormone juvénile, *pars lateralis*.

**Abstract:** Ovarian arrest induction in a subsocial Insect: role of ecdysteroids and brain.

The Dermaptera *Labidura riparia* females display two contrasting behavioural and physiological phases which alternate all along the imaginal life. During the first period, *pars intercerebralis* neurofactors trigger the juvenile hormone (JH) synthesis to induce the vitellogenesis; a peak of 20-hydroxyecdysone (20E) is observed at ovulation time. During the second period (egg-care period), JH titres are low, vitellogenesis stops and oocytes degenerate. Experimental anticipation of the 20E peak results in premature follicular atresy, which is suppressed by JH treatment. Females deprived of *pars lateralis* display a continuous vitellogenesis which is not disturbed by 20E injections. Thus, ecdysteroids do not act directly on ovaries nor on *corpus allatum*: the *pars lateralis* must be present. In conclusion, we can suggest a new hormonal scheme to explain the regulation of *L. riparia* cycles: the *pars intercerebralis* triggers the *corpus allatum* to produce JH that stimulates vitellogenesis; the concomitant increase of ecdysteroid titers exerts via the *pars lateralis* and probably via an allatostatic factor a feedback inhibition of vitellogenesis.

**Key words:** Reproductive cycle, regulation, ecdysteroids, juvenile hormone, *pars lateralis*.

## INTRODUCTION

Les cycles reproducteurs des Insectes comportent une série d'étapes successives, souvent interdépendantes, et dont la régulation implique l'intervention de nombreux facteurs externes et internes, ces derniers étant essentiellement des facteurs endocrines et neuroendocrines. Des corrélations entre certains événements physiologiques ou comportementaux et les fluctuations des taux d'hormones au cours des cycles ont souvent été mises en évidence chez les femelles adultes, surtout en ce qui concerne l'hormone juvénile. Chez de nombreuses espèces, cette hormone joue un rôle gonadotrope et stimule la vitellogenèse. Celle-ci se déroule souvent de manière continue, entrecoupée seulement de courtes périodes de ponte. La vitellogenèse peut aussi être interrompue; d'autres étapes s'intercalent alors dans le cycle normal : incubation des embryons, comme chez les blattes; gestation, comme chez certains pucerons ou chez la glossine; soins parentaux, diapause, etc. La régulation de ces diverses étapes n'est pas toujours bien connue.

Nous avons cherché à élucider les contrôles d'une de ces étapes chez un Insecte Dermaptère, *Labidura riparia*. Après une courte période de maturation sexuelle, la femelle de cet Insecte alterne régulièrement deux phases très contrastées tout au long de sa vie imaginaire (Fig. 1): des phases épigées d'activité générale - prédation, prise alimentaire, accouplement - et des phases hypogées de soins maternels et de jeûne. Chacune dure une dizaine de jours (Fig. 1) (CAUSSANEL, 1975).

Au cours des premières se déroulent les vitellogenèses, sous le contrôle de l'hormone juvénile gonadotrope, dont la production est elle-même stimulée par un centre cérébral neuroendocrine, la *pars intercerebralis* (CAUSSANEL, 1975; CAUSSANEL et BREUZET, 1980). A la fin de chaque période de vitellogenèse, les oeufs mûrs sont chorionnés et la ponte ovulaire a lieu. Les taux d'hormone juvénile augmentent régulièrement durant la vitellogenèse, puis chutent au moment de la ponte ovulaire (BAEHR et coll., 1982).

La ponte ovulaire marque le basculement physiologique et comportemental de la femelle qui cherche alors à s'isoler, à s'enfouir et commence à jeûner. Si les conditions sont favorables, une ponte massive se produit et la phase de soins maternels commence. Au cours de cette phase, l'évolution des follicules ovariens n'est pas stoppée mais la vitellogenèse n'a pas lieu; en effet, les ovocytes dépassant une certaine taille critique dégénèrent les uns après les autres (CAUSSANEL, 1975). Durant cette phase d'arrêt de vitellogenèse, les taux d'hormone juvénile demeurent faibles. Ils remonteront peu avant l'éclosion des jeunes et assureront la reprise de la vitellogenèse qui accompagne le retour à une nouvelle phase d'activité générale.

Des fluctuations des taux d'ecdystéroïdes ont également été montrées chez les femelles adultes (BAEHR et coll., 1982; VANCASSEL et coll., 1984) mais leur signification et leur éventuelle intervention dans le réglage des cycles restait à établir. Nous avons donc vérifié les corrélations entre ces taux et certains événements du cycle gonadotrophique (SAYAH et coll., 1991). Très faibles à l'émergence, les taux d'ecdystéroïdes circulants évoluent peu pendant la phase de maturation sexuelle et le début de la phase de vitellogenèse. Ils augmentent rapidement vers la fin de cette période, sont élevés au moment du dépôt du chorion et atteignent un pic au moment de l'ovulation.

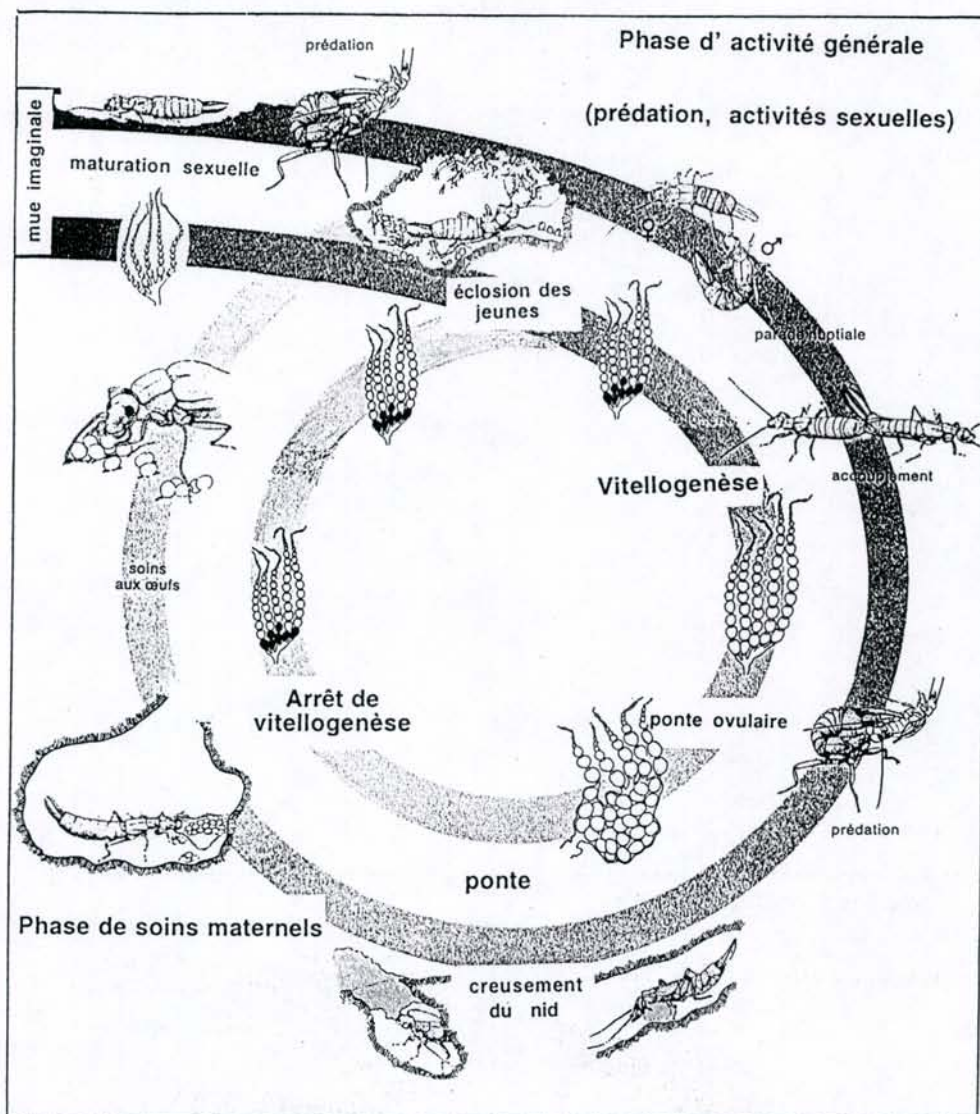


Figure 1: Cycle reproducteur de la femelle de *Labidura riparia*. Le cercle extérieur représente les deux étapes comportementales qui alternent au cours de sa vie imaginaire: phases d'activité générale, phases de soins maternels. En parallèle le cercle intérieur figure l'évolution ovarienne: phases de vitellogenèse et phases d'arrêt de vitellogenèse. (d'après CAUSSANEL et KARLINSKY, 1981, modifié).

Figure 1: Reproductive female cycle of *Labidura riparia*. The external circle figures the behavioural phases: general activity periods and egg-care periods. In parallel, the internal circle figures the ovarian evolution: vitellogenesis phases and ovarian arrest phases. (modified from CAUSSANEL and KARLINSKY, 1981).

Ce pic coïncide avec l'apparition des premières dégénérescences ovariennes. Les taux d'ecdystéroïdes chutent ensuite au moment de la ponte et se maintiennent peu élevés durant la période de soins aux oeufs et d'arrêt de vitellogenèse. Ils remontent au cours de la phase de vitellogenèse suivante (Fig. 2).

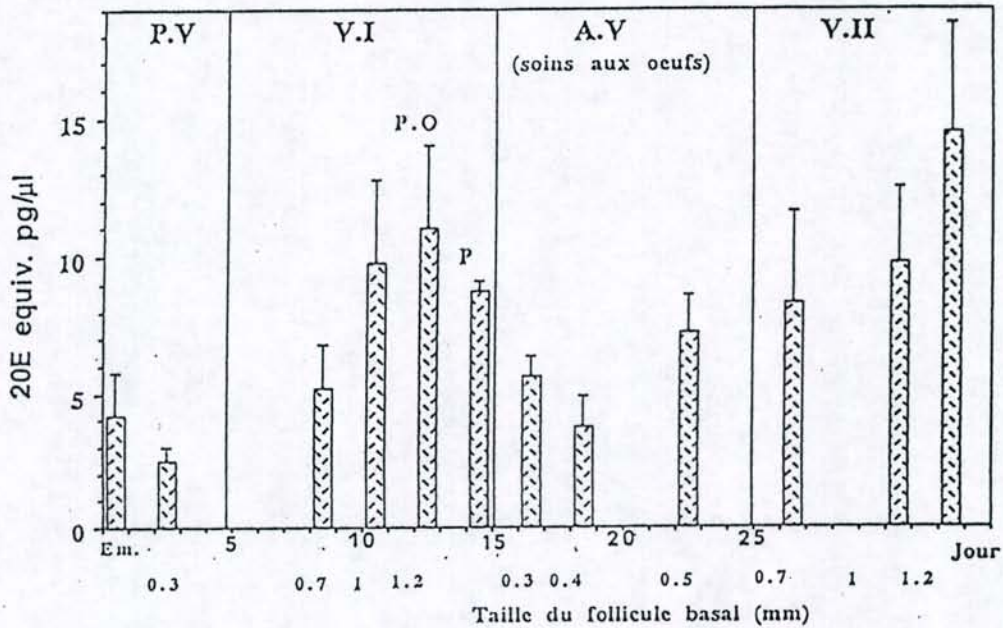


Figure 2: Evolution des taux d'ecdystéroïdes hémolympatiques au cours du cycle chez la femelle de *Labidura riparia* (résultats exprimés en pg équivalents de 20E par  $\mu\text{l}$  d'hémolymphe). (d'après SAYAH et coll., 1991).

A.V. : arrêts de vitellogenèse; Em. : émergence; P. : ponte; P.O. : ponte ovulaire; P.V. : prévitellogenèse (= phase de maturation sexuelle); V. I, V. II : première et deuxième phases de vitellogenèse.

Figure 2: Hemolymphatic ecdysteroid titer fluctuations during the female reproductive cycle of *Labidura riparia* (results expressed as pg 20E equivalents per  $\mu\text{l}$  of hemolymph) (from SAYAH et al., 1991).

A.V. : ovarian arrest period; Em. : emergence; P : egg-laying; P.O : ovulation ;

P.V. : previtellogenesis (= sexual maturation period); V. I; V. II : first and second vitellogenic periods.

La coïncidence entre l'apparition des dégénérescences folliculaires et le pic des taux d'ecdystéroïdes circulants nous a suggéré la possibilité d'une intervention de ces hormones dans le déclenchement des phénomènes d'atrésie et donc dans la régulation de la deuxième phase du cycle gonadotrophique. Nous avons étudié les répercussions sur ces événements d'apports d'ecdystéroïdes exogènes et également cherché à élucider le rôle d'un centre neurosécréteur cérébral, la *pars lateralis*.

## MATERIEL ET METHODES

**Matériel biologique:** Les expériences sont menées sur des femelles adultes de *Labidura riparia* maintenues au laboratoire dans des conditions déjà décrites (CAUSSANEL, 1970). Dans ces conditions, la période de maturation sexuelle dure 5 jours, les phases d'activité générale et de soins aux oeufs 10 jours chacune. La première ovulation se produit vers le 13<sup>e</sup> jour et une ponte groupée survient le 15<sup>e</sup> jour.

**Techniques microchirurgicales:** La *pars lateralis* est cautérisée dans les 24 h qui suivent la mue imaginaire selon la méthode précédemment décrite (SAYAH et coll., 1992).

**Traitements hormonaux:** Nous avons injecté des doses croissantes de 20-hydroxyecdysone (20E; Sigma Chemical Co) à de jeunes femelles selon la chronologie indiquée dans le tableau I. Certaines femelles ont reçu en application topique 5 µg d'hormone juvénile (JH III; Sigma Chemical Co), dose qui rétablit la vitellogenèse après allatectomie ou destruction de la *pars intercerebralis* (BREUZET 1975, 1976) Le 9ème jour, les ovaires sont prélevés et leur état de développement est noté. Ils sont ensuite pesés individuellement après avoir été essorés avec soin.

**Tableau I :** Traitement par la 20E: injections de diverses doses de 20E (en ng/femelle). Un groupe (+ JH) a également reçu 5 µg d'hormone juvénile/femelle. PL<sup>-</sup> : femelles privées de *pars lateralis* à l'émergence.

**Table I :** 20E treatments: injections of various doses (ng/female) of 20E. In one group of females (+JH), 5 µg of JH in acetone was topically applied on day 7. PL<sup>-</sup> : females deprived of *pars lateralis* on day one.

Animaux	n	6è jour	7è jour	8è jour	Dose totale 20 E (en ng/femelle)
Femelles normales	10	20	20	60	100
	8	40	40	120	200
	7	80	80	140	300
	7	100	100	200	400
Femelles normales + JH	8	100	100 + 5 µg JH	200	400
Femelles PL <sup>-</sup>	13	100	100	200	400

## RESULTATS

### *Effet des cautérisations de *pars lateralis**

Contrairement à ce qu'on observe après cautérisation de la *pars intercerebralis* ou ablation du *corpus allatum*, la suppression des cellules neurosécrétrices de la *pars lateralis* n'empêche pas le développement ovarien; la vitellogenèse et la ponte ovulaire interviennent dans les délais normaux. Mais le cycle est perturbé : la vitellogenèse se déroule de façon continue, durant au moins une trentaine de jours. Les dégénérescences folliculaires normalement liées à la fin d'une phase de vitellogenèse n'apparaissent pas. Sur le plan comportemental, la femelle ne cherche pas à creuser un nid et la ponte n'est pas groupée comme chez les femelles normales; quelques oeufs sont émis quotidiennement, de façon dispersée, et la femelle ne leur prodigue aucun soin. En l'absence de *pars lateralis*, la phase de soins maternels et d'arrêt de vitellogenèse ne peut donc survenir.

### Effet des ecdystéroïdes

Par des injections croissantes de 20E (voir tableau I), nous avons anticipé de quelques jours la montée des taux d'ecdystéroïdes au cours du premier cycle de vitellogenèse. Le pic réalisé expérimentalement se situe au 8<sup>e</sup> jour alors qu'il se produit normalement au 13<sup>e</sup> jour de la vie imaginaire, lorsque s'achève la phase de vitellogenèse. Chez les femelles normales ainsi traitées, des dégénérescences folliculaires apparaissent prématurément dès le 9<sup>e</sup> jour et la vitellogenèse est stoppée. Cet effet est dose-dépendant ce que traduit le poids ovarien (Fig. 3).

L'action de la 20E est annulée lorsqu'on traite les femelles par l'hormone juvénile juste avant le pic anticipé de 20E (Fig. 3, 400+JH). La vitellogenèse se déroule alors normalement.

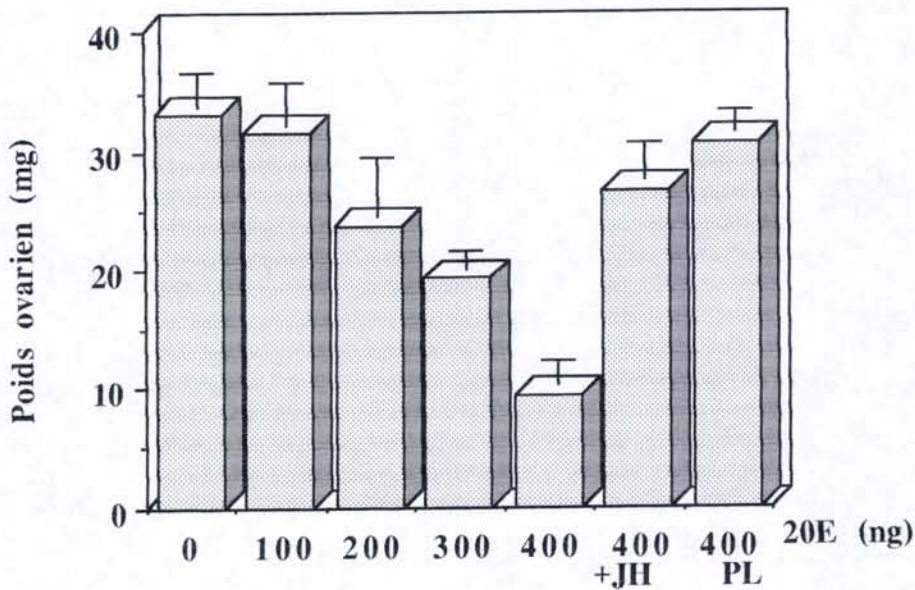


Figure 3 : Inhibition de la vitellogenèse par la 20-hydroxyecdysone (20E) chez *Labidura riparia*. Le poids frais ovarien est utilisé comme indice de l'importance de la vitellogenèse. En abscisse : doses de 20E injectées en ng.

O : animaux témoins ne recevant aucun traitement. 400 + JH : femelles recevant simultanément 400 ng de 20E et 5 µg d'hormone juvénile. 400 PL: femelles recevant 400 ng de 20E après cautérisation, à l'émergence, de la pars lateralis. Chaque point représente le poids frais moyen ( $\pm$  erreur standard) de 7 à 13 paires d'ovaires pesées individuellement. Les différences entre témoins et animaux traités par 300 ou 400 ng de 20E sont significatives ( $P < 0,003$ ).

Figure 3 : Inhibition of vitellogenesis in *L. riparia* by 20-hydroxyecdysone (20E). Ovarian weight is used as an index of vitellogenesis.

Abscissa : 20E injected doses in ng. O : control animals receiving no 20E ; 400 + JH : females treated concomitantly with 400 ng of 20E and 5 µg of JH ; 400 PL: pars lateralis cauterized females injected with 400 ng of 20E. Each data point represents the mean  $\pm$  SEM of fresh weight of 7-13 individual pair ovaries. The differences between control animals and animals injected with 300 or 400 ng of 20E are significant ( $P < 0.003$ )

Lorsque les injections de 20E sont pratiquées chez des femelles privées de *pars lateralis*, les dégénérescences n'apparaissent pas et la vitellogenèse a lieu, même après traitement par la dose maximale (Fig. 3, 400 PL).

## DISCUSSION

Nos résultats nous amènent à intégrer deux nouveaux éléments endocrines : les ecdystéroïdes et la *pars lateralis*, dans l'interprétation des régulations du cycle reproducteur femelle de *Labidura riparia*.

Nous avons montré en effet qu'un taux élevé d'ecdystéroïdes peut induire un arrêt de vitellogenèse et l'apparition de dégénérescences folliculaires. Nous avons également montré que les ecdystéroïdes n'agissent pas directement sur l'ovaire mais nécessitent la présence de la *pars lateralis* et que l'action de la 20E peut être contrecarrée en modifiant la balance hormonale par un apport d'hormone juvénile.

De l'ensemble de ces faits nous pouvons déduire le schéma hypothétique suivant (Fig. 4): le taux élevé de 20E normalement observé à la fin de chaque vitellogenèse agirait sur la *pars lateralis*. Celle-ci serait alors responsable, directement ou indirectement, peut-être via la *pars intercerebralis*, d'une action allatostatique qui induirait à son tour une baisse du taux d'hormone juvénile. Cette baisse entraînerait l'arrêt de la vitellogenèse et l'atrésie des follicules ovariens, événements qui marquent la deuxième phase du cycle reproducteur. Lorsque le taux d'ecdystéroïdes est faible, la *pars lateralis* ne serait pas stimulée et le facteur allatostatique ne serait pas produit; le *corpus allatum* libérerait alors de l'hormone juvénile et la vitellogenèse pourrait se dérouler. Une production permanente d'hormone juvénile résultant de l'absence du facteur allatostatique présumé expliquerait ainsi la vitellogenèse continue observée après destruction de la *pars lateralis*.

La régulation de l'activité des *corpora allata* par les ecdystéroïdes et par des facteurs cérébraux a fait l'objet d'un certain nombre d'études (revue de TOBE et STAY, 1985). L'intervention des ecdystéroïdes dans le contrôle de la synthèse d'hormone juvénile a déjà été suggérée chez d'autres Insectes, notamment chez des blattes comme *Diploptera punctata* (STAY et coll., 1980) et *Nauphoeta cinerea* (LANZREIN et coll., 1981). On a également montré leur intervention dans le contrôle des vitellogenèses; ainsi, des injections de divers ecdystéroïdes peuvent provoquer des arrêts de vitellogenèse chez la punaise *Oncopeltus fasciatus* (ALDRICH et coll., 1981). Chez les Diptères au contraire les ecdystéroïdes agiraient en synergie avec l'hormone juvénile pour stimuler la vitellogenèse (HAGEDORN, 1985). L'hypothèse d'une intervention de la *pars lateralis* dans le réglage des cycles reproducteurs par l'intermédiaire d'un facteur allatostatique a par ailleurs été proposée chez *Diploptera punctata* (RÜEGG et coll., 1983). On a mis en évidence chez le même insecte une activité allatostatique de neuropeptides issus de divers centres nerveux (RANKIN et STAY, 1987). En revanche, une fonction allatostimulante a été attribuée à la *pars lateralis* de *Locusta migratoria* (GIRARDIE et coll., 1981). La diversité des données recueillies chez les Insectes est le reflet de la diversité des stratégies reproductrices développées dans ce groupe.

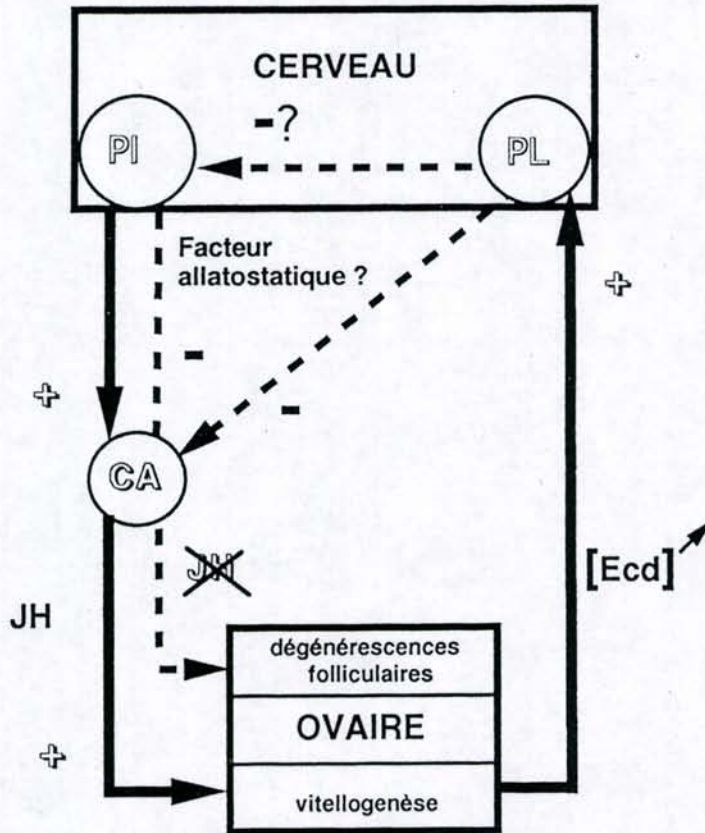


Figure 4 : Schéma d'interprétation des régulations hormonales du cycle reproducteur chez *L. riparia* : la pars intercerebralis (PI) stimule la production d'hormone juvénile (JH) par le corpus allatum (CA). L'hormone juvénile stimule la vitellogenèse. A la fin de la période de vitellogenèse, un taux élevé d'ecdystéroïdes circulants (20E) stimulerait la pars lateralis (PL) qui aurait - directement ou par l'intermédiaire de la PI - un effet allatostatique. L'activité des CA décroît alors, des follicules dégénèrent et la phase d'arrêt de vitellogenèse (=phase de soins maternels) commence.

N.B. Les stimuli externes, comme ceux provenant des embryons en développement durant la période de soins maternels ou plus tard l'éclosion des jeunes, ne sont pas pris en compte ici.

Figure 4 : Hypothetical diagram of hormonal regulations of the *L. riparia* female gonadotrophic cycle : the pars intercerebralis (PI) stimulates juvenile hormone (JH) production by the corpus allatum (CA). An increasing JH titer enhances vitellogenesis. At the end of the vitellogenic period a high ecdysteroid titre (20E) likely stimulates the pars lateralis (PL) cells to have, directly or via the PI, an allatostatic effect. CA activity decreases and follicles degenerate : the ovarian arrest period (=egg-care period) begins.

N.B. External stimuli, as those provided by the developing embryos during the egg-care period or, later, by eclosion, are not taken in account here.

## REFERENCES

- ALDRICH, J.R., SVOBODA, J.A. & THOMPSON, M.J. 1981. Cuticle synthesis and inhibition of vitellogenesis: Makisterone A is more active than 20-hydroxyecdysone in female milkweed bugs. *J. Exp. Zool.*, 218 : 133-137.
- BAEHR, J.C., CASSIER, P., CAUSSANEL, C. & PORCHERON, P. 1982. Activity of *corpora allata*, endocrine balance and reproduction in female *Labidura riparia* (Dermaptera) *Cell. Tissue Res.*, 225 : 267-282.



- BREUZET, M. 1975. Influence d'un mimétique de l'hormone juvénile sur le fonctionnement ovarien des femelles allatectomisées de *Labidura riparia* (Insecte Dermaptère). *C. R. Acad. Sc. Paris*, 281 : 815-818.
- BREUZET, M. 1976. Influence d'un mimétique de l'hormone juvénile sur le fonctionnement ovarien des femelles de *Labidura riparia* (Insecte Dermaptère) privées de *pars intercerebralis*. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 282 : 2095-2098.
- CAUSSANEL, C. 1970. Principales exigences écophysiologiques du forficule des sables, *Labidura riparia* (Derm. Labiduridae). *Ann. Soc. Ent. Fr.*, (N S), 6 : 589-612.
- CAUSSANEL, C. 1975. Cycles reproducteurs de la femelle de *Labidura riparia* (Insecte Dermaptère) et leurs contrôles neuroendocrines. Thèse Doct. ès Sc., Univ. Paris 6. 127 p.
- CAUSSANEL, C. & BREUZET, M. 1980. Les contrôles hormonaux des cycles ovariens chez la femelle d'un insecte Dermaptère *Labidura riparia* Pallas. *Ann. Endocrinol.* : 21-30.
- CAUSSANEL, C. & KARLINSKY, A. 1981. Les soins maternels d'un perce-oreille. *La Recherche*, 125 : 1004-1007.
- GIRARDIE, J., TOBE, S.S. & GIRARDIE, A. 1981. Biosynthèse de l'hormone juvénile C<sub>16</sub> (JH-III) et maturation ovarienne chez le Criquet migrateur. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 293 : 443-446.
- HAGEDORN, H.H. 1985. The role of ecdysteroids in adult insect. In : *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology* (G.A. Kerkut and L.I. Gilbert Eds.), Vol. 8, Pergamon Press, Oxford, pp. 205-261.
- LANZREIN, B., WILHELM, R. & BUSCHOR, J. 1981. On regulation of *corpora allata* activity in adult females of the ovoviviparous cockroach. In: *Juvenile Hormone Biochemistry* (G.E. Pratt and G.P. Brooks Eds.), Elsevier, Amsterdam, pp. 147-160.
- RANKIN, S.M. & STAY B. 1987. Distribution of allatostatin in the adult cockroach, *Diploptera punctata* and effects on *corpora allata* in vitro. *J. Insect. Physiol.*, 33 : 8 : 551-558.
- RÜEGG, R.P., LOCOCO, D.J., & TOBE, S.S. 1983. Control of the *corpus allatum* activity in *Diploptera punctata*: Roles of *pars intercerebralis* and *pars lateralis*. *Experientia*, 39 : 1329-1334.
- SAYAH, F., BLAIS, C., BREUZET, M. & KARLINSKY, A. 1991. Ecdysteroids during the gonadotrophic cycle of the *Labidura riparia* females (Dermaptera). *Invert. Reprod. Dev.* 19 : 185-192.
- SAYAH, F., BREUZET, M. & KARLINSKY, A. 1992. Régulation des métabolismes protéique et lipidique au cours des cycles reproducteurs chez *Labidura riparia* (Insecte, Dermaptère). *C. R. Acad. Sc. Paris*, 314 : 309-315.
- STAY, B., FRIEDEL, T., TOBE, S.S. & MUNDALL, E.C. 1980. Feedback control of juvenile hormone synthesis in Cockroaches : possible role for ecdysterone. *Science*, 27 : 898-900.
- TOBE, S.S. & STAY, B. 1985. Structure and regulation of the *corpus allatum*. *Adv. Insect Physiol.* 4: 305-432.
- VANCASSEL, M., FORASTE, M., STRAMBI, A. & STRAMBI, C. 1984. Normal and experimentally induced changes in hormonal hemolymph titers during parental behavior of the earwig *Labidura riparia*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 56 : 444-456.