AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

S/M3
77/3

UNIVERSITÉ DE METZ

U.E.R. d'Ecologie

ANNÉE 1977 N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT DE SPÉCIALITÉ

En Ecotoxicologie et Chimie de l'Environnement

Mention Ecotoxicologie

PAR

Claude CROCHARD

présentée et soutenue publiquement le 24 Mai 1977

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DU POUVOIR OVICIDE DE DEUX ANALOGUES DE L'HORMONE JUVÉNILE SUR DIVERSES PONTES D'INSECTES.

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE - METZ

N° inv	19770055
Cote	S/M3 77/3
Loc	

UNIVERSITÉ DE METZ BIBLIOTHÈQUE

Membres du Jury :

Président : Monsieur F. STEPHAN
Professeur à l'Université de Nancy I

Examinateurs : Monsieur J.-M. PELT
Directeur de l'U.E.R. d'Écologie

Monsieur M. NOURISSON
Maître de Conférence à l'U.E.R. d'Écologie

Monsieur J.-C. PIHAN
Maître de Conférence à l'U.E.R. d'Écologie

AVANT PROPOS

Cette thèse s'appuie sur un travail antérieur consacré à l'examen du pouvoir ovicide du Farnesol chez *Gryllus bimaculatus* DE GEER.

Elle étudie les effets de deux analogues plus récents de l'hormone juvénile sur le développement embryonnaire du grillon ainsi que sur celui d'autres insectes.

Qu'il me soit permis d'exprimer mes remerciements à Monsieur PIHAN, Maître de conférence à l'Institut Européen d'Ecologie pour avoir proposé cette ligne de recherche et accepté la direction d'un travail entrepris à distance avec tous les problèmes que cela pose. En effet, la partie expérimentale a été réalisée à la Faculté des Sciences de RABAT, dans le département de Biologie où le professeur El HILALI m'a accordé toutes facilités. La partie histologique a été réalisée à l'Institut Européen d'Ecologie ainsi que la phase finale de rédaction.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur STEPHAN qui a bien voulu présider ce jury et qui a permis la réalisation de ce travail en me permettant d'accomplir un Diplôme d'Etudes Supérieures.

Que Monsieur le Professeur PELT, à qui je me permets d'associer le Conseil Scientifique de l'U.E.R. d'Ecologie veuille bien trouver ici l'expression de ma gratitude pour la confiance qu'il a manifestée à mon égard en m'accueillant à l'Institut Européen d'Ecologie qu'il dirige. Je le remercie d'avoir accepté de juger mon travail.

Monsieur NOURISSON a bien voulu prendre sur son temps pour examiner mon manuscrit, je lui en suis reconnaissant et le remercie de participer à mon jury.

L'amitié de tous m'a été d'un grand réconfort et je tiens à remercier ceux qui m'ont aidé dans ma tâche.

Au MAROC :

. Monsieur BELEKBIR pour l'entretien des élevages et son aide pour les nombreuses inclusions réalisées.

. Mademoiselle ESPINASSE et Monsieur RENAUT qui ont pratiqué les recherches de contaminations bactériennes.

. Monsieur BERNARD pour son aide dans une partie de l'expérimentation.

. Monsieur VEILLAT qui m'a procuré les premiers cocons de *Bombyx*.

. Madame CHOUMARA de l'Institut Scientifique Chérifien pour les captures de moustiques.

. Monsieur BENNIS de la station I.N.R.A. de MEKNES qui m'a procuré les souches de punaises.

En FRANCE :

. Madame BEAUVAIS pour la confection des coupes histologiques.

. Madame FERAUD qui a eu la tâche ingrate de la dactylographie.

. Monsieur RIBETTE pour la réalisation de certains travaux graphiques et le tirage offset.

. Monsieur DUPIN qui a réalisé le tirage des planches photographiques.

Les échantillons d'Altosid et d'Altozar ont été gracieusement fournis par la firme ZOECON.

INTRODUCTION

Lorsqu'en 1956, Caroll WILLIAMS émit l'idée de combattre les insectes en intervenant dans leur mécanisme endocrinien, il était posé en préalable que l'hormone juvénile naturelle puisse servir de modèle à la synthèse de ce qu'elle appela plus tard (1966, 1967, 1969) "la troisième génération d'insecticides". Pourtant, ce n'est que six ans après l'identification du farnesol, (SCHMIALEK, 1961), alors que les connaissances étaient déjà avancées dans le domaine des analogues de l'hormone juvénile (HJA), que ROLLER et al, élucidaient la formule chimique du premier principe actif : JH_1 de l'hormone naturelle. Le second principe actif : JH_2 n'était identifié qu'en 1968, par MEYER et al.

Plus récemment et paradoxalement, ce sont des chercheurs de la firme Zoecon●, JUDY et al., qui isolent et décrivent une nouvelle hormone juvénile JH_3 en 1973, chez *Manduca sexta* et en 1975 à partir de corps allates in-vitro de *Tenebrio molitor*. TRAUTMANN et al. (1974) la retrouvent dans sept espèces appartenant à quatre ordres d'insectes. Synthétisée, elle est actuellement testée (ROUSSEL, 1975_1) tout comme un HJA (ROUSSEL, 1973).

Ce sont également des équipes de chercheurs de Zoecon qui tentent d'élucider pour certaines espèces, la biosynthèse de JH_1 et JH_2 (JENNINGS et al., 1975).

A - DU FARNESOL A L'ALTOZAR ET A L'ALTOSID ●●

L'identification du farnesol a entraîné dans un premier temps l'examen systématique des substances voisines (SCHMIALEK, 1963_2). Ce qui permit d'une part de découvrir des molécules encore plus efficaces avec d'abord le Farnésyl-méthyl-éther (SCHMIALEK, 1963_1 ; WIGGLESWORTH, 1963), d'autre part, de déterminer les groupements chimiques de ces molécules responsables de l'activité juvénilisante.

● Zoecon s'intéresse depuis plusieurs années aux régulateurs de croissance, en vue de leur commercialisation.

●● On trouvera en annexe bibliographique la liste des principaux ouvrages et articles de synthèse consacrés aux analogues de l'hormone juvénile.

Ces investigations servirent de tremplin à d'autres travaux qui aboutirent à la synthèse de corps encore plus actifs tels que :

- le composé de BOWERS (1965)
- le mélange chloré de LAW, YUAN et WILLIAMS (1966) considéré comme 1000 fois plus actif que l'huile de cecropia, laquelle n'est ni plus ni moins qu'un extrait (pas entièrement purifié, il est vrai) de l'hormone naturelle.
- le composé de ROMANUK, 1967, à partir du précédent.

Ce ne sont là que les premières étapes d'une "course à l'activité" qui permettait à NOVAK de rapporter qu'en 1971, l'Institut de chimie organique de Prague avait déjà synthétisé 500 HJA, dont certains étaient jusqu'à 10^5 fois plus forts que le farnesol● (SLAMA et al., 1969).

L'appellation "mimétique" de l'hormone juvénile employée jusqu'alors dut-elle être remplacée par celle d'"analogue" de l'hormone juvénile (BOWERS, 1971), les effets produits par ces corps et l'hormone étant qualitativement identiques mais quantitativement disproportionnés.

L'appellation "hormone juvénile synthétique" fut également à bannir (BERKOFF, 1970) dès lors que l'hormone elle-même put être synthétisée, entre autres, à partir du Farnesol (VAN TAMELEN et MAC CORMICK, 1970). Si la biosynthèse reste encore à préciser, certains auteurs proposent des méthodes permettant l'obtention de l'hormone par kilogrammes ! (FINDLAY, 1971).

La fabrication à grande échelle de produits ayant des effets juvénilisants ne semble plus poser de gros problèmes non plus. S'ils ne sont pas encore disponibles sur le marché, on ne le doit qu'à la conjoncture actuelle qui fait que, si l'utilisation d'insecticides conventionnels est toujours un des facteurs de pollution préoccupant, les responsables sont conscients du désastre écologique que pourrait entraîner une utilisation prématurée de cette troisième génération d'insecticides. En atten-

● SCHNEIDERMAN et GILBERT (1964) n'attribuent au Farnesol qu'environ 15 % de l'activité manifestée par l'huile de cecropia.

dant, les essais sont multipliés au laboratoire mais également sur le terrain, dans des aires bien délimitées (parcelles, mares, silos). Ils sont exécutés par les propres équipes de recherche des sociétés fabriquant les HJA ; celles-ci délivrent aussi gracieusement des échantillons à des chercheurs indépendants.

A l'heure actuelle, les firmes les plus avancées sont Hoffmann-Laroche, Stauffer Chemical Company et Zoecon Corporation● ; c'est cette dernière qui élabore les deux "régulateurs de croissance " (IGR)●● étudiés ici :

- Altozar : éthyl 3, 7, 11 - triméthyl - 2, 4 - dodécadiènoate, initialement désigné par ZR - 512.
- Altosid : isopropyl 11 - méthoxy - 3, 7, 11 - triméthyl 2, 4 dodécadiènoate, initialement désigné par ZR - 515.

Altozar et Altosid sont des marques déposées, ce qui laisse présager une commercialisation prochaine.

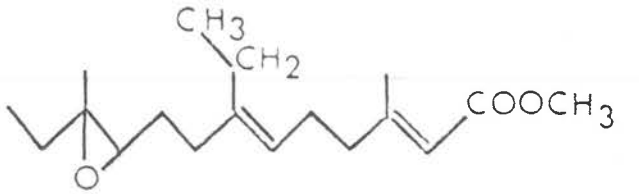
Ces produits sont liposolubles, et réputés très actifs, ainsi leur dilution tout en étant peu commode à réaliser, risquait-elle de faire atteindre aux traitements des prix assez prohibitifs. Aussi a-t-il été prévu de les mélanger à un agent permettant une émulsification relativement stable dans l'eau.

C'est donc en fait les composés Altozar 4 E (4 lbs/gal.) contenant 53 % d'altozar pur, et Altosid 5 E (5 lbs/gal.) contenant 65, 5 % d'altosid pur que j'ai testé. Ils le furent d'ailleurs plusieurs fois car j'ai pu m'en procurer à différentes reprises (voir chapitre I).

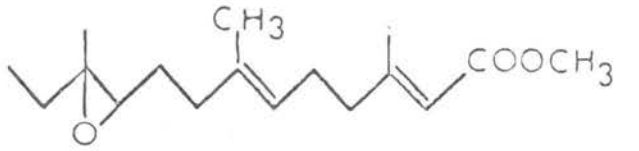
● Zoecon corp., 975 California avenue, Palo Alto, California 94 304, USA.

●● Insect growth regulators.

FORMULES CHIMIQUES DES PRINCIPALES SUBSTANCES CITEES



JH.1



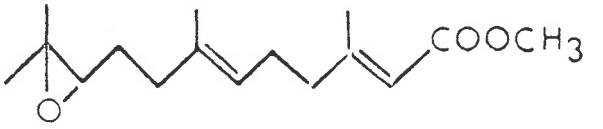
JH.2



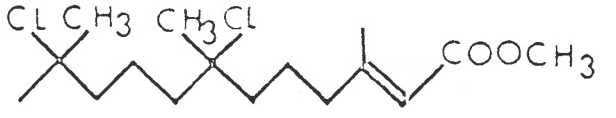
F.



F.M.E.



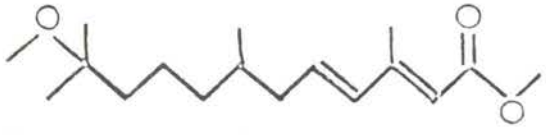
B.



R.



Altozar



Altosid

JH1 : Hormone de ROLLER et al. (1967), $C_{18}H_{30}O_3$.
Méthyl-10, 11-époxy-7-éthyl-3, 11-diméthyl-2, 6-tridécadiénoate

JH2 : Hormone de MEYER et al., (1968), $C_{17}H_{28}O_3$.
Méthyl-10, 11-époxy-3, 7, 11-triméthyl-2, 6-tridécadiénoate.

F : Farnesol, $C_{15}H_{28}O$,

FME : Farnesyl-méthyl-éther, $C_{16}H_{30}O$

B : Composé de BOWERS et al (1965), $C_{16}H_{26}O_3$
Méthyl-10, 11-époxyfarnesoate.

R : Composé de ROMANUK et al (1967), $C_{16}H_{28}O_2Cl_2$
7-11-Dihydrochlorométhylfarnesoate.

ALTOZAR : $C_{17}H_{30}O_2$ (Zoecon)Ethyl (2E,4E)-3,7,11-triméthyl-2,4-dodécadiénoate

ALTOSID : $C_{19}H_{34}O_3$,(Zoecon)
Isopropyl(2E,4E)-11-méthoxy-3,7,11-triméthyl-2,4-dodécadiénoate.

D'après PIHAN (1975).

B - TRAVAUX DEJA REALISES AVEC L'ALTOZAR ET L'ALTOSID

Ces deux substances, quoique récentes, ont déjà donné lieu à plusieurs travaux conduits souvent sur des insectes parasites ou ravageurs des cultures.

•METWALLY et al (1972) ont étudié l'action des différents HJA, parmi lesquels l'altozar, sur des larves, des pupes et des femelles adultes de *Trogoderma granarium*. L'activité de l'altozar sur les larves, pupes et adultes de *Heliothis armigera*, *Sitophilus zeamais* et *Ephestia cautella* a été abordée par BRANSBY-WILLIAMS (1972). L'altozar est également testé sur *Galleria mellonella* par REDDY et KRISHNAKUMARAN (1973), sur *Trogoderma granarium* et *Caryedon gonagra* par METWALLY et SEHNAL (1973), sur *Cydia pomonella* par GELBIC et SEHNAL (1973). GRANETT (1974) en étudie la toxicité sur les larves de *Porthetria dispar* ainsi que sur les parasites des oeufs et des larves de cette espèce (GRANETT et al.), 1975). ZR 512 a également été appliqué à la mouche des fruits : *Ceratitis capitata* (SHOUKRY et EL-DESSOUKI, 1974). Les effets-vapeurs de ce produit ont été examinés chez *Zootermopsis nevadensis* par WANYONYI (1974). RADWAN et SEHNAL (1974) provoquent l'inhibition de la métamorphose chez *Nauphoeta cinerea* lors du traitement par 18 HJA différents, parmi lesquels l'altozar. Des traitements topiques ont été réalisés sur des reines de fourmi (*Plagiolepsis pygmaea*) par PASSERA et SUZZONI (1974) ainsi que sur un hétéroptère aquatique : *Notonecta maculata* par CUZIN-ROUDY et SHRIHARI (1975). ABDEL-GAWAD (1976) recherche une corrélation entre les concentrations de ZR 777, ZR 520 et ZR 512 et le poids des larves et pupes de *Periplaneta americana*, *Galleria mellonella*, *Tenebrio molitor* et *Sarcophaga cergirostoma* qu'il traite. Ces mêmes HJA sont appliqués aux oeufs et aux larves de *Spodoptera littoralis* (ABDEL-GAWAD et al., 1974).
NOVAK et al. (1976) étudient l'activité de 31 HJA parmi lesquels l'altozar sur les diverses étapes de la vie de deux coléoptères : *Ips typographus* et *Hylobius abietis*. L'altozar est également testé par EL GAYAR (1976) sur des oeufs d'*Aphidoletes aphidimyza* et par EL TANTAWI et al (1976) sur l'oeuf de *Callosobruchus maculatus*.

Sur le terrain, NOVAK et SEHNAL (1973) ont utilisé l'altozar sur *Euproctis chrysorrhoea* et *Yponomeuta malinella*. Dans un des cas, une concentration dix fois moins forte que le meilleur insecticide convention nel s'avéra aussi active. Toujours en Tchécoslovaquie, des pulvérisations d'Altozar (273 g/ha) sur des parcelles de 100 à 300 m2 ont induit une mortalité de 96 % chez les quatrièmes stades larvaires de *Coleophora*

nella récoltés et élevés au laboratoire. Des doses 10 fois plus faibles entraînent encore 35 % de mortalité (SKUHRAVY, 1973). L'activité sur les pucerons est étudiée par LECLANT (1973), LECLANT et al. (1976), STAAL et al., 1973 (*Planococcus citri*), AHMED et al., 1975 (*Aphis sesp.*)

•L'altosid, quant à lui, est surtout essayé sur les Diptères. Les moustiques (SCHAEFER et WILDER, 1972, 1973 ; DUNN et STRONG, 1973 ; MULLA et al., 1974) ont un 4ème stade larvaire qui y est particulièrement sensible. L'effet escompté peut être diminué par l'action que le HJA exerce aussi chez les prédateurs de l'espèce-cible (STEELMAN et al., 1975). En France, des essais sont actuellement en cours sur les genres *Culex* et *Aedes* (in STOCKEL, 1975). NORLAND et MULLA (1975), après traitement à l'altosid, étudient l'impact sur les divers composants d'un écosystème aquatique, les résultats sont rapportés pour les espèces concernées, mais il n'est point fait de bilan écologique. Les Brachycères font également l'objet de travaux avec ZR 515, c'est le cas pour la mouche domestique (CERF et GEORGHIOU, 1972 ; BREEDEN et al, 1975), pour des parasites des cultures comme la mouche de l'olivier : *Dacus oleae* (FYTIZAS, 1975), la mouche des fruits, *Ceratitis capitata* (DAOUD et SEHNAL, 1974), des entomophages tels que *Palea provida* (RIVIERE, 1975), les mouches du bétail : *Stomoxys calcitrans* (WIGHT et al., 1973) et *Hypoderma sp.* (YOKLEY et al. 1975).

Les travaux sur les autres ordres d'insectes sont plus rares ; l'ingestion de l'altosid est étudiée par EDWARDS (1975) sur une fourmi *Monomorium pharaonis* ; RETNAKARAN (1975_2) induit par l'altosid la formation de larves surnuméraires chez *Choristoneura fumiferana* (lépidoptères) et et provoque (1974) des modifications de l'appareil reproducteur et des corps graisseux de *Pissodes strobi* (coléoptère).

RETNAKARAN (1974) observe le développement des ovaires et la résorption des corps graisseux de *Pissodes strobi* (coléoptère) après traitement par ZR 777, JH 25 et ZR 515. BOBOYE et CARMAN (1975) apportent l'inhibition de la métamorphose chez une cochenille : *Aonidiella aurantii*. Parmi 32 HJA, l'altosid se révèle le plus actif sur plusieurs lépidoptères noctuidés, l'action ovicide est abordée sur *Spodoptera littoralis* et *Mamestra brassicae* (SEHNAL et al. 1976). Des essais sont également entrepris en laboratoire par l'équipe de biologistes de l'Institut agronomique HASSAN II, à RABAT, prélude à des traitements dans la nature de *Porthetria dispar*.

• Altosid et altozar ont été également testés simultanément et leurs effets comparés

- par CUPP et O'NEAL, 1973 sur deux espèces de *Solenopsis* :

la métamorphose est bloquée, ce que confirment TROISI et RIDDIFORD (1974).

- par BULL et al. (1973) sur certains parasites du cotonnier ; s'ils obtiennent des effets prometteurs sur les Aphidiens, ils constatent un effet destructeur sur un "insecte utile" comme *Chrysopa*.

- par HENRICK et al. (1973), sur diverses espèces de Diptères, Lépidoptères, Hyménoptères, Homoptères et Hétéroptères.

- par KONTEV et al. (1974) sur des oeufs et des adultes d'*Eurygaster integriceps*.

- par MORENO et al. (1976) sur *Aonidiella aurantii*.

- par STOCKEL (s.p.) qui obtient des résultats décevants sur des parasites des denrées entreposées comme *Sitotroga cerealella* et *Sitophilus granarius*.

Le mode d'action de ces régulateurs de croissance est aussi recherché. ROUSSEL et PERRON (1974) attribuent à l'altosid et à l'altozar un pouvoir antiprothoracotrope après expérimentation sur *Schistocerca gregaria*. MILLER et COLLINS (1975) étudient les effets de l'altosid sur les synthèses de RNA chez la mouche domestique. SROKA et al. (1975) recherchent les modalités de l'action gonadotropique du ZR 512 et du ZR 515, injectés à des adultes de *Nauphoeta cinerea* ligaturés, et appliqués topiquement à des pupes allatectomisées de *Manduca sexta*. L'effet sur la concentration de l'hémolymphe en protéines et les conséquences apportées dans le développement des follicules par un traitement à l'altosid sont étudiés par MJENI et MORRISON (1976) chez *Phormia regina*. MILLER et al. (1975) mettent au point quant à eux, une méthode de chromatographie permettant de retrouver l'altosid dans l'eau, les sols, les plantes et les animaux.

C - LE POUVOIR OVICIDE DES ANALOGUES DE L'HORMONE JUVENILE ET L'ACTION DU FARNESOL SUR LES PONTES D' *GRYLLUS*

Si l'on en croit STAAL (1971), il est possible de prévoir presque tous les effets que l'on peut obtenir par application d'hormone pure, ou d'analogues, exception faite des effets sur l'embryogénèse. C'est là peut-être l'explication au nombre assez réduit de travaux étudiant le pouvoir ovicide des HJA.

En effet, et certains le déploreront avec ROUSSEL (1975_2), l'étude fondamentale a été depuis quelques années délaissée au profit d'une recherche directement en rapport avec la future utilisation de ces corps. Ainsi, à la lecture du paragraphe précédent, il apparaît qu'en ce qui concerne l'altozar et l'altosid, l'action sur les oeufs d'insectes n'a été abordée que par quelques équipes .

Pourtant des résultats précédemment obtenus avec d'autres corps paraissaient encourageants sur le plan de la recherche appliquée, BOWERS (1971) affirme même que le stade oeuf est un des plus sensibles aux effets léthaux des analogues de l'hormone juvénile.

La première observation d'effet ovicide d'un HJA date de 1966, lorsque SLAMA et WILLIAMS découvrent que des femelles de *Pyrrhocoris apterus* traitées à la juvabione pondent des oeufs qui n'éclosent pas ; ils appliquent alors ce produit directement sur les oeufs et obtiennent un résultat identique. L'extrait d'hormone juvénile : huile de cecropia testée à son tour sur *Hyalophora cecropia*, montre les mêmes propriétés (RIDDIFORD et WILLIAMS, 1967). Le champ des expériences s'élargit par la suite avec peut-être un peu plus d'importance pour les Hémiptères et les Lépidoptères, comme on pourra le voir dans le tableau suivant qui mentionne tous les travaux réalisés à ce jour avec les HJA sur les oeufs d'insectes.

THYSANOURES		
Thermobia domestica P.	MATOLIN et ROHDENDORF	1972
	ROHDENDORF et SEHNAL	1973
ORTHOPTERES		
Gryllus campestris L.	PIHAN et CROCHARD	1975
Gryllus bimaculatus DE GEER	CROCHARD	1974 et 1975
Schistocerca gregaria F.	NOVAK	1969
DERMAPTERES		
Labidura riparia	SHRIHARI et al.	1975
MALLOPHAGES		
Bovicola bovis L.	CHAMBERLAIN et al.	1973
ANOPLOURES		
Pediculus humanus L.	VINSON et WILLIAMS	1967
HETEROPTERES		
Rhodnius prolixus ST.	SLAMA et WILLIAMS	1966
	MASNER et al.	1968
	SLAMA et WILLIAMS	1966
Pyrrhocoris apterus L.	ENSLEE et RIDDIFORD	1970
	RIDDIFORD	1970
	MATOLIN	1970
Oncopeltus fasciatus D.	WILLIS et LAWRENCE	1970
	POLIVANOVA	1975
Eurygaster intergriceps PUT.		
	KONTEV et al.	1974
Dysdercus fasciatus SIGN.	WALL	1974
Lygaeus kalmii	HUNT et SHAPPIRIO	1973
HOMOPTERES		
Aeneolamia varia saccharina	FEWKES	1963
Trialeurodes vaporiarorum W.	WALKER et BOWERS	1970

COLEOPTERES		
Dermestes vulpinus F.	STAAL	1972
Epilachna varivestis M.	WALKER et BOWERS	1970 et 1973
	WALKER	1973
Lasioderma serricorne F.	WALKER et BOWERS	1970
Pissodes strobi PECK.	RETNAKARAN	1973,
Ips typographus L. / *Hylobius abietis* L.	NOVAK et al.	1976
Callosobruchus maculatus F.	EL TANTAWI et al.	1976
TRICHOPTERES		
Prodemia litura.....	BAGLEY et BAUERNFEIND	1972
LEPIDOPTERES		
Choristoneura fumiferana CLEM.	RETNAKARAN et GRISDALE	1970
	RETNAKARAN	1970 et 1975
Manduca sextra J. / *Platynota stultana* W.	WALKER et BOWERS	1970
Tineola biselliella H. / *Ephestia kuhniella* Z.	PEYER et VOGEL	1970
	BAGLEY et BAUERNFEIND	1972
Cydia pomonella L.	GELBIC et SEHNAL	1973
Hyalophora cecropia / *Antheraea pernyi* G.	RIDDIFORD et WILLIAMS	1967
Spodoptera littoralis.....	ABDEL-GAWAAD et al	1974
	SEHNAL et al.	1976
DIPTERES		
Hylemyia brassicae BOUCHE.....	VAN DE VEIRE et DE LOOF	1973
Drosophila melanogaster M.	ZAMBRE	1974
	SMITH et ARKING	1975
Musca domestica L.	BAGLEY et BAUERNFEIND	1972
Aedes aegypti L.	SPIELMAN et WILLIAMS	1966
Ceratitis capitata WIED.....	DAOUD et SEHNAL	1974
Aphidoletes aphidimyza	EL GAYAR	1976

Dans le cas particulier de l'oeuf de *Gryllus bimaculatus*, après avoir constaté que le Farnesol était actif, j'ai montré (CROCHARD, 1974) que son action dépendait d'au-moins deux facteurs :

- d'une part, de la concentration du produit
- d'autre part, du moment où il était appliqué sur l'oeuf.

En effet, dans les conditions expérimentales alors définies il s'est avéré que, passé un certain stade de développement, tout traitement devient inefficace. Cela survient à une époque variant avec la dose utilisée, d'autant plus tardive que cette dernière est importante. Dans le cas des dilutions les plus fortes, cela n'arrive jamais avant 3 jours 1/2 d'incubation à 35°C, c'est-à-dire avant que le 2ème mouvement de la blastokinèse (la catatrepsis) ne soit achevé. Le développement embryonnaire du grillon montre donc d'abord une phase de sensibilité puis d'insensibilité au farnesol.

Ce premier point est en accord avec les résultats déjà obtenus par divers auteurs avec les oeufs de plusieurs espèces d'insectes. La période de sensibilité varie de quelques heures (coléoptères) à plusieurs jours (hémiptères) mais prend fin avec la blastokinèse (STAAL, 1971).

Par ailleurs, il semble admis qu'au fur et à mesure que la bandelette embryonnaire se forme, l'oeuf devienne de moins en moins sensible aux HJA (RIDDIFORD et WILLIAMS, 1967).

Au contraire, j'ai pu montrer chez le grillon, qu'au sein de la phase de sensibilité au Farnesol, existait une période de sensibilité accrue se terminant juste avant la phase d'insensibilité et débutant, pour les doses les plus faibles, après 2 jours de développement à 35°.

Ce résultat original offre deux explications, cette période de plus grande sensibilité correspondant :

- d'une part, au moment où se produit la catatrepsis des embryons,

- d'autre part, au moment où l'oeuf voit ses dimensions augmenter de telle sorte que l'accroissement de volume engendré ait pu être évalué approximativement à 140 % ! Vraisemblablement dû à une absorption d'eau, ce phénomène pourrait correspondre à une augmentation de la perméabilité du chorion dont profiterait le farnesol pour pénétrer l'oeuf.

Le critère que j'ai retenu pour évaluer l'activité manifestée par le farnesol au cours des diverses manipulations, est le pourcentage d'éclosions constatées, quel qu'ait pu être le devenir des larves. WALKER et BOWERS (1970) considèrent comme non-écloses les larves qui meurent dans la journée. Il ne m'a pas paru bon de les suivre, car le séjour des larves dans l'étuve entre deux comptages, peut être une cause de mortalité larvaire qu'il est préférable de ne pas faire entrer en ligne de compte.

Au bout de l'étude quantitative réalisée, j'ai précisé les modalités de réalisation d'un "test grillon" d'activité ovicide d'un HJA, et défini l'unité "DI. L. 50 ovicide grillon", (CROCHARD, 1975 ; PIHAN et CROCHARD, 1975). L'intérêt principal de ce protocole est la simplicité, tant sur le plan de la réalisation que sur le plan de l'évaluation des résultats ou de celui de l'élevage du matériel vivant nécessaire. C'est pour cette raison également que l'unité ovicide proposée a trait à une dilution et non à une dose comme c'est le cas pour les tests existants.

Certains auteurs (NOVAK, 1969 ; MATOLIN et ROHDENDORF, 1972) préconisent l'emploi de barèmes : des points sont attribués suivant le degré de malformation des embryons non éclos. Ces barèmes servent à déterminer le degré d'activité ovicide manifesté par les HJA utilisés. Si je n'ai pas adopté une telle méthode, je n'en ai pas moins étudié les embryons atteints, tant du point de vue morphologique qu'histologique.

- Du point de vue morphologique : l'état des embryons non éclos est fonction des deux paramètres précédemment définis : dilution utilisée et moment de l'application. Quoi qu'il en soit, après application précoce de farnesol, le développement embryonnaire normal peut être arrêté :
  - soit pendant la formation de la bandelette
  - soit durant l'anatrepsis
  - soit au cours du stade IV (voir chapitre I)

- soit pendant la catatrepsis
- soit durant la morphogénèse.

A la suite de l'arrêt du processus normal de développement, se produit une évolution anormale aboutissant à la constitution d'embryons plus ou moins monstrueux.

Si la croissance est arrêtée, certains phénomènes morphogénétiques normaux se poursuivent, tels que la fermeture dorsale, la formation des yeux ; les appendices aussi se constituent mais ils deviennent difformes, de coloration brune à franchement noire.

Des anomalies sont constatées également dans le cas des embryon qui terminent néanmoins leur croissance et résorbent leur vitellus. Les atteintes des appendices peuvent être beaucoup plus légères et permettre l'éclosion dans quelques rares cas. Cependant, les larves qui naissent alors, meurent pour la raison suivante : une mue larvaire suit immédiatement la naissance, s'il se trouve un appendice atteint à quelque niveau que ce soit, la larve demeure prisonnière dans l'exuvie qui reste attachée au niveau de la malformation. Son évolution se poursuit, la cuticule se mélanise mais la larve meurt.

Des anomalies des appendices sont signalées par NOVAK (1969) après traitement des oeufs de *Schistocerca gregaria*, et par WALL (1974) chez *Dysdercus fasciatus*. Cependant, elles concernent essentiellement la taille et le nombre d'articles. Dans le cas du grillon, et comme on le retrouvera dans le chapître suivant, on arrive à produire des malformation beaucoup plus importantes : formation de cals ou de moignons noirs.

- L'étude histologique des embryons, entreprise après traitement des oeufs, par le farnesol dilué pour moitié dans l'huile d'olive, a montré que des anomalies cellulaires apparaissent dès les premières heures du développement, sous la forme d'augmentation du volume nucléaire de certaines cellules et par l'apparition de noyaux pycnotiques.

Lorsque l'évolution embryonnaire va jusqu'à la bandelette embryonnaire, celle-ci se révèle pluristratifiée, l'arrangement cellulaire est anarchique.

Les embryons ayant atteint le stade intravitellin montrent des pycnoses au niveau d'autres structures comme les ganglions nerveux.

Ceux qui ont réalisé la catatrepsis renferment des noyaux anormaux dans les divers tissus. L'ectoderme appendiculaire est pluristratifié et pycnotique, tandis que le mésoderme ne s'y différencie pas en muscle. Les zones pigmentées de ces appendices correspondent à l'expulsion de cellules nécrosées au contact desquelles la cuticule se tanne.

Une action est aussi décelée au niveau du tube digestif : les cellules endodermiques ne forment pas d'épithélium digestif, mais restent groupées en ilôts non fonctionnels.

Toutes ces observations résultent du traitement d'oeufs récemment pondus (depuis moins d'une heure), celles se rapportant à la constitution de l'épithélium digestif ont suggéré de traiter des embryons au moment de la constitution de ce tissu. Des résultats identiques ont été obtenus, même après l'emploi de dilutions plus fortes (au 1/8ème).

D - PRESENTATION DU TRAVAIL ACTUEL

Il s'agit tout d'abord de tester l'activité ovicide de deux nouveaux produits sur les oeufs de grillon, de façon à comparer leur effets, entre eux d'une part, et vis-à-vis des résultats obtenus avec le farnesol d'autre part.

+ La comparaison doit être d'abord quantitative. A ce propos seront recherchées les "DI. L. 50 ovicide grillon" pour l'altosid et pour l'altozar. (Dilution léthale pour 50 % des embryons).

+ Du point de vue qualitatif, plusieurs aspects sont à étudier :
- rechercher s'il existe, comme pour le farnesol, une période de plus grande sensibilité à ces deux produits.
- comparer les malformations produites chez les embryons avec celles déjà constatées.
- examiner si les anomalies histologiques sont toujours du même ordre.

Dans un deuxième temps est entreprise une étude identique sur une autre espèce d'insecte dont le critère de choix est qu'elle montre un type de développement embryonnaire différent. En effet celui du grillon est endoblastique, et nous avons vu que la période de plus grande sensibilité coïncidait avec la catatrepsis. Il est intéressant de voir si une telle période existe lorsqu'on traite des oeufs ne subissant pas de blastokinèse, c'est-à-dire des oeufs à développement embryonnaire ectoblastique. C'est pour cette raison et après certains tâtonnements qu'a été retenu *Ephestia kuehniella* (Lépidoptère).

Il m'a paru intéressant de tester par ailleurs l'altosid et l'altozar sur des oeufs de quelques autres espèces d'insectes afin de comparer les activités manifestées avec celles constatées chez *Gryllus* et *Ephestia*. Ainsi, quelques essais ont été entrepris sur des pontes :
- de *Culex pipiens*
- de *Graphosoma semipunctata* et d'*Aelia cognata*
- de *Bombyx mori*
- de *Tenebrio molitor*

CHAPITRE I :

EXPERIMENTATION SUR LES OEUFS DE

Gryllus bimaculatus

I

Matériel et techniques utilisés

Les techniques utilisées pour cette première partie sont celles employées lors de l'étude du pouvoir ovicide du farnesol. Elles ne seront que brièvement rappelées.

A - METHODE D'ELEVAGE

1°) Conduite de l'élevage

A la température du laboratoire, adultes et larves sont séparés dans des cages de 50 x 50 x 40 cm vitrées sur 3 faces latérales, à demi grillagées sur la 4ème, pourvues d'une ouverture à tirette grillagée sur la face supérieure. Le fond, métallique, est percé au centre pour installation d'une ampoule à filament de carbone. Une claie de bois occupe la partie médiane, ménageant autant de refuges qu'elle possède d'alvéoles. L'aire de ponte est constituée d'un cristallisoir rempli de sable humide, (80 mm de diamètre x 45 mm de hauteur), inclus dans un socle de plâtre qui joue le rôle de rampe d'accès. Sur l'espace restant est déposée la nourriture : feuilles de salade, rondelles de carotte, farine et son.

L'incubation des oeufs, qui se fait en étuve, (35° C et saturation en eau) dure environ une semaine. Les jeunes larves ne séjournent pas dans l'étuve, elles sont d'abord élevées dans des boîtes de matière plastique à petites ouvertures pour l'aération, puis lorsque leur taille est suffisante, elles sont transférées dans une grande cage. Les adultes auxquels elles donneront naissance seront prélevés et iront rejoindre dans une cage définitive, les adultes formés auparavant.

2°) Prélèvement des pontes

Au moment désiré pour l'obtention d'oeufs, un cristallisoir dit "d'essai" est substitué au cristallisoir en place. Il est rempli de sable humide, préalablement stérilisé et tamisé. Une heure plus tard, le cristallisoir d'essai est retiré, son contenu est à nouveau tamisé au travers d'une maille légèrement plus grosse, que l'on agite en la faisant tremper dans un récipient plein d'eau. Au bout de cette opération qui ne dure guère plus que deux minutes, seuls sont retenus les oeufs. Récupérés au pinceau après un léger rinçage, ils sont séchés avec du papier filtre avant de servir à l'expérience.

B - METHODE EXPERIMENTALE

1°) Utilisation des produits

Maintenus à l'abri de la lumière et en flacons bien bouchés, altosid et altozar sont stockés au réfrigérateur. Pour les raisons que l'on verra au sous/chapitre III, les dilutions sont faites au moment de l'emploi et ne sont pas conservées.

2°) Mode d'application des produits

Les oeufs sont traités par immersion dans la dilution choisie. Après cinq minutes, ils sont prélevés au pinceau, comptés et disposés dans des "boites d'incubation". Ces récipients, pourvus d'un couvercle grillagé, sont garnis de coton hydrophyle gorgé d'eau à la surface duquel est disposé du papier filtre en un ou plusieurs morceaux, selon l'utilisation prévue pour les oeufs qui y sont déposés. Tout le matériel est passé 30 minutes aux ultra-violets avant emploi.

3°) Incubation et lecture des résultats

Tout comme pour les témoins, l'incubation des oeufs traités se fait en étuve à 35°C et en atmosphère saturée en eau.

Les éclosions se produisent normalement entre 6 j. 18 h. au plus tôt et 8 jours au plus tard ; après traitement, on constate toujours un retard ; aussi les comptages sont-ils poursuivis jusqu'au neuvième jour d'incubation.

L'expérience a montré que les oeufs non éclos après neuf jours n'écloront jamais.

4°) Techniques histologiques

La fixation est faite au BOUIN alcoolique, le chorion étant légèrement perforé pour faciliter la pénétration du fixateur. Suivant l'âge des embryons et afin de ne pas les léser, la piqûre doit être pratiquée en des points différents.

- si l'embryon est âgé de moins de 35 heures, il faut piquer l'oeuf selon son grand axe, au pôle antérieur.
- s'il est âgé de 35 à 68 h. : piquer transversalement au milieu de la face ventrale.
- s'il est âgé de 68 à 96 h. : piquer au pôle antérieur selon le grand axe, mais faire une 2ème piqûre entre les cerques.
- après 96 h. : faire une piqûre entre les cerques et une seconde au pôle antérieur.

Un bain de 24 heures dans l'alcool à 80° succède à 24 heures de séjour dans le fixateur ; durant ce laps de temps est pratiqué le déchorionnage des oeufs. Cette opération assez délicate est nécessaire, que les oeufs soient destinés au montage in-toto ou à l'histologie.

Les coupes histologiques ont une épaisseur de 5 µ. Les colorations sont faites à l'hémalun de MASSON et à l'éosine.

II

Les principales étapes du développement embryonnaire normal

J'ai proposé (CROCHARD, 1974) une table du développement de *Gryllus bimaculatus* à 35° C, où je distinguais six stades comportant des sous-divisions, dont on peut retenir :

. Au cours d'une première période, désignée par stade I, et s'étendant sur 20 heures, se forme le blastoderme, puis la bandelette embryonnaire.

. Le stade II correspond à l'observation de la bandelette sur des montages in-toto, rendue possible après la gastrulation et l'épaississement des feuillets primordiaux.

. Le stade III correspond à l'anatrepsis qui se déroule entre 26 et 38 heures.

. Le stade IV est marqué par l'enfoncement de l'embryon au sein du vitellus. Les ébauches d'appendices thoraciques et céphaliques apparaissent, ainsi que le labre. C'est durant ce stade que débute le gonflement de l'oeuf résultant d'une augmentation du diamètre à laquelle se joint peu après, une augmentation de la longueur. La fin de cette période coïncide avec l'apparition des cerques.

. Le stade V représente la catatrepsis . Elle ne dure que deux heures et consiste en un retournement qui ramène l'embryon dans son orientation primitive à l'intérieur de l'oeuf.

. Le stade VI correspond à la morphogénèse. Au début, l'embryon ne représente que la moitié du volume de l'oeuf et la fermeture dorsale n'est accomplie qu'au niveau des 3 derniers segments abdominaux, elle va progresser vers l'avant pour atteindre la base de la tête à 90 h. et être totale à 96 h.

Durant ces premières étapes le mésoderme des pattes donne naissance à la musculature appendiculaire. Les ganglions nerveux se sépa-

rent de leur ectoderme d'origine. Les yeux apparaissent et se colorent.

Par la suite, on assiste, extérieurement, à la croissance des pattes et à l'apparition des soies. Une mue embryonnaire se prépare dès 124 heures d'incubation. C'est à partir de ce moment que se met en place l'endoderme, les initiales se multiplient activement et vers 156 heures, (6 jours et demi) le mésentéron antérieur est bien différencié. Les cellules sont caliciformes dans la partie antérieure, cubiques dans la partie postérieure ; les cellules de la partie intermédiaire envoient des prolongements cytoplasmiques vers la lumière du tube. La digestion des réserves qui occupent encore la partie médiane du tube digestif se fait dorénavant par ce nouveau tissu contre lequel viennent se disposer les vitellophages.

III

Etude expérimentale du pouvoir ovicide

Dans une première partie sont présentés les résultats obtenus quand les oeufs sont traités au plus tard une heure après avoir été pondus. Les traitements des oeufs à divers moments du développement embryonnaire font l'objet d'une seconde partie.

A - TRAITEMENT D'OEUFS AGES DE MOINS D'UNE HEURE

1°) Taux d'éclosion des témoins

Le pourcentage de mortalité constaté parmi les oeufs incubés sans aucun traitement préalable est de 10 %. Il est identique à celui constaté dans l'étude antérieure (CROCHARD, 1974). Indépendamment du nombre d'oeufs non viables au départ, il n'est pas exclu que la technique de récupération des pontes soit à incriminer. Cependant, un taux d'éclosion témoin de 90 % me semble plaider en faveur de cette technique car il n'est pas prouvé que les pourcentages obtenus dans la nature soient de beaucoup supérieurs.

2°) Action de l'altosid

a) étude quantitative :

J'ai pu obtenir de l'altosid à trois reprises :

- en octobre 1974
- en avril 1975
- fin juin 1975

Pour simplifier l'exposé, ces arrivages seront désignés respectivement par I_1, I_2, I_3.

I_1 et I_2 provenaient vraisemblablement d'une même préparation car leurs flacons portaient les mentions manuscrites : "FZ 515138" et "date : 21 jan. 74". Sur le flacon de I_3, la date portée était le 3/7/75.

Ces trois échantillons ont été testés peu après que je me les sois procurés, sur les oeufs de grillon âgés de moins d'une heure ; I_3 a été réutilisé en octobre 1975.

Le but de cette première série de manipulation est de déterminer la "DI. L. 50 ovicide Grillon". Pour cela est d'abord évalué le pouvoir ovicide de dilutions préparées selon un système logarithmique de base 10. Les pourcentages d'éclosion indiquent quelle nouvelle gamme de dilution doit être élaborée.

Le tableau I page 25 regroupe les résultats obtenus pour I_1, I_2, et I_3. Les pourcentages d'éclosion ont permis de tracer les courbes de la figure I page 26.

ECHANTILLON	DILUTION	NOMBRE D'OEUFS DE L'ESSAI	NOMBRE D'ECLOSIONS	TAUX D'ECLOSION
I_1	1/10.000	100	78	78
	1/9.000	300	190	63,5
	1/7.000	263	139	**52,8**
	1/6.000	150	31	20,6
	1/5.000	200	6	3
I_2	1/100.000	145	130	89,7
	1/50.000	261	223	85,4
	1/30.000	189	148	78,3
	1/20.000	207	137	66,2
	1/15.000	284	141	**49,6**
	1/12.500	152	54	35,5
	1/10.000	150	30	20
	1/5.000	220	3	1,4
I_3	1/1.000.000	136	118	86,8
	1/500.000	75	63	84
	1/100.000	150	93	**62**
	1/50.000	186	57	**30,6**
	1/30.000	120	16	13,3
	1/20.000	100	2	2
	1/15.000	200	0	0

TABLEAU I : RESULTATS OBTENUS APRES TRAITEMENT D'OEUFS AGES DE MOINS D'UNE HEURE PAR DIVERSES DILUTIONS DES TROIS ECHANTILLONS D'ALTOSID.

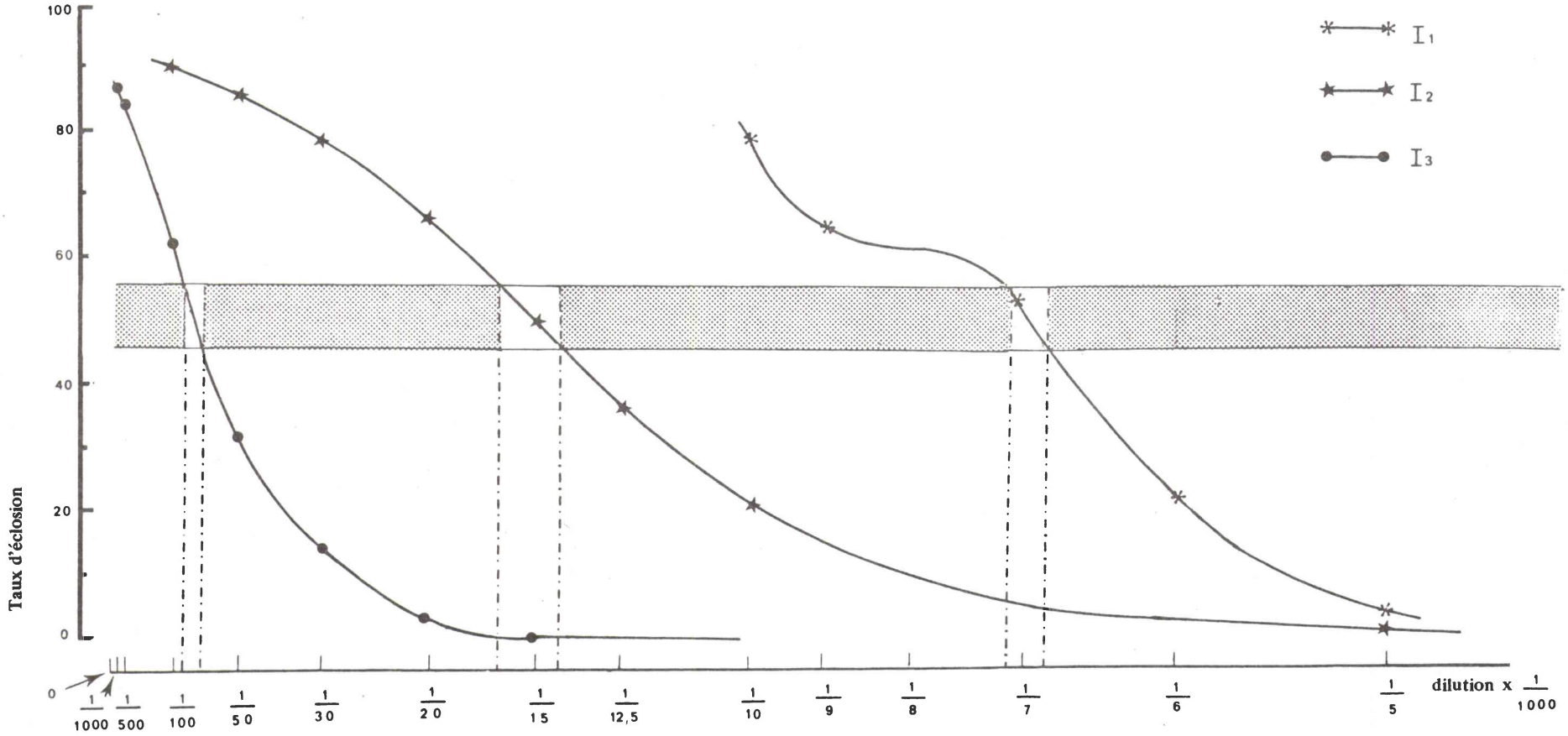


Figure 1 : Variation des éclosions avec la dilution des échantillons d'altosid

I_1 et I_2 sont deux échantillons fabriqués (ou conditionnés) le même jour, qui présentent non pas une DI. L. 50 ovicide Grillon commune, mais chacun la leur. La DI. L. 50 ovicide Grillon de I_3 est quant à elle, différente de celles trouvées pour I_1 et I_2. Les conditions de stockage et de transport sont certainement responsables des différences d'activité ainsi mises en évidence.

Il n'y a pas lieu de s'étonner outre mesure, les HJA n'ont jamais été présentés comme des molécules stables.

D'ores et déjà, il est à retenir qu'il ne saurait être question d'évaluer le pouvoir ovicide de telle ou telle substance, dans l'absolu. Le test ne peut se rapporter qu'à un échantillon défini et à un instant donné.

Les DI. L. 50 ovicide Grillon manifestées sont :

- pour I_1 la dilution au 1/7.000ème
- pour I_2 la dilution au 1/15.000ème
- pour I_3 très approximativement, celle au 1/80.000ème.

Je n'ai pu obtenir pour I_3 de résultats plus précis, car le flacon m'est arrivé en juillet. Lorsqu'en octobre suivant, j'ai voulu affiner la détermination de la DI. L. 50 en procédant avec une gamme de dilutions comprises entre le 1/100.000 ème et le 1/50.000 ème, j'ai été surpris de constater que tous les taux d'éclosions étaient nettement supérieurs à ceux auxquels je m'attendais. Fin octobre, début novembre 1975, I_3 se retrouvait avec une activité identique à celle d'I_2, étudiée en avril. I_3 avait pourtant été conservé tout l'été au réfrigérateur et à l'obscurité. Il serait intéressant de pouvoir expérimenter avec un échantillon, très peu après sa fabrication et de suivre ensuite la perte d'activité dans des conditions de stockage définies ne serait-ce que pour améliorer ces dernières, s'il y a lieu.

Par ailleurs, il serait utile de pouvoir chiffrer la part d'activité qui revient à l'altosid et celle pouvant être attribuée à l'émulsifiant qui lui est adjoint. La nature de ce dernier n'est pas précisée par le fabricant, il est désigné tout simplement par "Inert ingrédients".

b) Etude qualitative

α) Influence sur la durée du développement embryonnaire

D'une façon générale pour I_1, I_2 et I_3, et comme cela avait été constaté avec le farnesol, le traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure, induit un retard des éclosions (si éclosions il y a) par rapport aux témoins. J'ai déterminé (CROCHARD, 1974) que ces derniers éclosent, pour 54, 1 % des cas avant 7 jours révolus d'incubation, et pour 45, 9 % entre 7 et 8 jours d'incubation. Le tableau II page 29 rapporte quelques unes des observations faites pour les échantillons d'altosid. Les pourcentages d'éclosions sont calculés par rapport au nombre des naissances constatées (et qui figurent dans le tableau I page 25) ; ils peuvent être transcrits sous forme de diagramme (voir figure 2 page 30).

On peut déduire que, en ce qui concerne I_1 et I_2, plus la dilution est forte, plus les éclosions s'échelonnent dans le temps, avec toutefois un maximum entre 7 et 8 jours.

I_3 montre de très forts pourcentages d'éclosion pour cette même période quelle que soit la dilution incriminée, inférieure toutefois au 1/100.000 ème.

Echantillon	Dilution	Eclosions	Oeufs éclos avant 7 jours		Oeufs éclos entre 7 et 8 jours		Oeufs éclos après 8 jours	
			N	%	N	%	N	%
I_1	1/10.000	78	16	20,5	59	75,6	3	3,8
	1/7.000	139	7	5	124	89,3	8	5,7
	1/5.000	6	0	0	6	100	0	0
I_2	1/50.000	223	51	22,9	110	49,3	62	27,8
	1/15.000	141	2	1,4	114	80,8	25	17,7
	1/10.000	30	0	0	26	86,7	4	13,3
I_3	1/500.000	63	0	0	58	92	5	8
	1/100.000	93	0	0	85	91,4	8	8,6
	1/50.000	57	0	0	49	86	8	14

TABLEAU II

ECLOSIONS EN FONCTION DU TEMPS

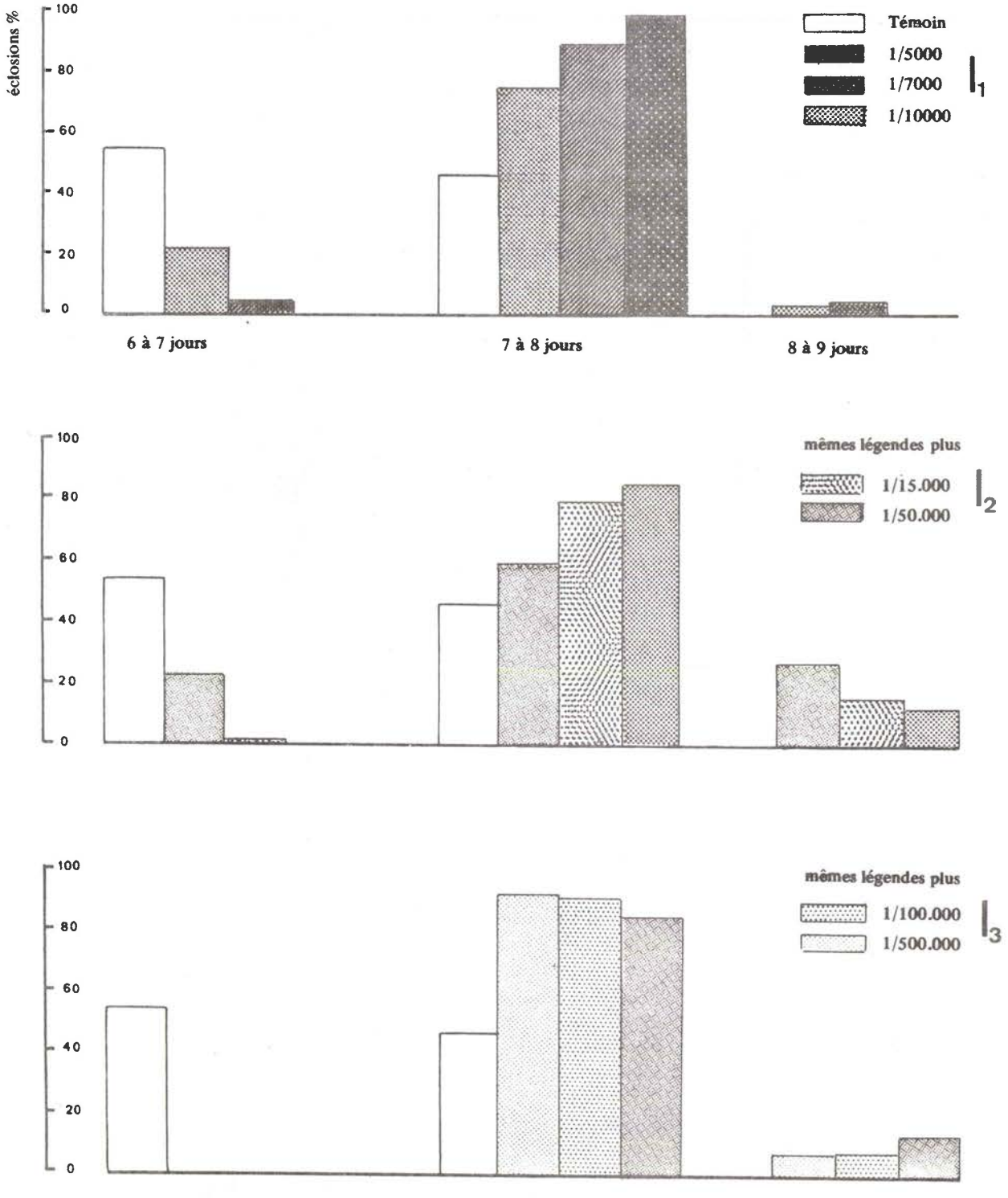


Figure 2 : Taux des éclosions en fonction du temps

β) Examen des oeufs non éclos

L'action de l'altosid est à rapprocher de celle du farnesol en ce sens que, d'une part elle arrête le cours du développement embryonnaire normal et que, par ailleurs, elle induit des malformations des appendices. Ceci s'observe lorsqu'on utilise des doses fortes. Avec des dilutions plus grandes, le développement peut s'achever, mais des malformations apparaissent tout de même ; elles sont moins importantes, mais suffisantes pour que l'éclosion n'ait pas lieu, ou bien que la larve naisse mais reste emprisonnée dans sa première exuvie comme cela a déjà été évoqué précédemment (page 14).

En ce qui concerne l'arrêt du développement embryonnaire, il existe une différence très importante avec le farnesol. Mises à part de très rares exceptions, on n'observe jamais d'arrêt avant l'achévement de la catatrepsis. Ceci est vérifié même après application d'altosid pur. L'analyse des lots d'oeufs non éclos fait l'objet du tableau III page 33. Quel que soit l'échantillon, il apparaît nettement qu'au fur et à mesure que l'on s'adresse à des dilutions plus grandes, on retrouve moins d'embryons dont le développement s'est arrêté peu après la catatrepsis, que d'embryons entièrement formés. Pour les dilutions les plus fortes, cela est encore vérifié tandis que le nombre d'oeufs embryonnés décroit jusqu'à s'annuler. (cf. fig. 7 page 69)

Des embryons peuvent être bloqués au cours de la morphogénèse ; ils occupent un volume compris entre la moitié et la totalité de celui de l'oeuf. Il pourrait s'avérer embarrassant de les ranger dans une classe plutôt que dans l'autre. Aussi n'ont été classés dans la catégorie "bloqués à la fin de la morphogénèse", que les embryons occupant plus des 3/4 du volume de l'oeuf.

Lorsque la taille de l'embryon n'a pas atteint son maximum, et donc que le cours du développement a été arrêté précocément, on constate que certains processus se poursuivent néanmoins, quelquefois jusqu'à

leur terme.

Ainsi, la fermeture dorsale progresse toujours, même si le développement est arrêté immédiatement après la catatrepsis. L'oeuf présente alors une moitié jaunâtre qui est le vitellus non résorbé et une moitié blanchâtre : l'embryon. Il est à rappeler que la fermeture dorsale est accomplie entièrement lorsque l'embryon témoin est âgé de 96 heures. Ici la fermeture n'est pas entière, elle atteint la base dorsale de la tête, état que les témoins montrent dès l'âge de 90 heures. Le plus souvent, cette fermeture est suivie d'une pigmentation des tergites thoraciques.

Les yeux composés sont toujours observés, leur pigmentation varie avec l'avancement de l'état général de l'embryon.

Les sujets bloqués tôt, ont des yeux orange vif, quelquefois rouges ; ceux qui sont allés plus avant dans leur développement, montrent une coloration plus sombre.

Les mandibules montrent toujours au moins un début de chitinisation.

Les pattes poursuivent également leur évolution mais celle-ci se détourne rapidement de son cours normal. Plus l'embryon a été bloqué tôt, plus sévères sont les malformations appendiculaires. Arrêté peu après la catatrepsis, il montre des pattes boudinées dont les articles sont courts et plissotés. Les plis apparaissent de couleur plus sombre. Les antennes sont également atteintes de même que les palpes, présentant une coloration sombre avec raccourcissement des articles et des plicatures de la cuticule. En ce qui concerne les antennes, celles-ci sont formées d'un faible nombre d'articles.

Lorsqu'on observe la gamme des individus malformés, on est tenté d'attribuer des sensibilités différentes aux appendices. Les sujets très fortement atteints, le sont au niveau de tous les appendices, céphaliques (essentiellement palpes et antennes) thoraciques et abdominaux. Les sujets moins éprouvés conservent quelques cals sur les pattes et présentent des cerques légèrement anormaux, tant du point de vue de leur pilosité que de leur forme ; cependant, les appendices céphaliques sont toujours aussi difformes. Les embryons les moins touchés montrent encore des antennes anormales dont,quelquefois, seuls les articles basaux sont malformés.

ECHANTILLONS	DILUTION	Oeufs non éclos		Embryons bloqués avant la catatrepsis		Embryons bloqués peu après la catatrepsis		Embryons bloqués à la fin de la morphogénèse	
		N	% PAR RAPPORT AU NOMBRE D'OEUFS DE L'ESSAI	n	$\frac{100n}{N}$	n'	$\frac{100n'}{N}$	n"	$\frac{100n"}{N}$
I_1	1/1	100	100	15	15	85	85	0	0
	1/500	117	100	9	7,7	108	92,3	0	0
	1/2.000	121	100	15	12,4	106	87,6	0	0
	1/5.000	194	97	22	11,3	155	79,9	17	8,8
	1/7.000	124	47,2	35	28,2	14	11,3	75	60,5
	1/10.000	22	22	10	45,5	2	9	10	45,5
I_2	1/5.000	217	98,6	31	14,3	186	85,7	0	0
	1/10.000	120	80	19	15,8	25	20,8	76	63,3
	1/15.000	143	50,4	37	25,8	21	14,7	85	59,4
	1/50.000	38	14,6	30	78,9	0	0	8	21,1
I_3	1/15.000	200	100	24	12	176	87	10	5
	1/50.000	129	69,4	21	16,3	56	43,4	52	40,3
	1/100.000	57	38	16	28,1	10	17,5	31	54,4
	1/500.000	12	16	8	66,7	1	8,3	3	25
Mémoire témoin		x	$0 < \% < 15$	y	100	0	0	0	0

N, n, n', n" sont des abréviations pour "nombre"

TABLEAU III

EXAMEN DES EMBRYONS APRES TRAITEMENT D'OEUFS AGES DE MOINS D'UNE HEURE PAR DIVERSES DILUTIONS DES TROIS ECHANTILLONS D' ALTOSID.

LÉGENDE DE LA PLANCHE 1

Observation après huit jours d'incubation, d'embryons formés à la suit du traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure par l'altosid au 1/12.500ème (I_2).

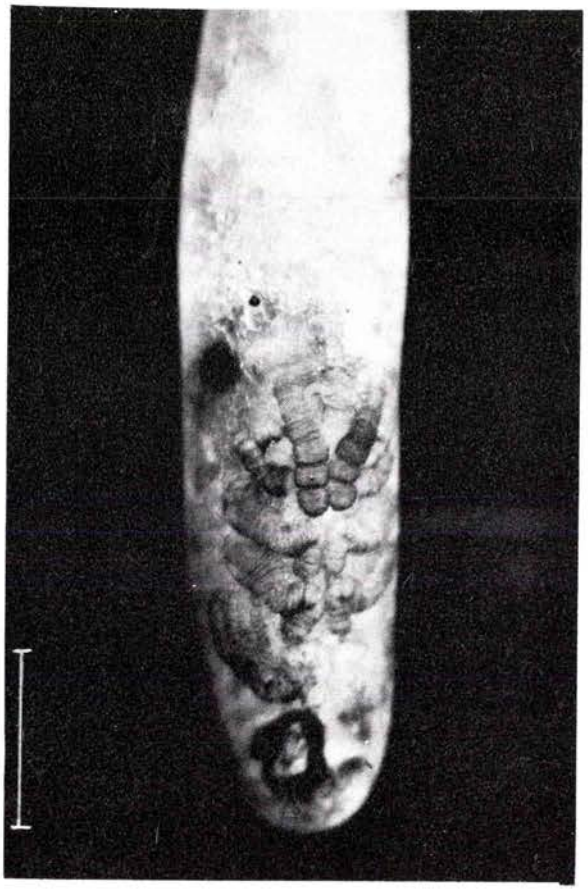
a : Vue ventrale, l'embryon ne remplit que la moitié du volume de l'oeuf (blocage après le stade V). La morphogénèse s'est néanmoins poursuivie au moins pour l'oeil que l'on aperçoit pigmenté, ainsi que pour les mandibules qui ont subi un début de chitinisation (voir c).

b : Le même spécimen en vue dorsale montre que la fermeture dorsale est accomplie jusqu'à la base de la tête. (ce qui, chez les témoins, est réalisé lorsque l'embryon occupe pratiquement tout l'intérieur de l'oeuf). Les tergites thoraciques ont une pigmentation noire qui n'apparaît, normalement, qu'à la fin de la morphogénèse.

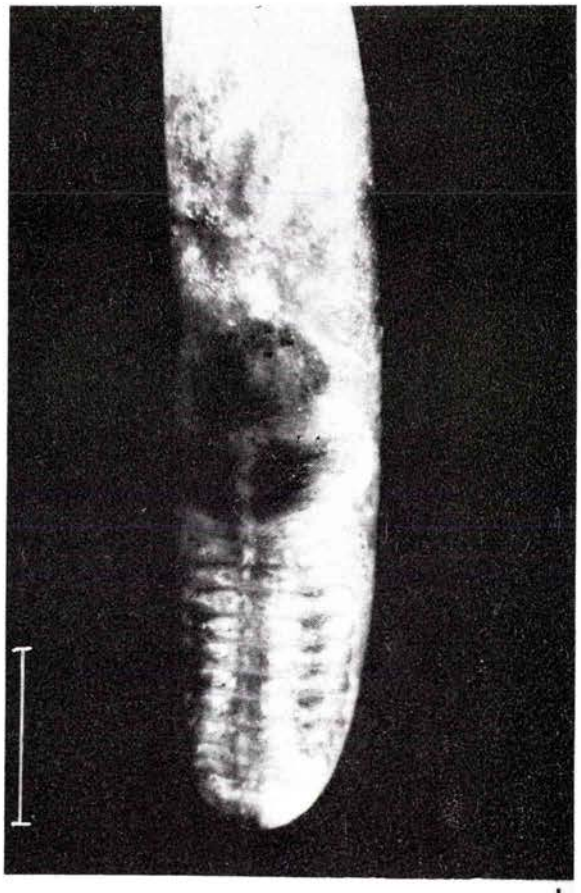
c : Agrandissement d'une vue ventrale du même individu destinée à montrer l'aspect des appendices et en particulier des antennes, formées d'un nombre réduit d'articles, plissotés et pigmentés. La flêche indique la partie chitinisée de la mandibule.

d : Vue ventrale d'un autre sujet dont on peut apprécier l'état de malformation des pattes, la taille des articles est inhabituelle, le tarse n'est pas formé. On aperçoit la pilosité réduite des cerques.

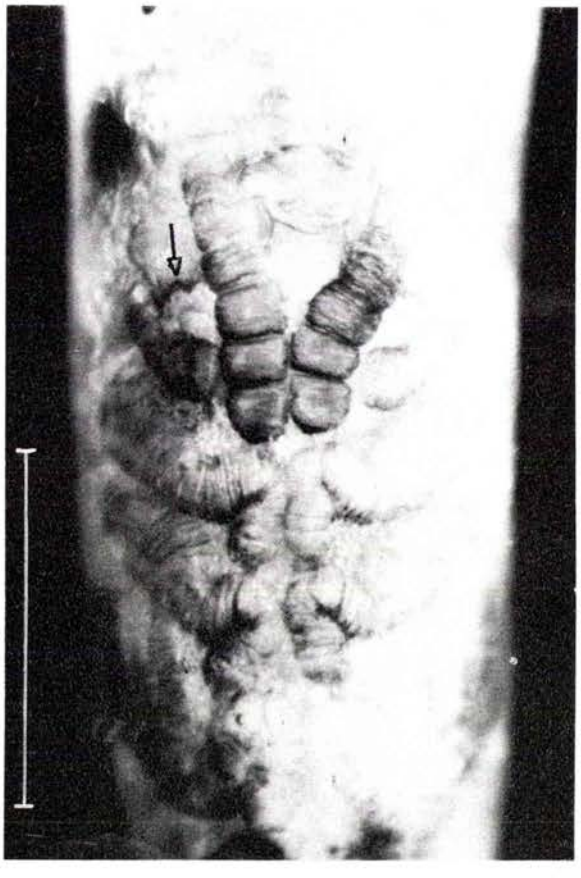
Le tiret représente un demi-millimètre.



a



b



c



d

LÉGENDE DE LA PLANCHE 2

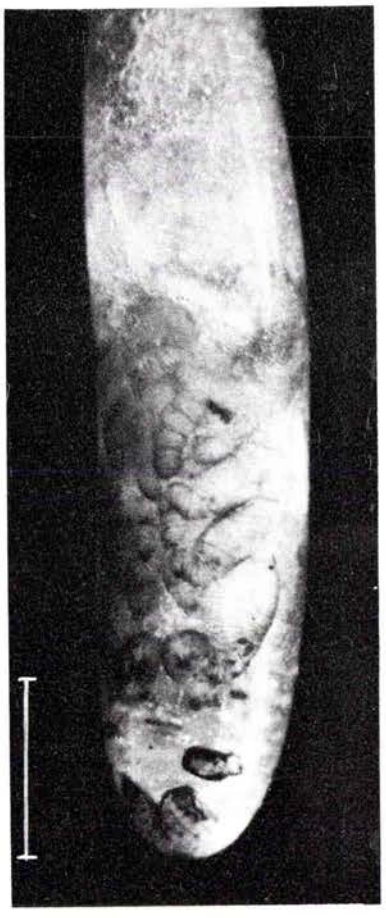
Observation après 8 jours d'incubation, des embryons formés à la suite du traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure par l'altosid (I_2)

a - b - c : Divers degrés de malformation présentés à la suite d'un traitement au 1/12.500ème. De la série formée par ces trois sujets, il ressort que, si dans le cas (a) tous les appendices sont touchés, les sujets moins atteints montrent des malformations surtout localisées au niveau des appendices céphaliques (b). Les antennes réagissent le plus, ce qui apparaît en (c), puisque elles seules montrent des malformations importantes quand tous les autres appendices ne sont pas, ou légèrement atteints.

d : Ces oeufs avaient été immergés dans de l'altosid au 1/15.000ème. L'individu de gauche, très éprouvé, ressemble aux exemples déjà vus, les trois autres ont terminé leur morphogénèse et montrent des malformations des antennes, quelquefois circonscrites aux articles basaux. La taille des antennes est plus grande que précédemment. Comparer l'aspect normal des cerques avec les photos a et b.

e : Deux larves mortes empêtrées dans leur première exuvie. Leur pigmentation est réalisée. Les oeufs, dont elles sont issues, avaient été traités par I_2 au 1/30.000ème.

Le tiret représente un demi-millimètre.



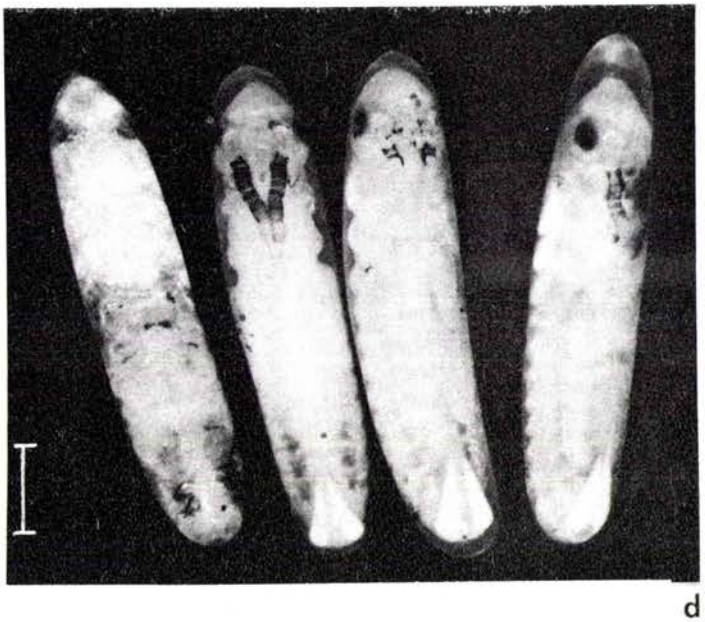
a



b



c



d



e

γ) Etude histologique

Elle a été entreprise avec le premier échantillon d'altosid reçu. Il est vraisemblable que I_2 et I_3, tout en provoquant des réponses quantitativement différentes, agissent de la même manière.

La dilution utilisée est le 1/500ème. C'est une dilution ovicide à 100 % avec laquelle il est permis de penser que toutes les structures embryonnaires cibles sont affectées.

Il résulte en effet de cette étude histologique que le IUA agit à plusieurs niveaux.

- action sur le système nerveux (voir planches 3 et 4)

C'est sur des embryons âgés de près de 3 jours que l'on commence à déceler cette action. Dans les ganglions nerveux en train de se former apparaissent des noyaux d'aspect inhabituel : taille plus grande que la normale et contenu nucléaire condensé en sphérule très colorable. Il est important de noter que cette observation est possible dès les premières étapes de la constitution des ganglions (68 heures). Tout au long de celle-ci, tandis que les neuropiles prennent de l'importance, le nombre des noyaux à apparence pycnotique augmente. Des coupes transversales révèlent que leur répartition est relativement ordonnée, puisqu'ils sont surtout abondants dans les parties ventrales et latérales du cortex ganglionnaire. Il est cependant à considérer que la région dorsale de ce cortex est d'épaisseur beaucoup plus faible, donc formée d'un nombre moindre de cellules...

Dans la tête, les ganglions cérébroïdes ont au contraire, un cortex dorsal plus épais et c'est dans cette région que l'on dénombre le plus de noyaux pycnotiques.

Des coupes longitudinales confirment par ailleurs que la chaîne nerveuse est atteinte sur toute sa longueur, depuis les ganglions cérébroïdes jusqu'à l'extrémité abdominale.

Ce phénomène se développe jusqu'à l'âge de 4 jours. Par la suite, curieusement, le nombre de noyaux en dégénérescence décroit et l'on n'en rencontre plus sur des coupes faites à l'âge de 105 heures. De tels noyaux sont aussi rencontrés chez les témoins mais d'une part en nombre incomparablement plus faible, d'autre part ils n'apparaissent que vers 4 jours et disparaissent rapidement (planche 16, b). La morphogénèse s'ac-

compagne fréquemment des deux phénomènes : histolyse et histogénèse. La disparition de ces noyaux dans les ganglions d'embryons traités ne signifie pas que ceux-ci retrouvent un aspect identique à celui que présentent les ganglions de témoins. Chez les traités, le cortex a une apparence beaucoup moins homogène et si la section reste de contour tout à fait reconnaissable, le tissu nerveux a une allure de tissu dissocié. Certaines cellules restent bien groupées, mais ces groupements sont séparés les uns des autres. Par endroit on rencontre même des cellules qui paraissent complètement isolées.

Il semble donc que se soit produit, à la suite de l'apparition des cellules malades, un phénomène de régulation qui a abouti à la disparition de ces éléments. Ceci aurait entraîné un déficit cellulaire traduit par l'aspect dissocié du tissu. Chez les témoins, l'apparition momentanée de noyaux pycnotiques rendrait implicite l'existence du même mécanisme régulateur, mais il se trouve que la présence de ces noyaux précède de peu la mise en place d'une couche cellulaire autour des neuropiles. Cette couche se constitue également dans les ganglions d'embryons traités. Est-ce le processus de cette mise en place qui entraîne la disparition de tous les noyaux nécrosés (comme chez les témoins), ou bien s'agit-il d'un phénomène distinct du mécanisme régulateur évoqué plus haut, qui serait concomitant ?

L'aspect d'ensemble de la chaîne nerveuse telle qu'elle apparaît sur des sections sagittales pratiquées plus tard, à l'âge de 6 jours, se révèle lui aussi différent des témoins. En effet, chez ces derniers, avec l'élaboration des filets nerveux, les ganglions s'espacent, et cela dès l'âge de 5 jours (planche 16, e), pour être à l'âge de 6 jours bien séparés, reliés entre eux par des nerfs bien formés.

Chez les embryons traités, les seuls filets nerveux constitués sont ceux reliant les ganglions thoraciques, entre eux d'une part, et aux ganglions sous-oesophagiens et abdominaux I d'autre part.

Toute la partie abdominale de la chaîne n'est marquée que par des constrictions inter-ganglionnaires qui deviennent de moins en moins nettes au fur et à mesure que l'on se rapproche de l'extrémité abdominale. C'est là l'état ultime d'évolution atteint par la chaîne nerveuse des embryons traités à l'âge de moins d'une heure par l'altosid au 1/500ème.

- Action sur les appendices (voir planches 5 et 6)

C'est à partir de l'âge de 3 jours que l'on trouve, dans l'ectoderme des appendices, des cellules anormalement claires et qui se distinguent également des cellules voisines par leur plus grande taille. Leurs noyaux sont aussi beaucoup plus gros et beaucoup plus colorables. Sur des coupes d'embryons âgés de 75 heures, on peut voir que la cuticule qui se forme est, au-dessus de ces cellules ectodermiques anormales, plus épaisse et plus pigmentée que sur le reste du corps. Par la suite, ces zones de cuticule s'épaississent, deviennent de plus en plus étendues, se plissotent et leur pigmentation s'intensifie.

Mises à part quelques plages rencontrées sur l'abdomen, cette action sur le tégument est essentiellement localisée aux appendices, et parmi ceux-ci, ce sont les pattes et les antennes qui sont les plus touchées. Les tarses sont indivis et les antennes ne sont formées que d'un nombre réduit d'articles. En coupe, on constate que ce sont les articles terminaux de ces appendices qui sont revêtus de la cuticule la plus épaisse et la plus pigmentée. Lors de la préparation de la mue embryonnaire (à partir de l'âge de 125 heures), la cuticule atteinte tend également à se soulever. Cela bien que par ailleurs, la structure interne des appendices soit tout à fait rudimentaire, surtout en ce qui concerne le mésoderme. Avec la dilution d'altosid utilisée, le mésoderme ne se différencie jamais en muscle dans les appendices. Les cellules ectodermiques anormales sont encore observables dans les sujets fixés le plus tard. A l'inverse de ce qui ressort de l'étude de l'action au niveau du système nerveux, aucun processus régulateur ne semble exister pour le tégument.

- Action au niveau du tube digestif (voir planches 7 et 8)

Seule la portion terminale du tube digestif (le proctodéum) semble être insensible au traitement par l'altosid. Les autres parties sont atteintes à des degrès divers.

. Stomodéum : aucune malformation histologique n'y est constatée tout au long du temps d'incubation. Cependant, si l'on considère l'orientation de cette partie antérieure du tube digestif, ainsi que celle de la valvule cardiaque sur des coupes de sujets âgés, une différence importante existe par rapport aux témoins. Il ne s'agit pas d'une déviation du stomodéum au cours de sa constitution ; ce dernier conserve simplement sa

direction initiale dorso - ventrale acquise à la fin de la catatrepsis. Dans la suite du développement, quand les témoins résorbent le vitellus, le stomodéum se coude au niveau de la tête, la partie antérieure conservant son orientation, la partie située après le coude devenant longitudinale et s'allongeant vers l'arrière. Ce qui fait que la valvule cardiaque est, à l'éclosion, pratiquement dans l'axe du corps, au niveau du métathorax.

L'orientation définitivement dorso-ventrale du stomodéum des sujets traités s'avère directement liée au fait que ceux-ci ne résorbent pas leur vitellus. On ne peut mettre en cause un arrêt de la différenciation dans cette partie du tube digestif car le tissu ectodermique qui la constitue présente, surtout entre le 3ème et le 4ème jour d'incubation, un grand nombre de cellules en division (planche 7, a). Des coupes effectuées à l'âge de 5 jours et demi (planche 7, d) semblent montrer que la longueur du tube stomodéal est telle que ce dernier se replie de côté. Par ailleurs, il ne peut pas non plus être retenu que puisse se produire une action spécifique à cet ectoderme invaginé qui constitue le stomodéum car le proctodéum, formé de même manière, n'est absolument pas concerné par le traitement, tant du point de vue de son orientation que de sa structure cellulaire (planche 7, c).

. Voisinage de la valvule cardiaque : Au cours du développement normal, la résorption du vitellus s'accompagne de la destruction des cellules de la séreuse et du chorion qui assuraient sa contention à l'avant de l'embryon. Si, chez le criquet migrateur, ce processus débute avec l'accomplissement de la catatrepsis (PETAVY, 1976), je n'ai pu l'observer chez le grillon qu'une fois la fermeture dorsale accomplie soit à l'âge de quatre jours, et jusqu'à l'âge de cinq jours et demi (planche 17, d et f). A l'intérieur du mésentéron et au voisinage de la valvule, on dénombre plusieurs noyaux en état de dégénérescence. Des coupes effectuées à l'âge de 6 jours ne révèlent plus ces éléments, vraisemblablement phagocytés par les vitellophages que l'on trouve dans cette région, plus ou moins plaqués contre la paroi du mésentéron.

Chez les embryons traités, aucune accumulation de noyaux nécrosés n'est visible dans la zone en question. Les cellules du chorion et de la séreuse conservent leur fonction d'enveloppe du vitellus. La destruction de ces cellules ne serait donc pas programmée dans le temps mais serait une

conséquence de leur ingestion, consécutive à la résorption du vitellus.

. Le mésentéron : C'est à partir de l'âge de 5 jours que débute la mise en place de l'endoderme. Sa constitution, chez les embryons traités, paraît, au début, tout à fait normale, mais à partir de 6 jours et 6 heures de développement, certaines zones deviennent anormalement denses. Ces zones vont s'étendre et à l'âge de 7 jours, c'est tout le mésentéron qui en est tapissé. Chez les témoins, il existe une région où l'endoderme est tout aussi épais mais elle est limitée à la partie la plus antérieure du mésentéron et aux deux coeca qu'elle produit. Dans tout le reste de l'intestin moyen, le tissu a une épaisseur plus faible et un aspect bien moins homogène, composé d'une couche de petites cellules, par endroit agglomérées. en pyramides dirigées vers la lumière du tube.

- Actions diverses

. Les muscles : Si le mésoderme des pattes n'évolue pas en muscles, la musculature du corps, elle, commence à se former dès l'âge de 3 jours mais, comme la croissance de l'embryon est bloquée, elle reste assez rudimentaire.

. Les oenocytes : Ils apparaissent normalement peu après l'âge de 5 jours, leurs noyaux s'altèrent rapidement pour avoir un aspect pycnotique sur des coupes pratiquées après 6 jours de développement (planche 7, f, et planche 8, e).

LÉGENDE DE LA PLANCHE 3

Histologie de jeunes embryons de grillons formés après traitements d'oeufs âgés de moins d'une heure par l'altosid au 1/500ème.

a : Coupe transversale d'une bandelette âgée de 36 heures, montrant des figures mitotiques (métaphase et anaphase).

b : Coupe transversale du thorax à l'âge de 54 heures, montrant la formation des cellules nerveuses primitives (flèche). La constitution des pattes apparaît sur les deux sections circulaires qui sont des coupes transversales.

c : Coupe transversale de la partie médio-ventrale du thorax au même âge, la flèche noire désigne une cellule nerveuse initiale, la flèche blanche, une cellule ectodermique en division (anaphase).

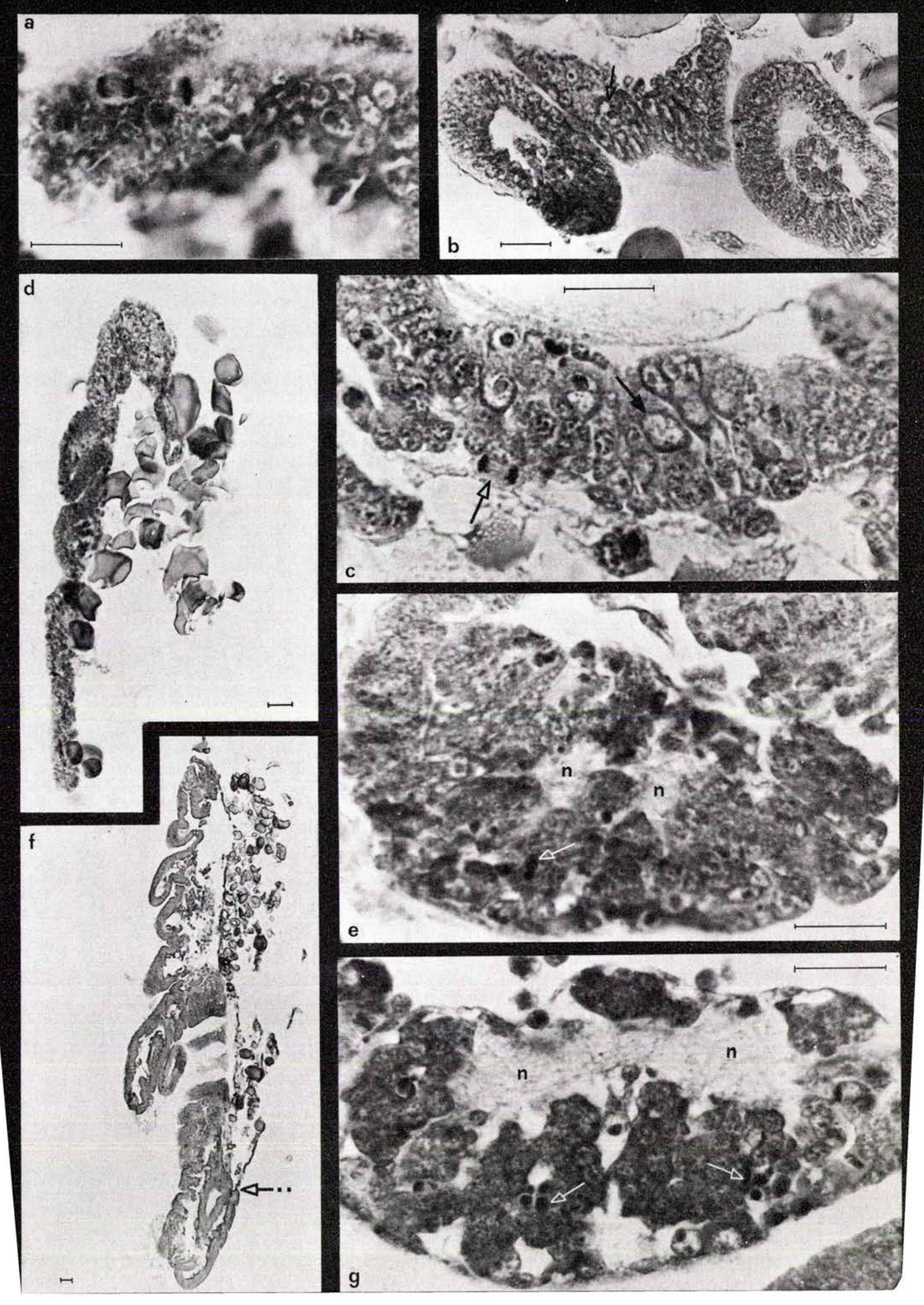
d : Coupe parasagittale de la totalité de l'embryon au même âge.

e : Coupe transversale d'un ganglion nerveux thoracique à l'âge de 68 heures, les neuropiles sont bien visibles (n) On rencontre des noyaux pycnotiques dans le cortex (flèche).

f : Coupe parasagittale de la totalité de l'embryon à l'âge de 72 heures. La flèche situe le niveau de la fermeture dorsale.

g : Coupe transversale d'un ganglion nerveux thoracique à l'âge de 72 heures. Le neuropile (n) prend de l'importance, on retrouve des noyaux pycnotiques corticaux (flèches).

Le tiret représente 20 μ.


a
b
c
d
e
n
n
f
g
n
n

LEGENDE DE LA PLANCHE 4

Histologie du système nerveux d'embryons de grillon formés après traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure par l'altosid au 1/500ème.

a : Coupe parasagittale du ganglion cérébroïde à l'âge de 72 heures. Son cortex est également parsemé de noyaux pycnotiques.

b : Coupe transversale de l'abdomen postérieur à l'âge de 75 heures, on note l'abondance des noyaux pycnotiques du cortex ganglionnaire.

c : Coupe parasagittale de l'abdomen à l'âge de 87 heures (3 jours et 15 heures). Le cortex ganglionnaire est parsemé de noyaux en dégénérescence.

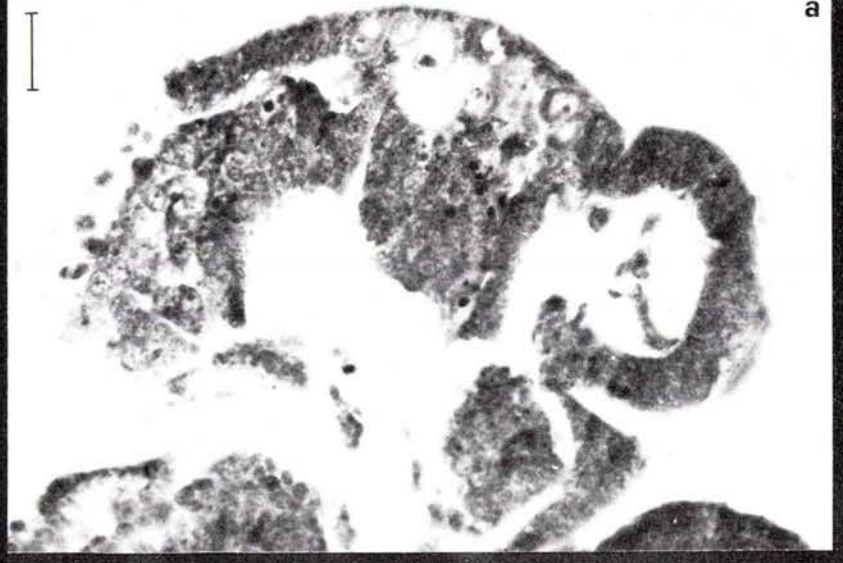
d : Coupe transversale de l'abdomen postérieur au même âge. Le système nerveux est fortement atteint.

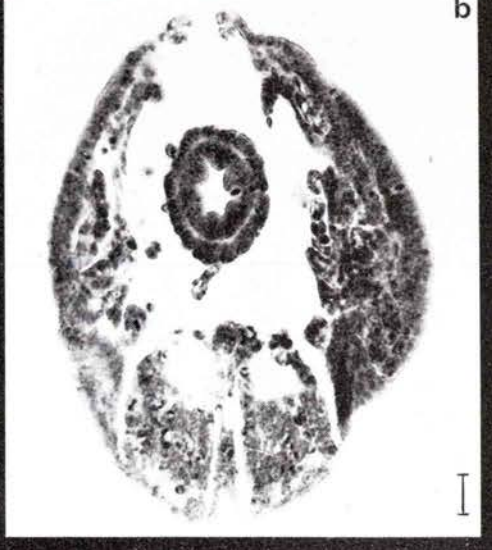
e : Coupe transversale d'un ganglion thoracique à l'âge de 105 heures (4 jours et 9 heures). Le cortex ne montre plus de noyaux nécrosés, il semble être confronté à un déficit cellulaire qui lui confère un aspect dissocié.

f : Coupe frontale de la chaîne nerveuse au même âge, on retrouve l'aspect dissocié du cortex ganglionnaire.

g : Coupe parasagittale entière d'un embryon âgé de 150 heures (6 jours et 6 heures), les derniers ganglions nerveux sont mal individualisés et on ne rencontre pas de contriction entre les neuropiles : pas de formation des filets nerveux de la chaîne abdominale.

Le tiret représente 20 µ.


a


b


c


d


e


f


g

LEGENDE DE LA PLANCHE 5

Histologie des malformations présentées par des embryons de grillons formés après traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure par l'altosid au 1/500 ème.

a : Coupe parasagittale d'une patte à l'âge de 68 heures. Aucune malformation n'est encore décelée.

b : Coupe longitudinale de P_3 à l'âge de 72 heures. On peut observer la formation des articles, bien séparés, mais encore petits à aspect tassé. Le tarse est encore indivis. Les cellules ectodermiques de la partie terminale (flèche) sont ici anormalement claires.

c : Coupe longitudinale partielle de l'abdomen à l'âge de 75 heures La flèche indique une des premières malformations cuticulaires rencontrées. La cuticule a été entraînée à la coupe, en-deçà des cellules ectodermiques qui apparaissent plus claires.

d : Coupe de patte au même âge. La cuticule (grosse flèche) est épaissie et très pigmentée au-dessus des cellules ectodermiques claires, pourvues de noyaux de grande taille, colorés (petite flèche).

e : Coupe longitudinale de P_2 à l'âge de 84 heures (3 jours et demi Les plaques de cuticule anormale sont plus nombreuses.

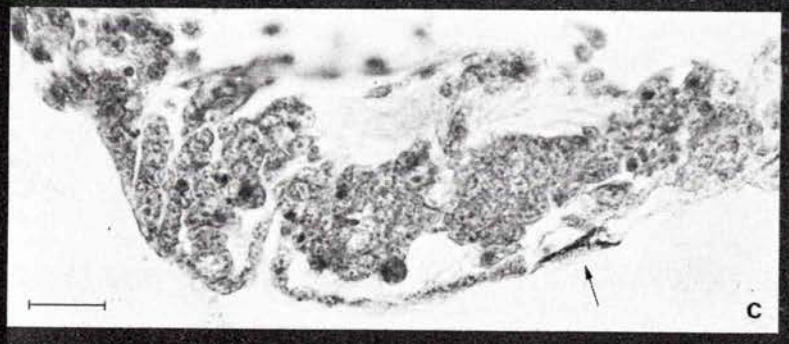
f : Coupe transversale partielle de P_1 au même âge. On retrouve la disposition observée en "d" : plaques de cuticule sombre surmontant des cellules épidermiques claires, à gros noyau coloré.

g : Coupe transversale entière d'un embryon de 87 heures (3 jours et 15 heures). La section de patte à gauche du cliché montre une forte atteinte, la cuticule anormale forme une excroissance. La section de ganglion nerveux est parsemée d'un grand nombre de noyaux pycnotiques, à coloration foncée, et que l'on peut voir surtout localisés dans la région ventrale de la section.

Le tiret représente 20 μ

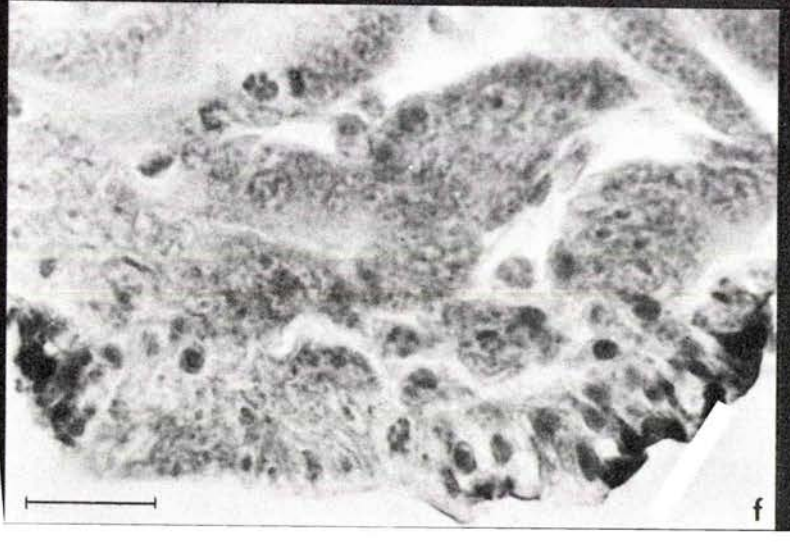

a

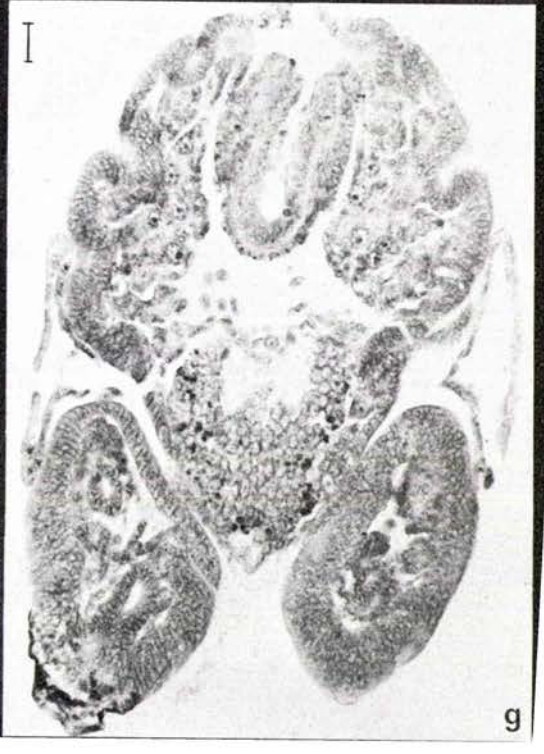

b


c


d


e


f


g

LEGENDE DE LA PLANCHE 6

Histologie des malformations présentées par des embryons de grillons formés après traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure par l'altosid au 1/500 ème.

a : Coupe longitudinale d'une patte à l'âge de 84 heures. Ici l'atteinte est localisée à l'extrémité du tarse.

b : Coupe transversale d'une patte à l'âge de 105 heures (4 jours et 9 heures) montrant la progression de la malformation cuticulaire.

c : Coupe frontale oblique de la tête au même âge. La flèche indique la section longitudinale de l'antenne gauche. Celle-ci est formée d'un nombre réduit d'articles anormalement tassés.

d : Coupe longitudinale de la région ventrale du thorax et des pattes à l'âge de 111 heures (4 jours et 15 heures). Les sternites abdominaux ont une cuticule saine tandis que la patte est très atteinte.

e : Coupe transversale d'une patte à l'âge de 120 heures (5 jours)

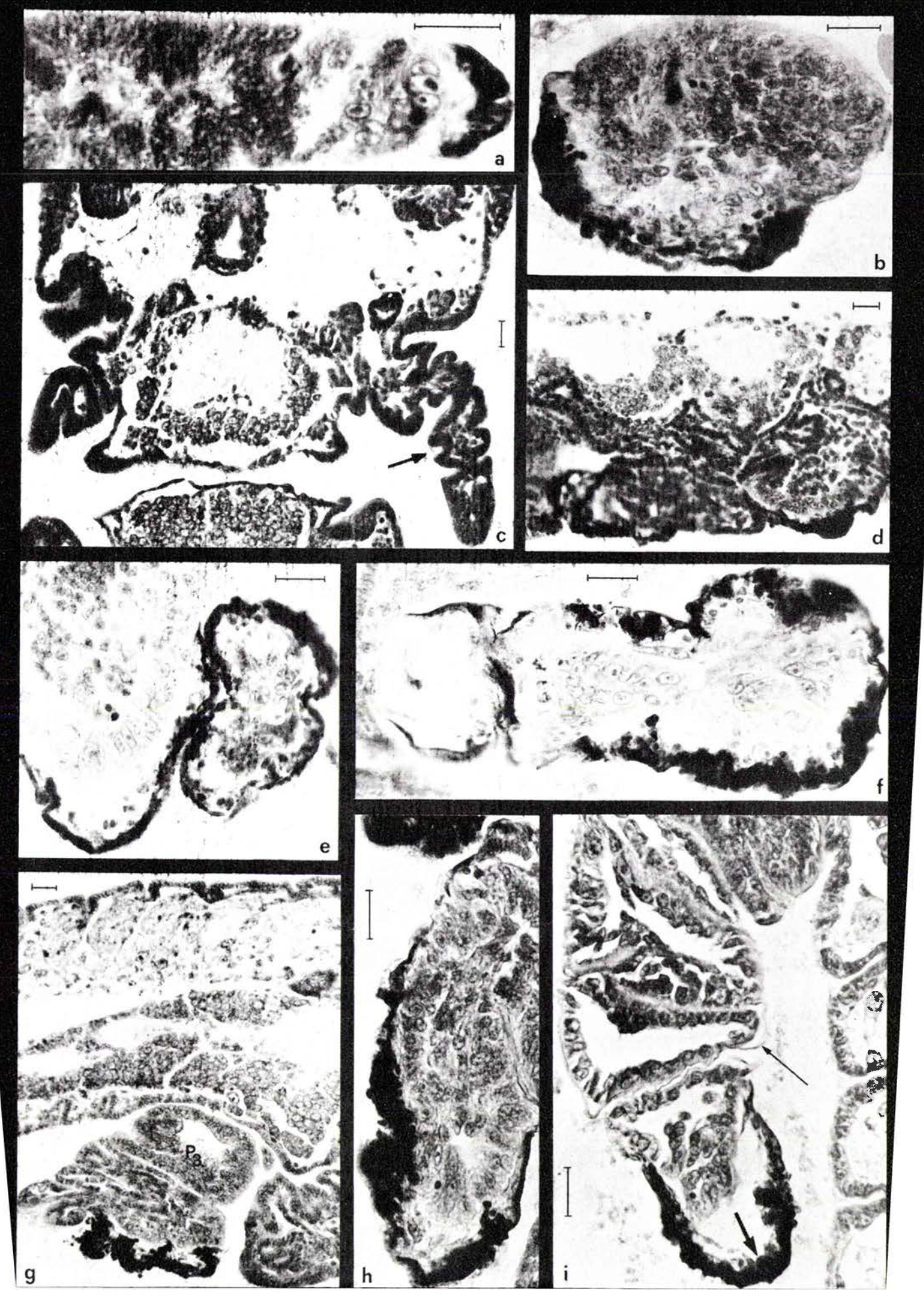
f : Coupe longitudinale d'une patte au même âge.

g : Coupe parasagittale de la partie antérieure de l'abdomen à l'âge de 126 heures. (P_3 : coupe longitudinale de P_3)

h : Coupe longitudinale de P_2 à l'âge de 144 heures (6 jours)

i : Coupe longitudinale de P_3 à l'âge de 150 heures. (6 jours et 6 heures). La cuticule se décolle de l'hypoderme tant dans les régions saines (petite flèche) que dans les régions malformées (grosse flèche).

Le tiret représente 20 μ


a
b
c
d
e
f
g
h
i
Pa

LEGENDE DE LA PLANCHE 7

Histologie d'embryons de grillon formés après traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure par l'altosid au 1/500 ème.

a : Coupe sagittale de la partie antérieure d'un sujet âgé de 78 heures (3 jours et 6 heures) montrant l'orientation du stomodéum, dorso-ventrale alors que chez les témoins, elle est antéro-postérieure. A ce stade, la valvule cardiaque n'est pas encore ouverte, on peut voir de nombreuses figures de mitose à son voisinage (flèches).

b : Coupe transversale du mésentéron après 5 jours de développement. La mise en place de l'endoderme est en cours.

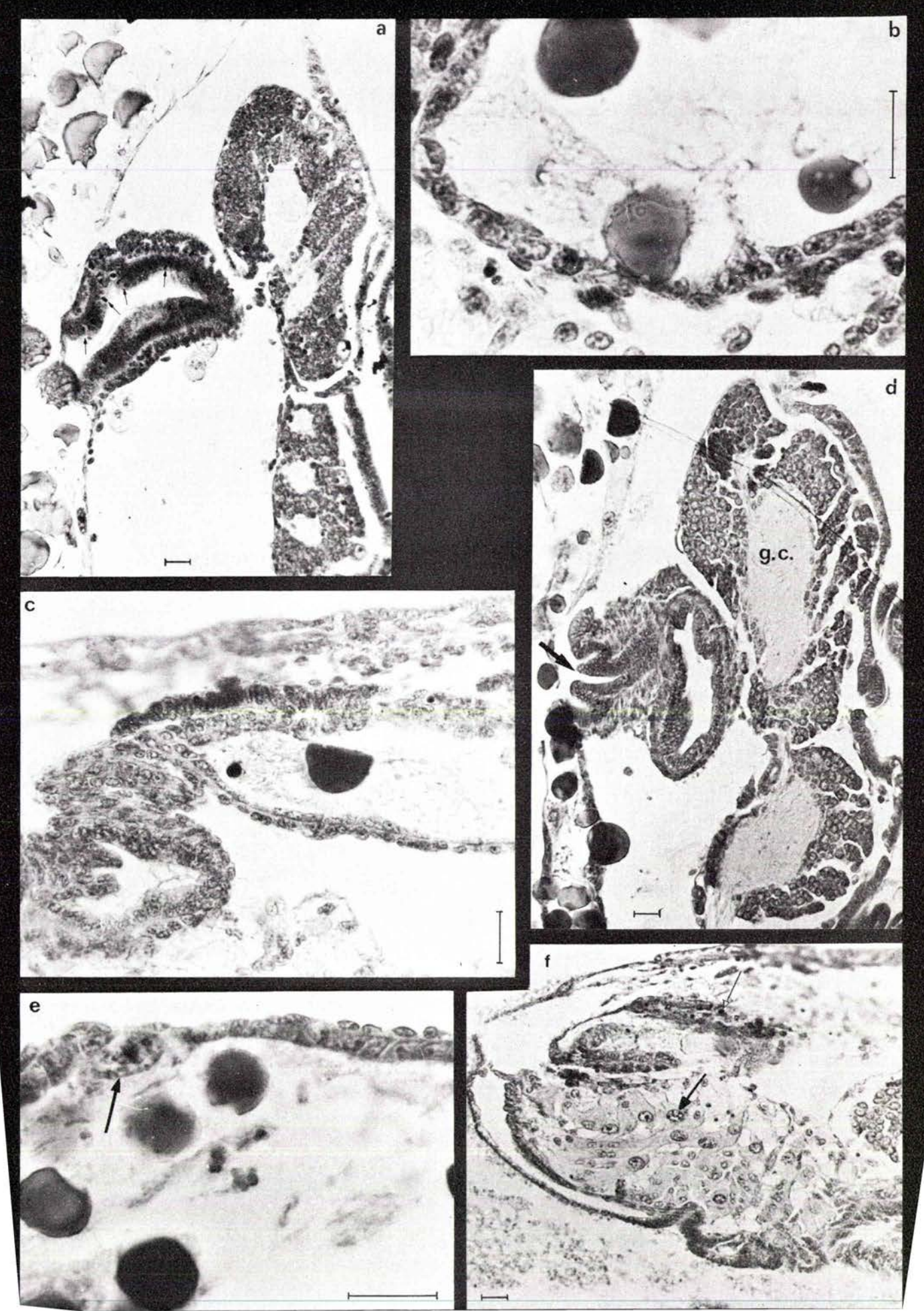
c : Coupe longitudinale au niveau de la jonction mésentéron - proctodéum dans un embryon âgé de 5 jours et 6 heures. La valvule pylorique n'est pas encore percée, mais le mésentéron a déjà une enveloppe double, le feuillet interne étant l'endoderme.

d : Coupe sagittale de la partie antérieure d'un embryon âgé de 5 jours et demi montrant l'ouverture de la valvule cardiaque (flèche) au niveau du ganglion cérébroïde (g.c.), ainsi que l'orientation conservée (dorso-ventrale) du stomodéum.

e : Coupe transversale du mésentéron au même âge. La flèche désigne un vitellophage plaqué sur la paroi du mésentéron; à ce niveau, l'endoderme est beaucoup plus réduit (comparer avec la partie droite du cliché).

f : Coupe sagittale de la partie terminale de l'abdomen à l âge de 6 jours. On trouve des noyaux pycnotiques dans le protodéum (flèche blanche) ainsi que parmi les oenocytes et dans les muscles (flèche noire).

Le tiret représente 20 µ


a
b
c
d
g.c.
e
f

LEGENDE DE LA PLANCHE 8

Histologie d'embryons de grillon formés après traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure par l'altosid au 1/500ème.

a : Coupe tangentielle de l'abdomen à l'âge de 6 jours montrant l'organisation des muscles ainsi que la présence de noyaux anormaux dans certains oenocytes (flèche).

b : Coupe sagittale de l'abdomen proximal au même âge, sur laquelle apparaissent des lacunes sanguines.

c : Coupe longitudinale du mésentéron moyen à l'âge de 6 jours, 6 heures, certaines zones montrent une plus grande épaisseur (flèche).

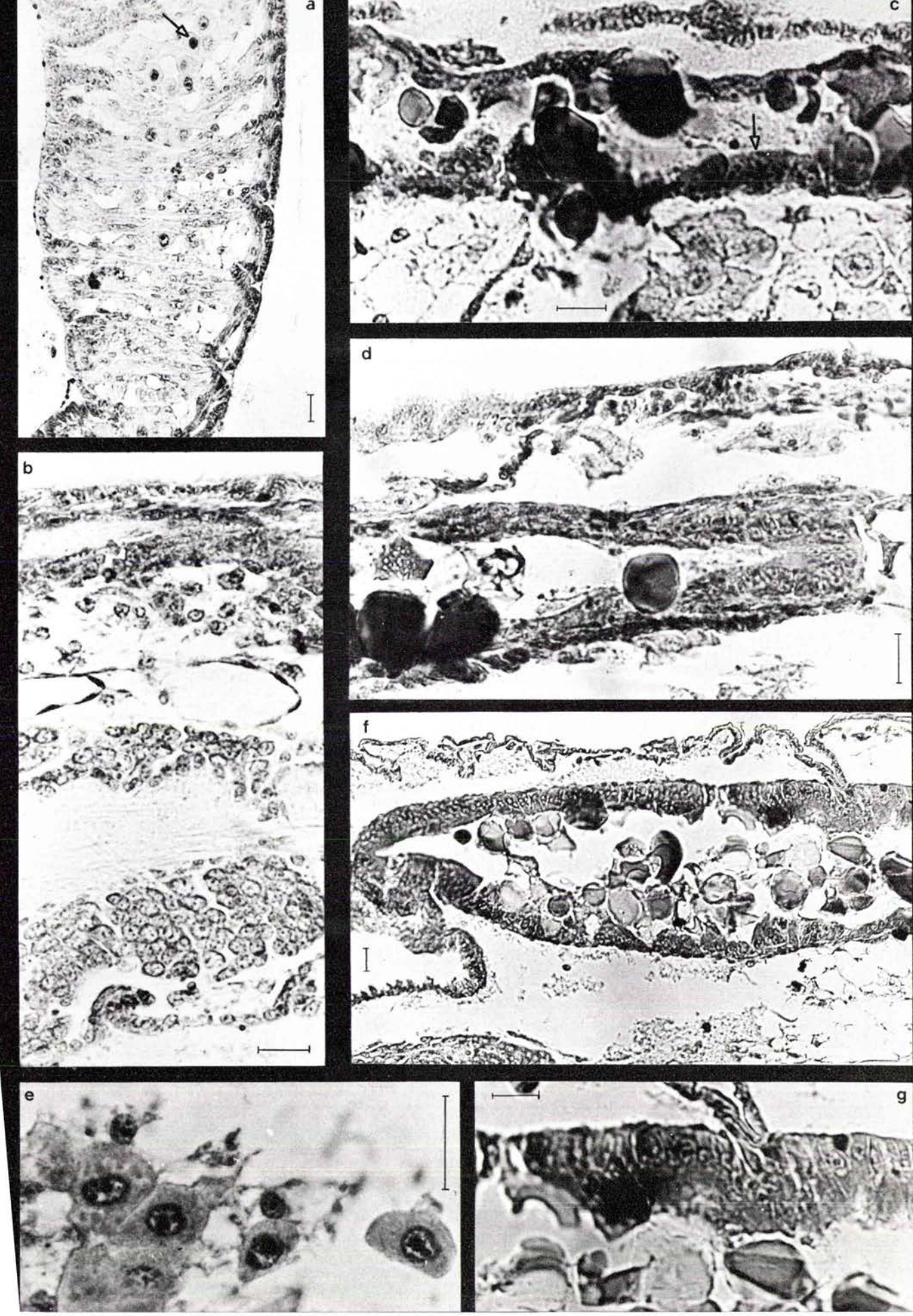
d : Coupe longitudinale du mésentéron postérieur à l'âge de 6 jours et demi.

e : Aspect des oenocytes dans un embryon âgé de 6 jours et demi.

f : Coupe longitudinale de la partie postérieure du mésentéron à l'âge de 7 jours. La paroi est anormalement épaisse.

g : agrandissement d'une portion du mésentéron représenté en f.

Le tiret représente 20 μ


a
b
c
d
e
f
g

3°) Action de l'altozar

a) Etude quantitative

Elle porte sur deux échantillons d'altozar (A_1 et A_2), parvenus en octobre 1974 et en avril 1975. La recherche de la DI. L. 50 ovicide grillon menée dès leur réception a révélé pour A_1 et A_2 des valeurs différentes. Pourtant les flacons de ces deux échantillons portaient les mêmes mentions manuscrites "FZ 51257, date 25 jan. 73".

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau IV, page 48 , ils ont permis d'obtenir les courbes de la figure 3 page 49 desquelles il ressort que :

- l'unité ovicide grillon de A_1 est la dilution au 1/325ème
- celle de A_2 est la dilution au 1/2750ème.

Ces valeurs indiquent un pouvoir ovicide plus faible que celui montré par l'altosid. Cette remarque ne vaut que pour les échantillons testés. En effet, le pouvoir ovicide de chacune des deux substances évoluant avec le temps, il n'est pas permis de conclure laquelle des deux est intrinséquement la plus active, d'autant plus que les échantillons d'altozar sont de fabrication plus ancienne que ceux d'altosid.

ECHANTILLON	DILUTION	NOMBRE D'OEUFS DE L'ESSAI	NOMBRE D'ECLOSIONS	TAUX D'ECLOSION
A_1	1/500	200	148	74
	1/450	200	147	73,5
	1/400	360	234	65
	1/350	320	176	**55**
	1/300	260	112	43
	1/250	180	36	20
	1/200	300	0	0
A_2	1/5000	220	165	75
	1/4000	100	73	73
	1/3000	200	114	**57**
	1/2000	143	56	39,2
	1/1500	240	76	31,6
	1/1000	166	46	27,7
	1/750	200	26	13
	1/500	150	0	0

TABLEAU IV

RESULTATS OBTENUS APRES TRAITEMENT D'OEUFS AGES DE MOINS D'UNE HEURE PAR DIVERSES DILUTIONS DES DEUX ECHANTILLONS D'ALTOZAR

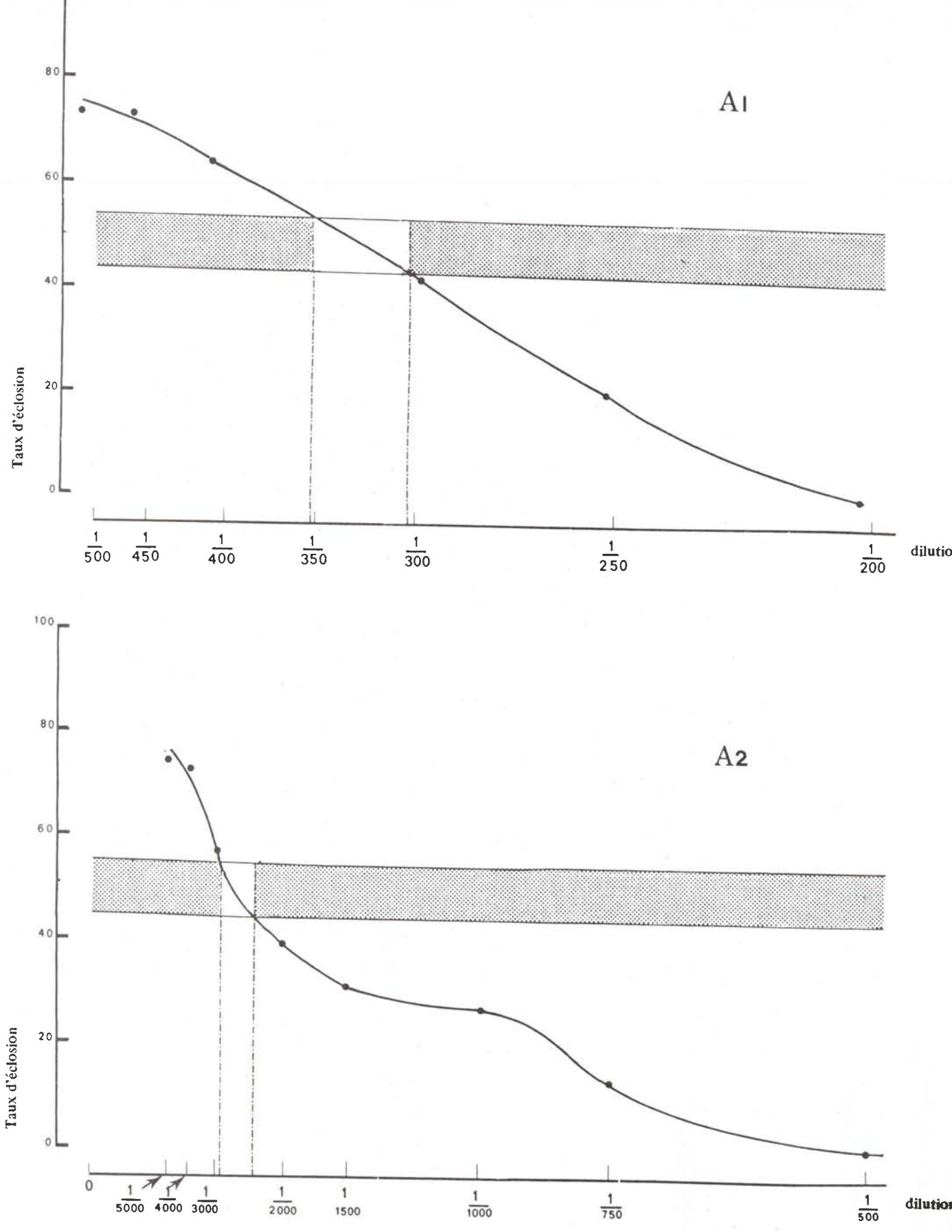


Figure 3 : Variation des taux d'éclosion avec la dilution des échantillons d'altozar appliqué sur des oeufs de grillon de 0 heure

Echantillon	Dilution	Eclosions	Oeufs éclos avant 7 jours		Oeufs éclos entre 7 et 8 jours		Oeufs éclos après 8 jours	
			N	%	N	%	N	%
A_1	1/500	148	41	27,7	98	66,2	9	6,1
	1/350	176	50	28,4	20	11,4	106	60,2
	1/300	112	0	0	0	0	112	100
	1/250	36	0	0	0	0	36	100
A_2	1/5000	165	143	50,3	18	47,3	4	2,4
	1/3000	114	28	24,6	84	73,7	2	1,7
	1/2000	56	10	17,8	43	76,8	3	5,4
	1/750	26	0	0	24	92,3	2	7,7

TABLEAU V

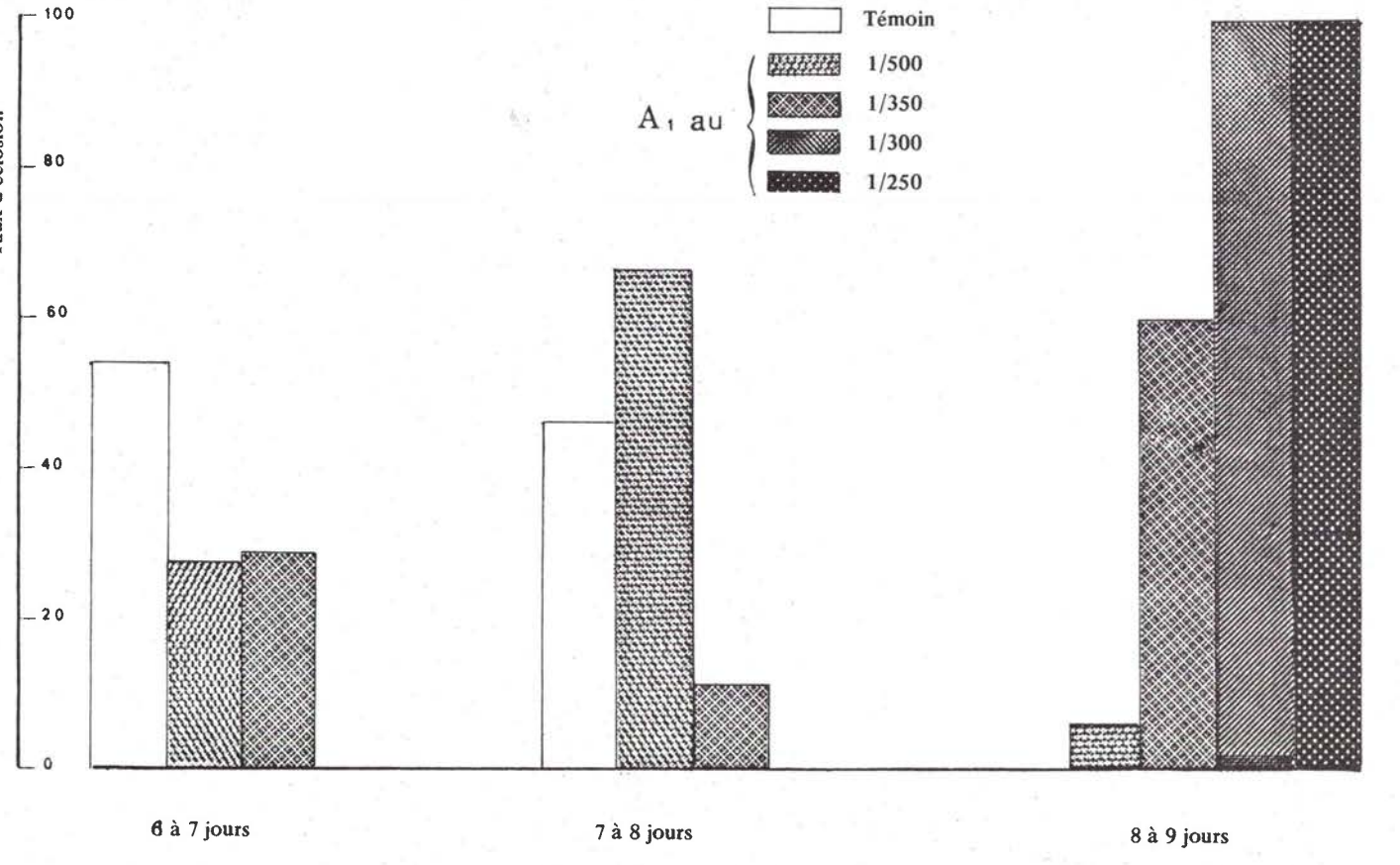
ECLOSIONS EN FONCTION DU TEMPS POUR DES OEUFS DE GRILLON AGES DE MOINS D'UNE HEURE TRAITES PAR L'ALTOZAR.

ECHANTILLONS	DILUTION	Oeufs non éclos		Embryons bloqués avant la catatrepsis		Embryons bloqués peu après la catatrepsis		Embryons bloqués à la fin de la morphogénèse	
		N	% PAR RAPPORT AU NOMBRE D'OEUFS DE L'ESSAI	n	$\frac{100n}{N}$	n'	$\frac{100n'}{N}$	n"	$\frac{100n"}{N}$
A_1	1/200	300	100	24	8	218	72,7	58	19,3
	1/250	144	80	20	13,9	37	25,7	87	60,4
	1/300	148	57	29	19,6	41	27,7	73	52,7
	1/400	126	35	35	27,8	39	30,9	52	41,3
	1/500	52	26	16	30,8	13	25	23	44,2
A_2	1/500	150	100	17	11,3	27	18	106	70,7
	1/1000	120	72,3	20	16,7	13	10,8	87	72,5
	1/2000	87	60,8	11	12,6	7	8,1	69	79,3
	1/3000	86	43	19	22,1	14	16,3	53	61,6
	1/5000	55	25	15	27,3	2	3,6	38	69,1
Mémoire témoin		x	$0 < \% < 15$	Y	100	0	0	0	0

N, n, n', n" sont des abréviations pour "nombre"

TABLEAU VI

ANALYSE DES OEUFS DE GRILLON NON ECLOS APRES TRAITEMENT PAR DIVERSES DILUTIONS DES DEUX ECHANTILLONS D'ALTOZAR.



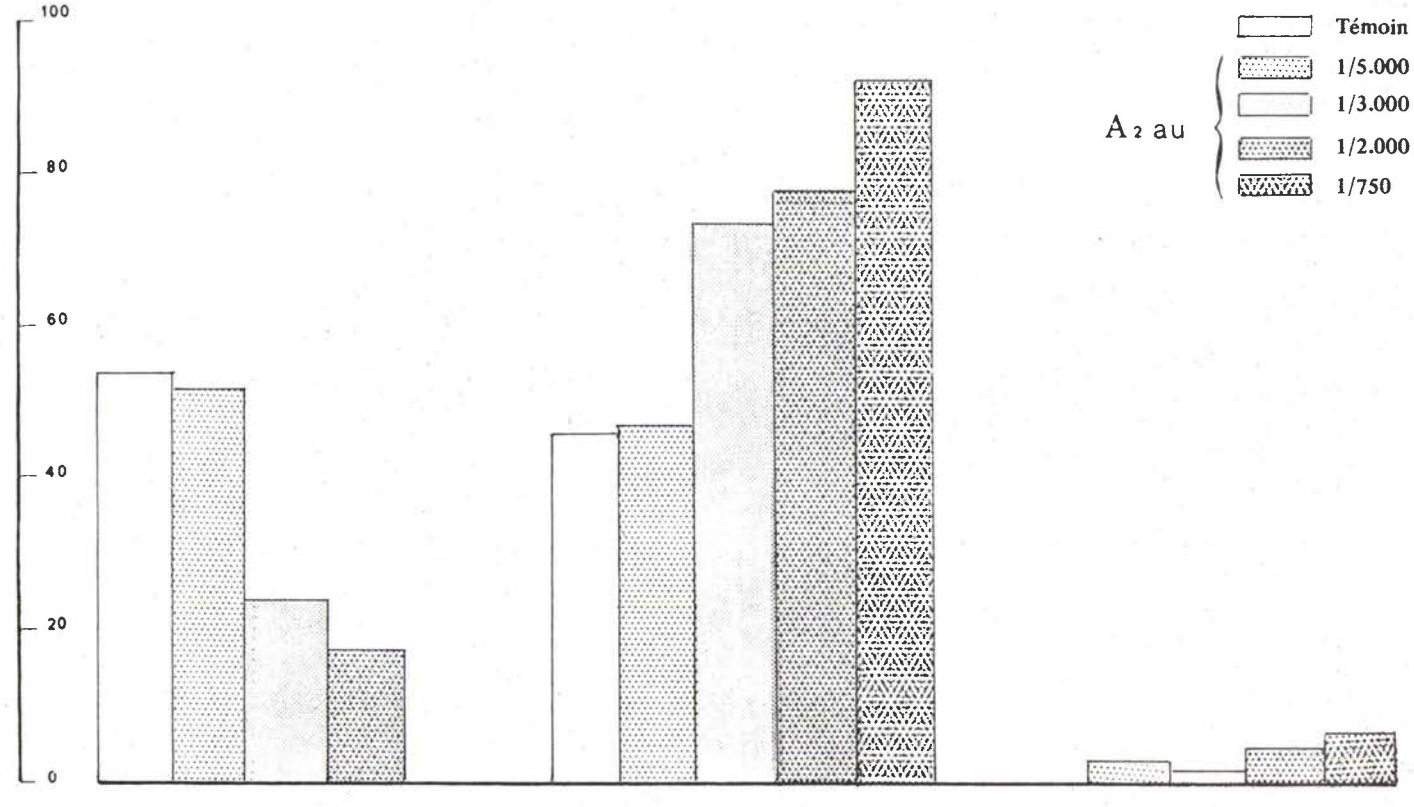


Figure 4 : Taux des éclosions en fonction du temps

b) Etude qualitative

L'influence sur la durée du développement embryonnaire se traduit, pour l'altozar également, par un retard des éclosions (voir tableau V, page 50 et figure 4 , page 52). Ce retard est d'autant plus important que la dilution utilisée est faible, en fait : que la dose d'HJA appliquée sur le chorion est grande.

L'examen des oeufs non éclos montre (voir tableau VI, page 51) que le taux de ceux où le développement embryonnaire ne s'est pas produit ne dépasse jamais de façon significative le taux maximum relevé chez les témoins et qui est de 10 %. Tous les autres oeufs sont embryonnés et ont tous accompli le retournement de la catatrepsis (Stade V). Une distinction est à relever vis-à-vis de l'analyse précédemment faite pour les oeufs non éclos, à la suite de traitements par l'altosid. Ici, ce n'est que lorsque la dilution utilisée est très faible que le nombre d'embryons bloqués peu après la catatrepsis est élevé (voir 1ère ligne de la figure VII, page 69). Le plus souvent, l'arrêt du développement se produit au cours des dernières étapes de la morphogénèse, ce qui, avec l'altosid, n'est constaté que lors de l'emploi de dilutions fortes. Si on compare cependant les dilutions d'altosid et d'altozar avec lesquelles les taux d'éclosion sont voisins, on note une répartition semblable du nombre des embryons non éclos à l'intérieur des catégories précédemment définies.

Les embryons morts dans l'oeuf montrent des atteintes de nature tout à fait comparables à celles déjà observées dans les oeufs traités à l'altosid. Les appendices sont malformés, recouverts d'une cuticule pigmentée, le nombre d'articles du tarse et ceux des antennes est réduit. Cependant, ces anomalies sont beaucoup moins accusées aussi bien chez les embryons bloqués peu après la catatrepsis que chez les embryons qui ont le plus avancé dans le cours de leur développement avant de mourir.

L'étude histologique faite sur des oeufs traités par l'altozar (A_1) au 1/100ème confirme cette observation (planche 10, page 56)

- le système nerveux présente entre l'âge de 3 et 4 jours, des noyaux pycnotiques dans le cortex ganglionnaire mais leur nombre n'est pas plus important que chez les témoins.

-l'effet sur les appendices n'est pas aussi profond que lors du traitement par l'altosid. Dès l'âge de 4 jours, il apparaît quelques

noyaux pycnotiques dans l'ectoderme des pattes, mais leur nombre n'augmente pas. L'épaisseur du tégument appendiculaire devient importante par rapport aux témoins, surtout vers l'extrémité. La cuticule ne se mélanise pas autant que dans le cas de traitement à l'altosid ; le mésoderme n'est pas aussi atteint non plus car, dès l'âge de 4 jours il évolue en fibres musculaires tout au moins dans les articles basaux des pattes. Chez les embryons plus âgés, le mésoderme ne donnera jamais naissance à des fibres musculaires dans les articles terminaux. Tibia et tarse ne grandissent pas, ils conservent un revêtement d'épaisseur importante mais dont la pigmentation ne s'accroît pas.

Le tube digestif est affecté par le traitement à l'altozar au 1/100ème puisque la résorption du vitellus ne s'achevant pas, le stomodéum conserve son orientation primitive dorso-ventrale. La valvule cardiaque s'ouvre dorsalement et au niveau de la tête, comme dans le cas du traitement par l'altosid. Chez certains spécimens âgés de 7 jours, elle est entourée d'un petit nombre de noyaux séreux en dégénèrescence.

La constitution de l'endoderme n'est pas perturbée par le HJA. Elle débute comme pour les témoins à l'âge de 5 jours. Quelques rares embryons âgés de 7 jours montrent par endroit un épaississement de la paroi du mésentéron mais dans la plupart des cas, l'endoderme est en tous points ressemblant à celui des témoins : les cellules sont groupées en amas pyramidaux émettant un prolongement vers le vitellus qui occupe encore le tube digestif moyen.

LEGENDE DE LA PLANCHE 9

Observation après 8 jours d'incubation d'embryons de grillons traités à l'altozar.

a, b, c : Les oeufs ont été traités peu après avoir été pondus.

a : par la dilution au 1/100ème (A_1)

b : par la dilution au 1/500ème (A_1)

c : par la dilution au 1/1000ème (A_2)

d, e, f : Les oeufs ont été traités à l'âge de 66 heures.

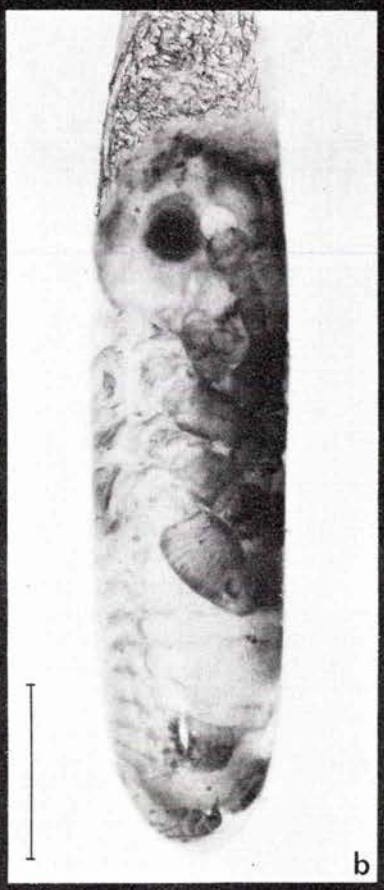
a : par la dilution au 1/100ème (A_1)

b : par la dilution au 1/500ème (A_1)

c : par la dilution au 1/1000ème (A_2)

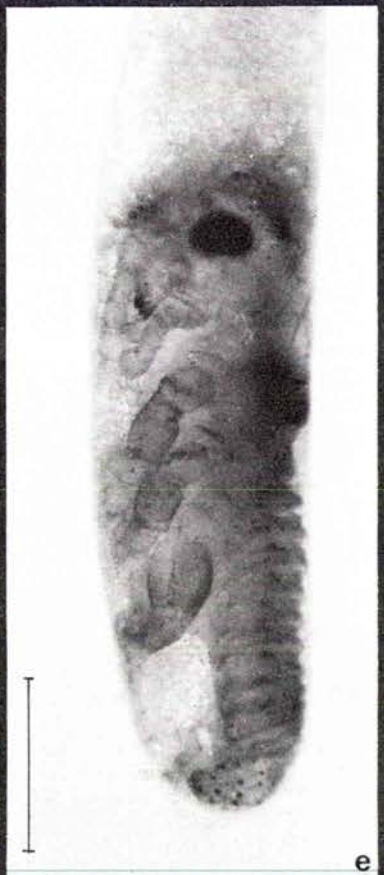
Le tiret représente un demi-millimètre


a


b


c


d


e


f

LEGENDE DE LA PLANCHE 10

Histologie d'embryons de grillons traités par l'altozar au 1/100ème.

a, b, c : Le traitement a été pratiqué sur des oeufs âgés de moins d'une heure.

a : Coupe sagittale de l'abdomen antérieur d'un embryon âgé de 6 jours. Le mésentéron a une paroi épaisse. (n : ganglions nerveux).

b : Coupe longitudinale d'une patte d'un embryon âgé de 7 jours. Les articles terminaux sont malformés, revêtus d'une cuticul épaisse et de coloration brune. Dans le fémur, le mésoderme a formé des fibres musculaires (flèche).

c : Coupe sagittale de la valvule cardiaque (grosse flèche) d'un embryon âgé de 7 jours. Elle est entourée de noyaux séreux nécrosés (petites flèches) mais a une orientation dorso-ventrale. L'endoderme est épais (n : ganglion nerveux).

d, e, f : Le traitement a été pratiqué sur des oeufs âgés de 60 heures

d : Coupe longitudinale de l'antenne d'un embryon âgé de 4 jours Elle est formée d'un nombre réduit d'articles, les derniers ayant un diamètre important. (g. c. : ganglion cérébroïde).

c : Coupe sagittale totale d'un embryon âgé de 6 jours. La flèch indique la position céphalique anormale de la valvule cardia que, les pattes sont atrophiées.

f : Coupe longitudinale de la patte d'un embryon âgé de 6 jours. Dans les articles basaux, le mésoderme s'est différencié en fibres musculaires (flèche). Le tégument est ici très épais mais la cuticule est modérément pigmentée.

Le tiret reprèsente 20 µ

a
n
n
n
n
b
c
n.
d
g. c.
e
f

B - TRAITEMENT D'OEUFS AU COURS DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE

1°) Effet sur les taux d'éclosion

Les résultats exposés dans les tableaux VII, page 61 à X page 64 et les figures 5 page43 et 6, page 44 ne représentent qu'une partie des essais réalisés. Toutes les autres dilutions faites pour rechercher la DI. L. 50 pour les oeufs âgés de moins d'une heure, ont été utilisées pour vérifier ces résultats, par des applications plus espacées sur des oeufs âgés de 1, 2, 3 et 4 jours.

Avant d'en examiner le détail, il est d'ores et déjà à retenir que pour une dilution donnée, le moment du traitement est déterminant en ce qui concerne le taux des éclosions.

a) Cas de faibles dilutions

L'altosid (I_1) au 1/500 ème, utilisé pour l'étude histologique est ovicide à 100 % lorsqu'il est badigeonné sur des oeufs fraîchement pondus. Il conserve cette activité quel que soit le moment de l'application, si cette dernière est pratiquée sur des oeufs incubés depuis moins de 3 jours et demi. A partir de cet âge, les oeufs deviennent rapidement résistants au produit. Des oeufs âgés de 4 jours et demi sont insensibles au traitement, mais il n'est pas exclu qu'un effet retard puisse apparaître au cours de la vie larvaire.

L'altozar utilisé pour l'étude histologique (A_1 au 1/100ème) révèle une courbe d'activité pratiquement identique si ce n'est que la résistance des oeufs semble atteinte moins rapidement.

Si on se reporte aux courbes homologues obtenues avec le farnesol (CROCHARD, 1974), on constate que les oeufs deviennent résistants beaucoup plus tardivement :

- à 5 jours pour la dilution par moitié dans l'huile d'olive
- 4 jours et demi pour la dilution au 1/4,
- 3 jours et demi pour celle au 1/8ème (mais ce n'est pas une dilution ovicide à 100 % pour les oeufs âgés de moins d'une heure)

L'altosid (I_1) au 1/5000ème, bien que 10 fois plus dilué, montre une courbe d'activité pratiquement semblable à celle obtenue pour l'altosid au 1/500ème si ce n'est pour la partie initiale car l'activité ovicide sur des oeufs fraîchement pondus est légèrement inférieure à 100 %. Dès que les oeufs utilisés sont âgés de 12 heures, l'activité ovicide est absolue, elle le reste tant que les sujets sont âgés de moins de 3 jours et demi.

Avec I_2 au 1/10.000ème, on a affaire à une préparation ovicide à 80 % pour les oeufs âgés de moins d'une heure. Sitôt que leur âge atteint 24 heures, le pouvoir ovicide est de 100 %, comme précédemment ; il se maintient tant que les oeufs utilisés ont moins de 3 jours et demi.

b) Cas de dilutions voisines de la DI. L. 50 pour des oeufs âgés de moins d'une heure.

L'altozar (A_1) au 1/300ème qui entraîne un taux d'éclosion de 43 % si les oeufs traités sont fraîchement pondus, voit son activité ovicide augmenter avec l'âge des oeufs de l'essai. Si ces derniers ont été incubés pendant 24 heures, la dilution est ovicide à 100 %, elle cesse de l'être quand les oeufs sont âgés de plus de 3 jours et demi.

L'échantillon (A_2) au 1/3000 ème appliqué à des oeufs âgés de moins d'une heure permet 57 % d'éclosions et devient ovicide à 100 % pour des oeufs âgés de 36 heures ; ceux âgés de plus de 3 jours et 6 heures deviennent de plus en plus résistants au produit pour être insensibles à l'âge de 4 jours et 6 heures.

Les dilutions du farnesol voisines de la DI. L. 50 montraient également une activité ovicide accrue lorsqu'elles étaient appliquées sur des oeufs âgés d'environ 3 jours, mais l'activité constatée à ce moment n'était pas ovicide à 100 % comme c'est le cas ici.

c) Cas des dilutions supérieures à la DI. L. 50 pour des oeufs âgés de moins d'une heure

I_1 au 1/10.000ème et I_2 au 1/50.000 ème permettent lors du traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure, des taux d'éclosion de 78 et 85 %. Si l'on badigeonne des oeufs âgés de 1 jour 18 heures

à 3 jours 6 heures avec I_1, 2 jours à 3 jours 6 heures avec I_2, aucune éclosion ne se produit.

Les oeufs âgés de plus de 3 jours 6 heures deviennent rapidement résistants, comme c'était le cas précédemment.

d) Cas de grandes dilutions

J'ai recherché approximativement pour I_2 et I_3 quelles étaient les dilutions qui, appliquées à des oeufs âgés de 2 jours et demi, permettaient 50 % d'éclosions, ainsi que les plus grandes dilutions encore ovicides à 100 % dans ce cas. Les valeurs obtenues sont consignées dans le tableau ci-dessous :

Echantillon	Dilution	Taux d'éclosion	
		Oeufs de moins d'1 H.	Oeufs de 2 jours et demi
I_2	1/20.000	66,2	0
	1/250.000	90	30,3
	1/500.000	90	77,7
I_3	1/150.000	62 84	0
	1/500.000	84	53,3

Ces valeurs ne sont pas homogènes pour permettre de chiffrer l'augmentation du pouvoir ovicide selon que les oeufs traités sont âgés de moins d'une heure ou de 60 heures.

-En effet, si on considère les dilutions pour lesquelles aucune éclosion ne se produit

- sur des oeufs âgés de moins d'une heure, I_2 doit être dilué au 1/5000ème, I_3 au 1/15000ème (voir tableau I, page 25)
- avec des oeufs âgés de 60 heures, la dilution de I_2 au 1/50000ème, (tableaux VIII et IX, page 62 et page 63), et celle de I_3 au 1/150.000ème (tableau ci-dessus) sont ovicides à 100 %.

Le même résultat est donc obtenu avec des dilutions dix fois plus fortes.

- Si on considère les dilutions pour lesquelles le taux d'éclosion est de 50 %,
  - avec I_2, sur des oeufs âgés de 60 heures, une dilution plus de 20 fois plus forte, correspond à l'unité ovicide grillon déterminée sur les oeufs âgés de moins d'une heure.
  - avec I_3, c'est une dilution environ 6 fois plus forte que l'unité ovicide grillon qu'il suffit d'employer.

	Traitement à / Dilutions	0 h			12 h			18 h			24 h			30 h		
		N	é	%	N	é	%	N	é	%	N	é	%	N	é	%
I_1	1/500	117	0	0							93	0	0			
	1/5000	200	6	3	118	0	0	110	0	0	126	0	0	150	1	0,6
	1/10000	100	78	78				96	79	82,3	105	71	67,6	100	36	36
I_2	1/10000	150	30	20				100	1	1	137	0	0	98	0	0
	1/50000	261	223	85,4				125	112	89,6	97	71	73,2	100	61	61
A_1	1/100	300	0	0	140	0	0	114	0	0	139	0	0	150	0	0
	1/300	260	112	43	108	27	25				92	0	0	100	0	0
A_2	1/3000	200	114	57	125	71	56,8				116	26	22,4			

N : nombre d'oeufs de l'essai
é : nombre d'éclosions
% : 100 é/N

TABLEAU VII

RESULTATS OBTENUS POUR DIVERSES DILUTIONS

SUIVANT LE MOMENT DU TRAITEMENT

Traitement à / Dilutions		36 h			42 h			48 h			60 h			66 h		
		N	é	%	N	é	%	N	é	%	N	é	%	N	é	%
I_1	1/500	150	0	0	78	0	0	136	0	0	100	0	0	108	0	0
	1/5000	138	0	0	84	0	0	87	0	0	95	0	0			
	1/10000	121	18	14,8	100	0	0	117	0	0	89	0	0			
I_2	1/10000	130	0	0	123	0	0	88	0	0				90	0	0
	1/50000				175	42	24	145	0	0						
A_1	1/100	140	0	0	108	0	0	100	0	0	123	0	0			
	1/300										110	0	0	93	0	0
A_2	1/3000	120	0	0				115	0	0				90	0	0

N : nombre d'oeufs de l'essai
é : nombre d'éclosions
% : 100 é/N

TABLEAU VIII

RESULTATS OBTENUS POUR DIVERSES DILUTIONS
SUIVANT LE MOMENT DU TRAITEMENT

	Traitement à / Dilutions	72 h (= 3jours)			3j 6h			3j 12h			3j 18h			4j		
		N	é	%	N	é	%	N	é	%	N	é	%	N	é	%
I_1	1/500	130	0	0	100	0	0	150	0	0	170	108	63,5	145	123	84,8
	1/5000	126	0	0				92	0	0	100	63	63	106	98	92,4
	1/10000	100	0	0	119	0	0	126	86	68,2	130	106	81,5			
I_2	1/10000	93	0	0				104	0	0	100	59	59	94	82	83
	1/50000	87	0	0	139	0					156	119	76,3			
A_1	1/100	128	0	0				138	0	0	100	41	41	152	94	61,8
	1/300				142	0	0	122	0	0	125	53	42,4			
A_2	1/3000				100	0	0	120	56	46,6	135	104	77			

N : nombre d'oeufs de l'essai
é : nombre d'éclosions
% : 100 é/N

TABLEAU IX

RESULTATS OBTENUS POUR DIVERSES DILUTIONS

SUIVANT LE MOMENT DU TRAITEMENT

Traitement à / Dilutions		4j 6h			4j 12h			4j 18h			5j			5j 6h		
		N	é	%	N	é	%	N	é	%	N	é	%	N	é	%
I_1	1/500	116	109	94	100	96	96	114	112	98,2	98	96	98	100	97	97
	1/5000				130	128	98,5									
	1/10000	97	93	95,8							100	100	100			
I_2	1/10000				125	121	96,8				108	106	98,2			
	1/50000	137	133	97												
A_1	1/100				125	118	94,4	94	92	97,8				120	120	100
	1/300	100	96	96							118	118	100			
A_2	1/3000	108	105	97,2										105	105	100

N : Nombre d'oeufs de l'essai
é : nombre d'éclosions
% : 100 é/N

TABLEAU X

RESULTATS OBTENUS POUR DIVERSES DILUTIONS

SUIVANT LE MOMENT DU TRAITEMENT

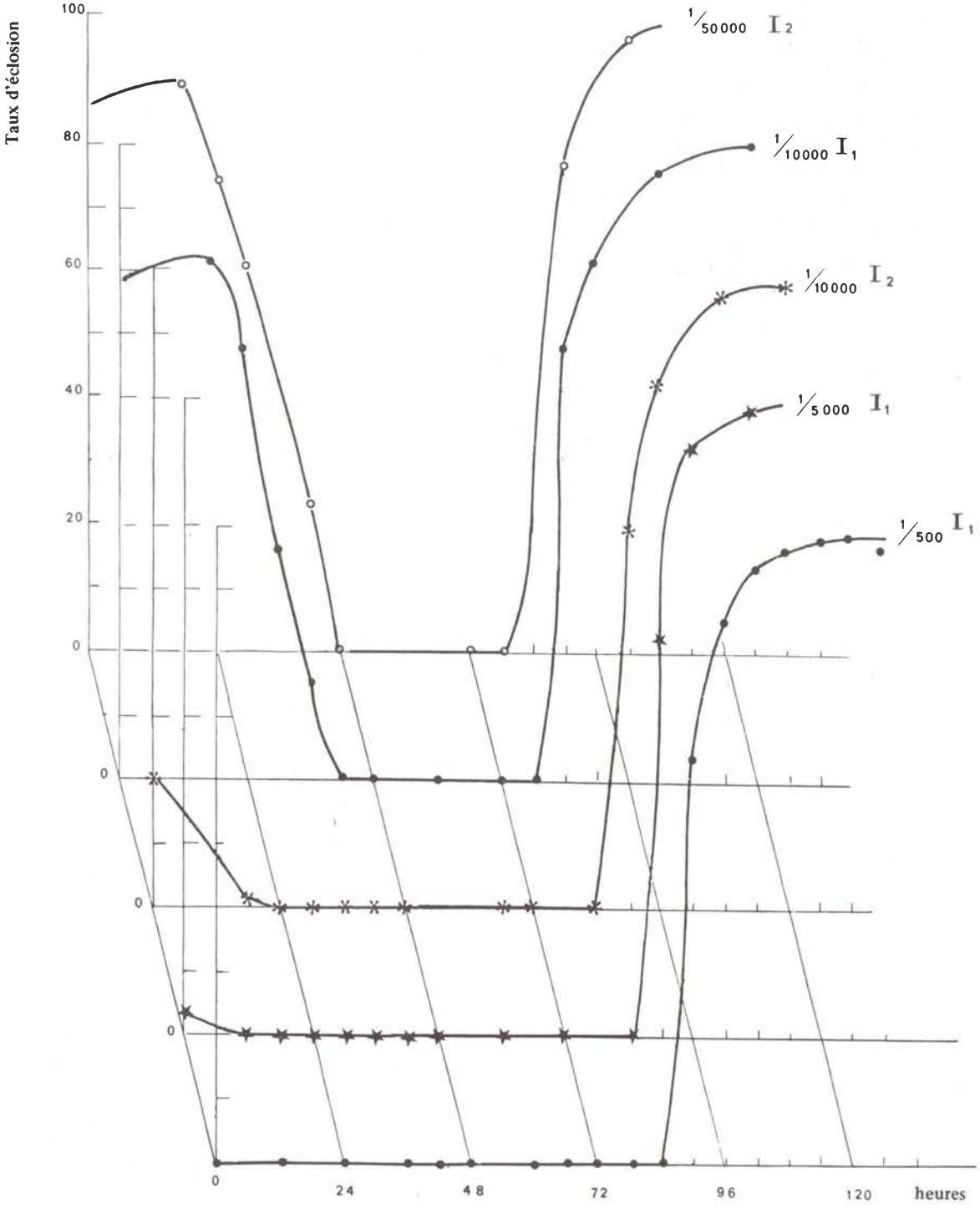


Figure 5 : Variation des éclosions avec le moment de l'application des diverses dilutions d'altosid

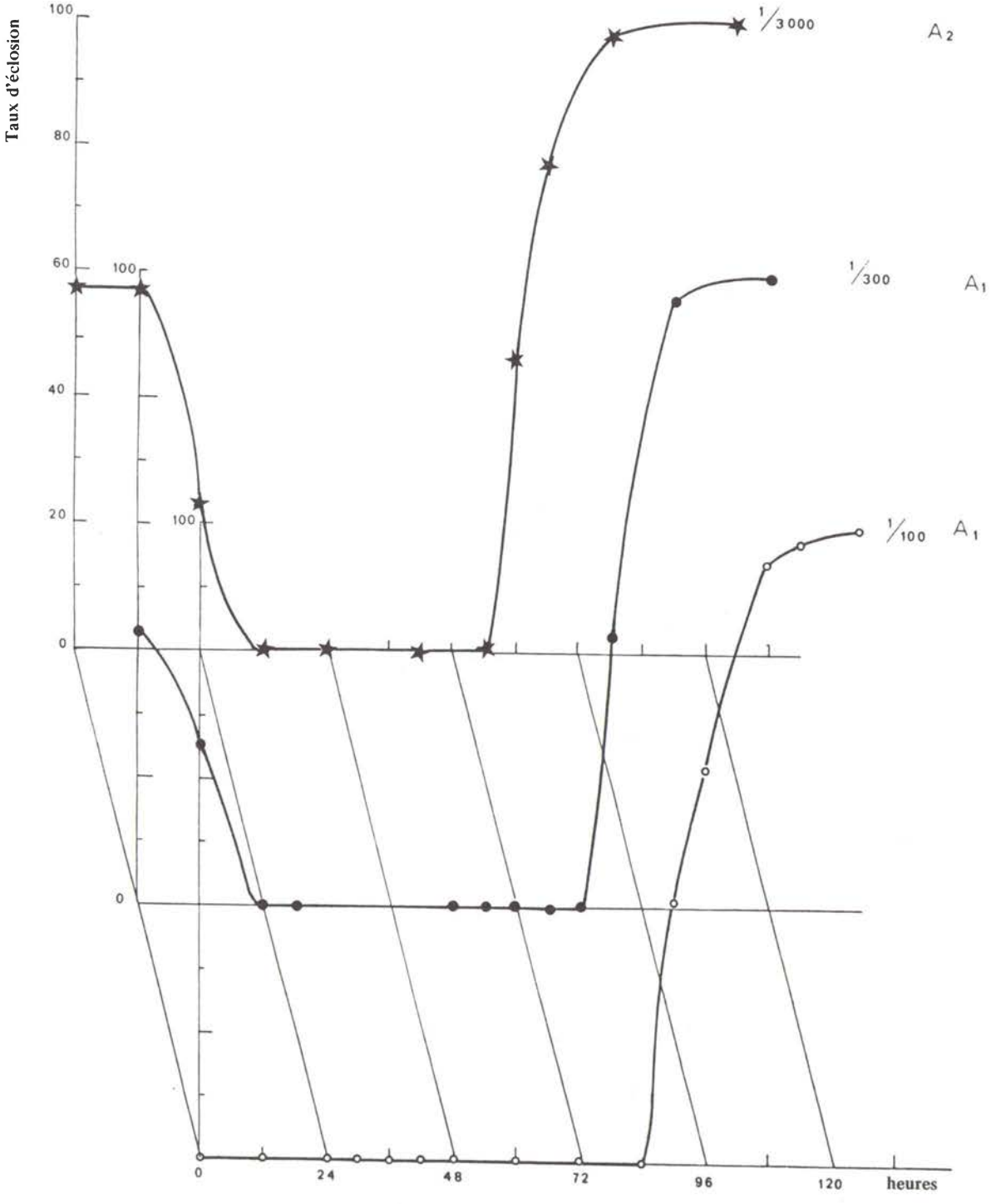


Figure 6 : Variation des éclosions avec le moment de l'application de diverses dilutions d'altozar

2°) Etat des embryons morts dans l'oeuf

a) Résultats

L'augmentation de sensibilité aux HJA des oeufs âgés de 60 heures ne consiste pas seulement en une diminution du taux d'éclosion, elle se traduit aussi, à l'examen des oeufs non-éclos, par l'état de développement atteint par ceux-ci. Cet examen permet dans une certaine mesure une distinction entre des dilutions qui ont le même pouvoir ovicide.

Ainsi, l'altosid (I_1) au 1/2000ème et l'altozar (A_1) au 1/200ème sont tous deux ovicides à 100 % pour des oeufs âgés de moins d'une heure. A la fin du temps d'incubation, les oeufs qui avaient été traités à l'altosid sont :

- pour 12,4 % non-embryonnés
- pour 87,6 % bloqués peu après la catatrepsis (tableau III page 33)

On peut déduire que de ces deux dilutions ovicides à 100 %, celle de l'altosid est la plus active. Cependant, l'examen des oeufs non éclos à la suite d'un traitement effectué à l'âge de 3 jours par ces mêmes dilutions ne permet pas cette distinction, car tous les embryons sont morts dans le même état.

Le tableau XI, page 68 et la figure 7 page69 montrent, du point de vue de l'état des embryons morts dans l'oeuf, une augmentation progressive de l'activité ovicide laquelle, en ce qui concerne les taux d'éclosion, était déjà maximale pour les oeufs âgés de moins d'une heure. Il est important de noter que cette augmentation du pouvoir ovicide déduite de l'examen des oeufs non-éclos se retrouve également pour des dilutions moins actives, mais ne peut plus être mise en évidence pour celles qui sont trop peu efficaces, comme I_3 au 1/500.000ème. Elle n'avait pas été constatée de façon significative avec le farnesol.

On peut en déduire que "pour des traitements effectués sur des oeufs âgés de moins d'une heure à 3 jours, plus le traitement est tardif, plus il est ovicide ; ceci se manifeste tant par le taux des éclosions que par l'état de développement embryonnaire atteint par les oeufs non éclos"

AGE DES OEUFS TRAITES (heures)	ECHANTILLON ET DILUTION	Mémoire : ce que représentent 100 % d'embryons morts dans l'oeuf par rapport au nombre d'oeufs de l'essai			
		TAUX D'EMBRYONS MORTS AVANT LA CATATREPSIS	TAUX D'EMBRYONS MORTS PEU APRES LA CATATREPSIS	TAUX D'EMBRYONS MORTS A LA FIN DE LA MORPHOGENESE	
24	I_1 1/2000	15	85	0	(100 %)
	I_2 1/10.000	11,3	40,6	48	(100 %)
	I_2 1/50.000	34,6	7,5	58	(26,8%)
	I_3 1/500.000				
	A_1 1/200	6,8	84,9	8,2	(100 %)
	A_1 1/1000	16,2	9,2	74,6	(34 %)
	A_2 1/2000	12	8	80	(92,6%)
48	I_1 1/2000	7,7	92,3	0	(100 %)
	I_2 1/10.000	12	88	0	(100 %)
	I_2 1/50.000	8	27,7	64,2	(100 %)
	I_3 1/500.000	20	17,5	62,5	(37 %)
	A_1 1/200	13	87	0	(100 %)
	A_1 1/1000	11,4	81,4	7,1	(100 %)
	A_2 1/2000	9,4	77,6	13	(100 %)
72	I_1 1/2000	0	100	0	(100 %)
	I_2 1/10.000	2,5	97,5	0	(100 %)
	I_2 1/50.000	4	86	10	(100 %)
	I_3 1/500.000	0	28	72	(48 %)
	A_1 1/200	0	100	0	(100 %)
	A_1 1/1000	0	100	0	(100 %)
	A_2 1/2000	0	100	0	(100 %)

TABLEAU XI : EXAMEN DES OEUFS NON ECLOS APRES TRAITEMENT PAR DIVERSES DILUTIONS DE L'ALTOSID ET DE L'ALTOZAR EFFECTUE A L'AGE DE 1, 2 ET 3 JOURS.

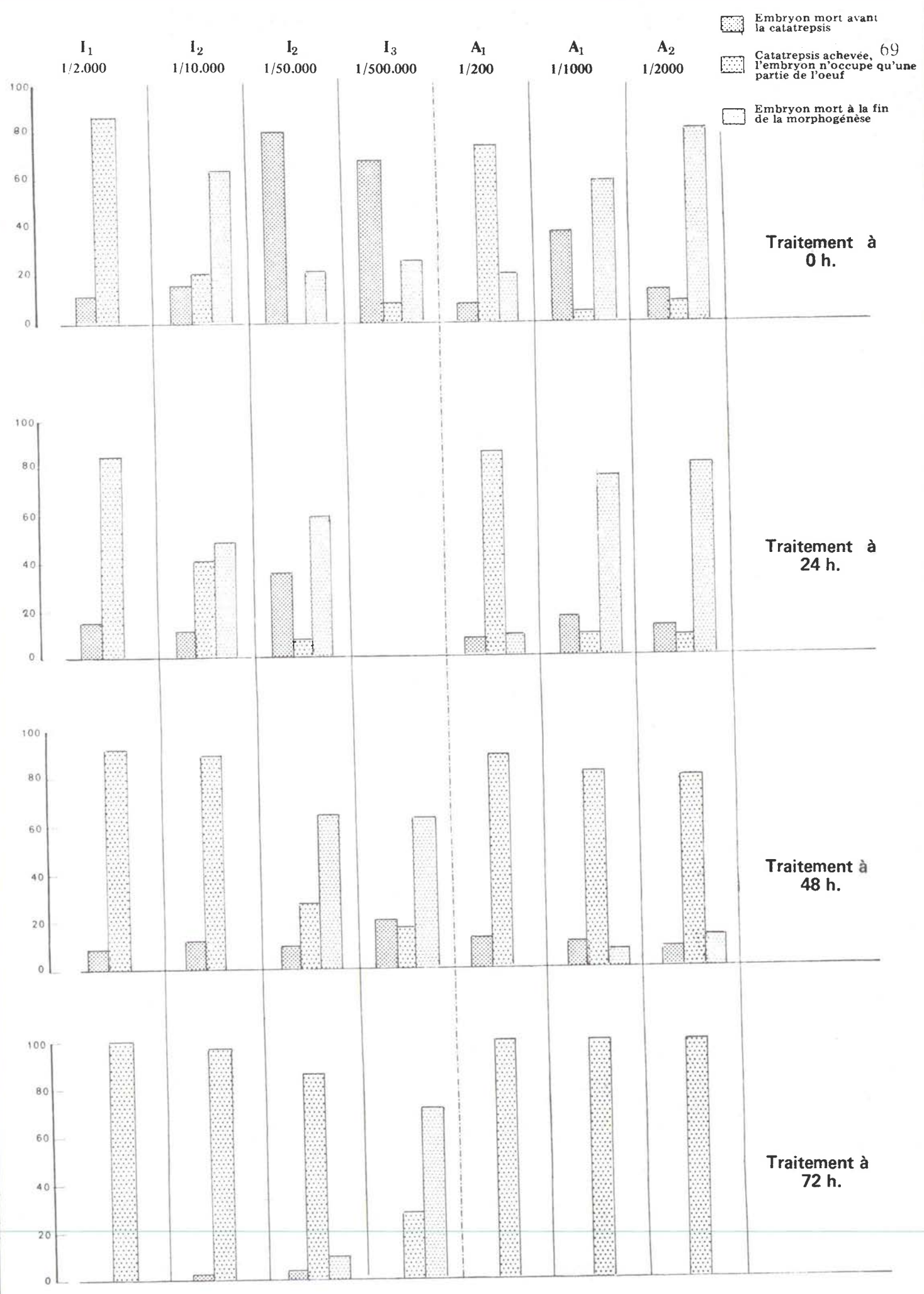


Figure 7 — Aspect des œufs non éclos

LEGENDE DE LA PLANCHE 11

a, b, c, d : Traitement d'oeufs âgés de 2 jours et 6 heures par l'altosid.

a : par I_2 au 1/10.000ème

Embryon très fortement atteint, la morphogénèse des pattes n'a pas eu lieu, P_3 est réduit à un gros moignon noir Les cerques ont un aspect non encore rencontré : ils sont turgescents et dépourvus de poils. On observe quelques cals sur les sternites abdominaux.

b : par I_2 au 1/50.000ème

Un peu moins sévèrement atteint puisque l'évolution des pattes s'est amorcée, on retrouve un aspect général déjà rencontré lors du traitement d'oeufs traités à l'âge de moins d'une heure mais avec des dilutions bien moins grandes.

c : par I_2 au 1/100.000ème

Différentes atteintes des appendices :

- antennes raccourcies et noirâtres
- pattes rabougries et plissotées
- cerques peu pileux et à extrémité recourbée.

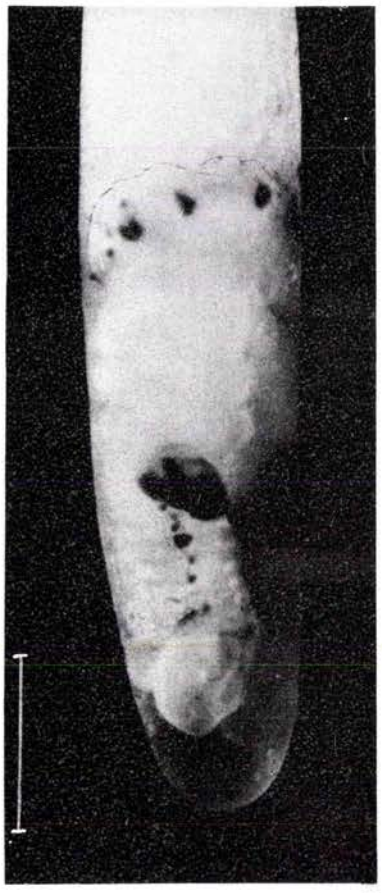
d : par I_2 au 1/150.000ème

Une légère atteinte asymétrique des cerques.

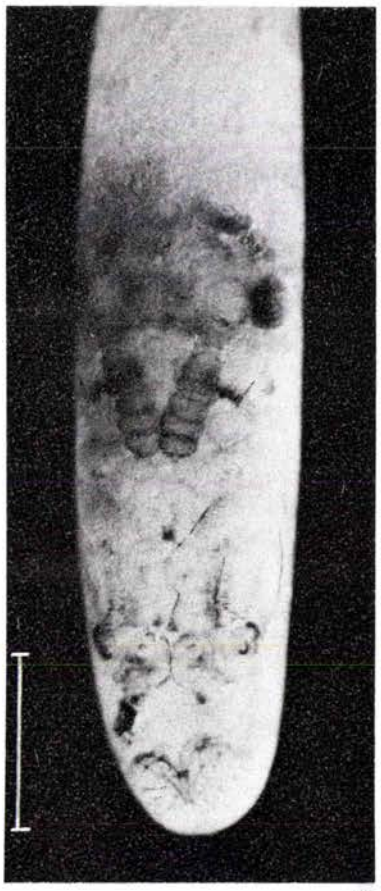
e : Larve morte à l'éclosion, l'oeuf a été traité par I_2 au 1/50.000ème à l'âge de 1 jour et 18 heures.

Cette planche est à comparer avec les planches 1 et 2 : des dilutions plus fortes, appliquées plus tard au cours du développement embryonnaire produisent des effets aussi importants, et souvent plus importants, que des doses plus fortes appliquées au temps 0.

Le tiret représente un demi-millimètre.



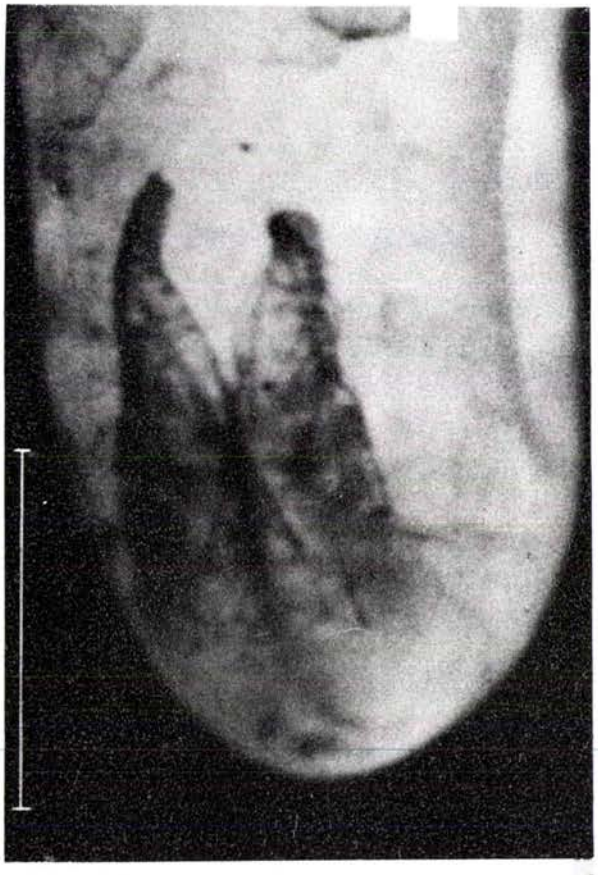
a



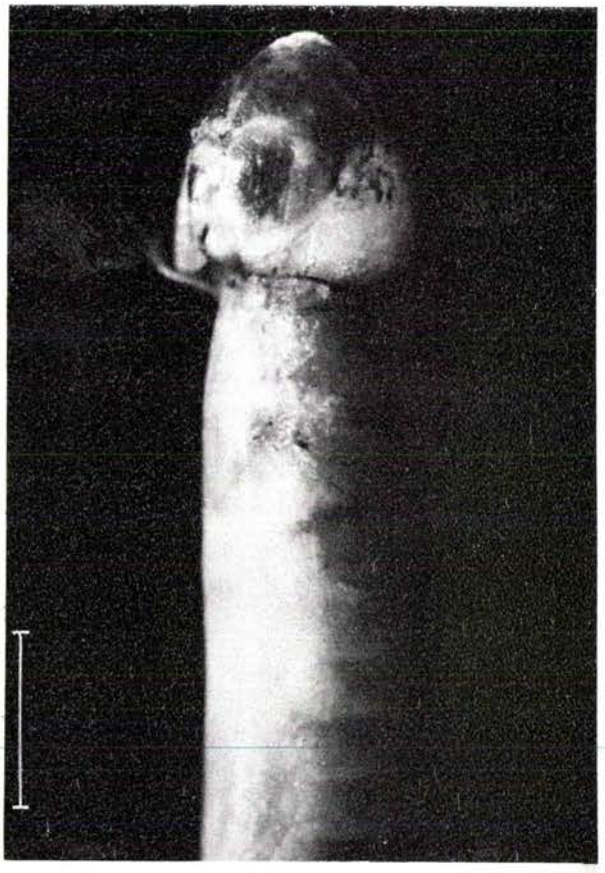
b



c



d



e

b) Discussion

L'examen de la figure 7 entraîne plusieurs questions et hypothèses.

Tout d'abord, le fait que le taux d'oeufs non embryonnés ne soit jamais supérieur au taux observé chez des témoins, et cela quelle que soit la dilution utilisée, amène à penser : qu'entre le moment où le badigeon a lieu et celui où le produit pénètre l'oeuf, s'écoule un temps de latence. Comme le bloquage du développement embryonnaire n'arrive jamais avant l'achèvement de la catatrepsis, ce temps de latence serait maximum dans le cas d'application à des oeufs âgés de moins d'une heure, minimum lors d'application à 3 jours.

Ce temps de latence est-il dû au fait que le produit entre dans l'oeuf, mais n'agit pas sur l'embryon tant que les structures-cibles de ce dernier ne sont pas constituées, ou bien est-il dû au fait que le produit ne peut pénétrer l'oeuf tant que certaines conditions de perméabilité du chorion ne sont pas réalisées ? Ces deux possibilités pouvant être concomitantes. Ou bien encore, la perméabilité du chorion ne serait pas nulle pour les oeufs âgés de moins d'une heure et irait en croissant jusqu'à l'âge de 3 jours ?

L'existence même de ce temps de latence ne produirait-il pas une perte d'activité du produit ? soit par métabolisation de l'HJA à l'intérieur de l'oeuf, soit sous l'effet des conditions régnant dans l'étuve, et où le facteur le plus influent est la température. Cette supposition de la dégradation des produits durant l'incubation des oeufs expliquerait qu'un traitement pratiqué quand le temps de latence est minimum soit, pour une dilution donnée, plus actif que lorsque le temps de latence est plus long.

α) Expériences de lavage

Le fait que les substances étudiées soient en émulsion dans l'eau rend possible le lavage des oeufs préalablement traités par l'altozar (A_2) à 1 % ou par l'altosid (I_2) à 1 ‰. Au moment voulu, ils sont déposés dans un petit tamis en toile de 0,25 mm d'ouverture de maille et arrosés à la pisette par 250 cc d'eau distillée élevée à la tempéra-

ture d'incubation (35°C). Récupérés au pinceau, ils sont disposés dans une nouvelle boîte d'incubation et replacés en étuve.

La quantité d'eau utilisée est suffisante pour que le chorion ne puisse être soupçonné de porter encore du produit. En effet, certains oeufs lavés, mis à tremper dans une quantité d'eau juste suffisante pour y immerger ensuite durant une heure un lot d'oeufs témoins âgés de 3 jours (au maximum de la sensibilité), n'ont pas entraîné chez ces derniers d'atteinte caractéristique de l'altosid ou de l'altozar.

Les deux dilutions utilisées, ovicides à 100 % pour des oeufs âgés de moins d'une heure à 3 jours, sont choisies pour qu'une interprétation puisse être faite dès constatation d'éclosions. Les traitements concernent des oeufs âgés de moins d'une heure, de 24 heures et de 48 heures. Les lavages sont effectués à 6 heures d'intervalle.

• Dans le cas du traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure, j'ai constaté les taux d'éclosion consignés dans le tableau suivant :

TRAITEMENT D'OEUFS AGES DE MOINS D'UNE HEURE PAR	LAVAGE PRATIQUÉ APRES UNE INCUBATION DE				
	12 heures	18 heures	24 heures	30 heures	36heures
Altozar à 1 %	82 %		89,8 %	0,6 %	
Altosid à 1‰	24 %	6,4 %	1,5 %	0 %	0 %

On peut en conclure qu'il faut entre 24 heures et 30 heures à l'altozar pour pénétrer à l'intérieur des oeufs en quantité suffisante pour que l'on retrouve une activité ovicide normale. Un contact de 30 heures montre un taux d'éclosion pratiquement nul.

L'altosid, par contre, pénètre plus rapidement puisque un contact de 12 heures provoque déjà l'arrêt du développement dans 76 % des cas. Le taux d'éclosion baisse ensuite de façon moins brutale que pour l'altozar.

Dans un cas comme dans l'autre, il est important de relever que le produit est à l'intérieur de l'oeuf et en quantité suffisante pour être ovicide à 100 %, plus de 48 heures avant que le développement embryonnaire ne soit stoppé.

L'hypothèse d'une possible dégradation partielle du produit avant qu'il ne pénètre dans l'oeuf n'est plus à envisager que pour une durée de 24 heures au maximum. Mais l'hypothèse d'une dégradation in-situ n'est toujours pas vérifiée, de même que l'on peut se demander où se fait dans l'oeuf le séjour du produit et quelles sont ses voies de pénétration.

• Dans le cas d'oeufs traités à l'âge de 24 heures, le lavage entraîne les taux d'éclosions suivants :

OEUFS TRAITES A L'AGE DE 24 HEURES PAR	LAVAGE PRATIQUÉ APRES UNE INCUBATION DE 12 h	18 h	24 h	30 h
Altozar à 1 %	45,6 %		47,5 %	6,45 %
Altosid à 1 ‰	32,8 %	0 %	0 %	

On peut en déduire que le temps nécessaire à la pénétration de l'altozar en quantité suffisante pour que l'on retrouve l'activité ovicide normale est toujours de 24 à 30 heures. Cependant, le taux obtenu lors du lavage après 24 heures de contact, indique que l'entrée du produit est déjà accomplie pour la moitié des oeufs. Le taux obtenu dans le cas de lavage à 12 heures est anormalement faible et doit être imputé à la manipulation, ce que confirme le tableau suivant.

Quant à l'altosid, le temps nécessaire à la pénétration semble légèrement raccourci puisqu'un lavage après 18 heures de contact n'enlève rien à l'activité escomptée.

• Les lavages d'oeufs traités à l'âge de 48 heures ont induit les taux d'éclosion suivants :

OEUFS TRAITES A L'AGE DE 48 HEURES PAR \ LAVAGE PRATIQUÉ APRES UNE INCUBATION DE	6 h	12 h	18 h	24 h	30 h
Altozar à 1 %	90 %		77 %	0 %	0 %
Altosid à 1 ‰	54 %	0 %	0 %	0 %	

Il apparaît que le temps de pénétration des produits est raccourci dans des proportions importantes, surtout pour l'altosid.

Il n'a pas été opéré sur des oeufs traités à l'âge de 72 heures car, plus on avance dans le temps et plus le degré de développement des divers oeufs d'un lot est hétérogène.

Un lavage pratiqué après 6 heures de contact avec l'altosid concernerait des sujets trop différents pour qu'un crédit soit apporté aux résultats. Avec des oeufs traités à l'âge de 48 heures, cette différence dans les développements embryonnaires existe mais est moins importante.

On peut conclure : la pénétration de l'altosid et de l'altozar à l'intérieur des oeufs de grillon demande un délai variant avec l'âge des oeufs utilisés, maximum quand les oeufs sont traités peu après la ponte. Les délais nécessaires aux deux substances sont inégaux mais le fait d'avoir utilisé des dilutions différentes n'autorise pas leur comparaison ; les viscosités des deux dilutions ne sont pas les mêmes et peuvent influer sur la vitesse de pénétration.

L'analyse des embryons morts dans l'oeuf indique de plus qu'un autre délai semble nécessaire avant que l'action sur l'embryon soit décelable, ce que confirme l'étude histologique.

β) Expériences de transfert d'activité

Leur but est de savoir si le produit utilisé conserve longtemps son activité ovicide après qu'il ait pénétré l'oeuf.

Protocole

. Un lot d'oeufs (O_1) traités à l'altosid est mis à incuber dans l'étuve à 35°C.

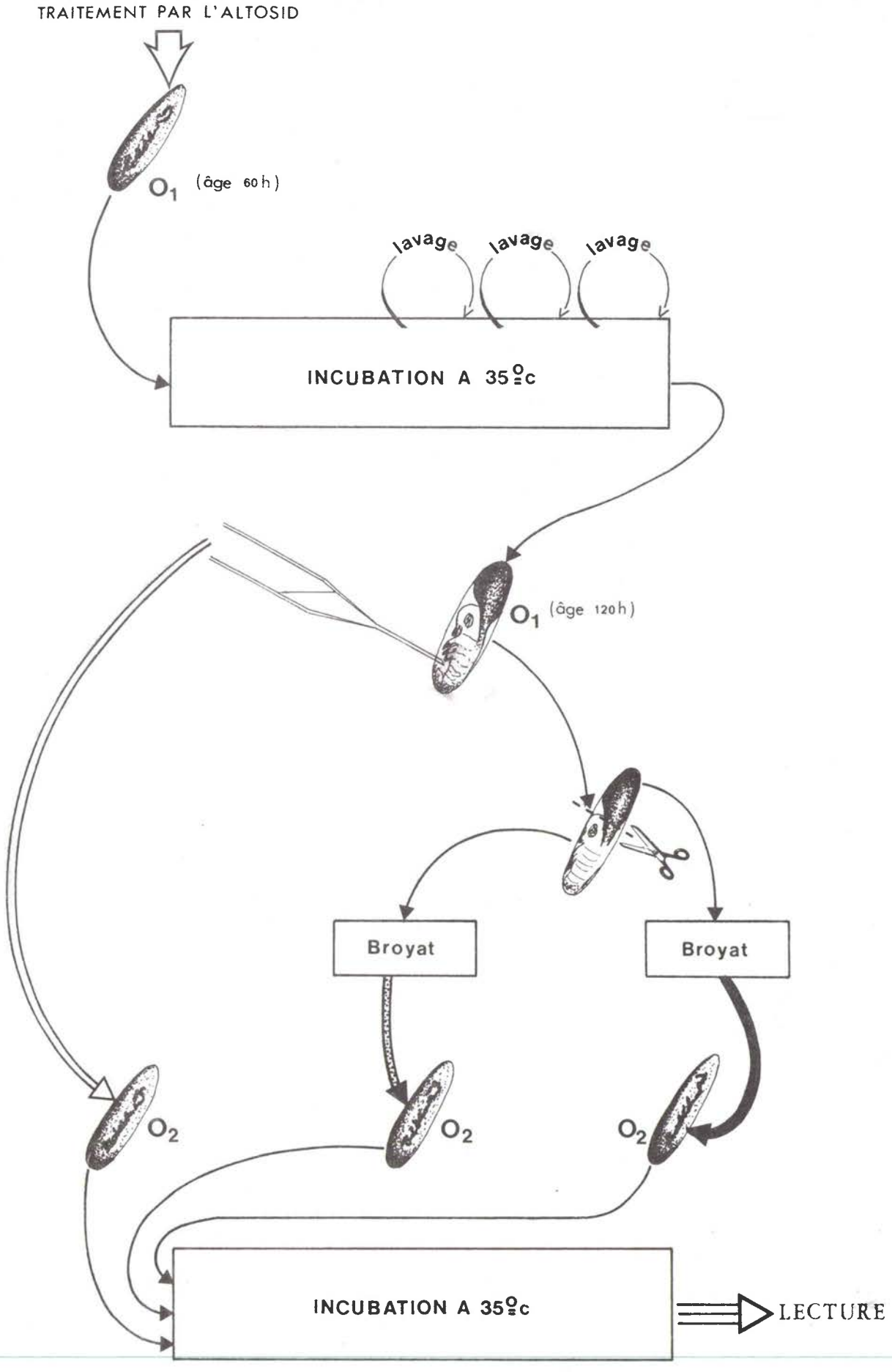
. En tenant compte du temps de pénétration déterminé précedemment pour ce produit, ils sont lavés 3 fois à l'eau distillée à 35°, et changés de boite d'incubation après chaque lavage. Ainsi, l'altosid porté extérieurement par le chorion est éliminé, ce qui est vérifié sur un lot d'oeufs témoins (T_1) âgés de 60 heures (période la plus sensible) badigeonnés par une partie de la dernière eau de rinçage : aucun effet n'est constaté.

. Quand les oeufs O_1 atteignent l'âge de 5 jours, le liquide extra-embryonnaire est prélevé en piquant le chorion entre les pattes au moyen d'une micropipette de verre étiré. Chaque oeuf est ensuite sectionné juste au-dessus de l'embryon. Les moitiés d'oeufs contenant l'embryon et celles contenant le vitellus sont broyées séparément.

- Le liquide embryonnaire
- le broyat d'embryon
- le broyat de vitellus sont appliqués sur 3 lots (O_2) d'oeufs âgés de 60 heures qui sont ensuite remis à incuber à 35°.

. Un second essai témoin T_2 consiste à badigeonner des oeufs âgés de 60 heures par des broyats d'embryons de 5 jours non traités de façon à montrer qu'une possible présence d'hormone juvénile maternelle, ou une secrétion par l'embryon ne peut être décelée par cette manipulation.

Voir schéma explicatif page suivante.


TRAITEMENT PAR L'ALTOSID
O1 (âge 60 h)
lavage
lavage
lavage
INCUBATION A 35°c
O1 (âge 120 h)
Broyat
Broyat
O2
O2
O2
INCUBATION A 35°c
LECTURE

Résultats

- Pour l'interprétation n'ont été retenus que l'observation de malformations dans les lots O_2. En effet, le taux d'éclosion ne peut constituer un critère, quand on considère la portée de l'action bactérienne engendrée par le dépôt d'un broyat d'oeufs sur d'autres, sans qu'ait pu être opérée une quelconque stérilisation.

- T_1 et T_2 avec des taux d'éclosions différents, n'ont montré aucune atteinte qui puisse rappeler les effets produits par l'altosid.

- Un lot O_1 traité à l'âge de 60 heures par de l'altosid à 10 % a montré les résultats suivants sur O_2 :

- le liquide extra-embryonnaire ne produit aucun effet
- avec le broyat d'embryons et le broyat de vitellus, aucune éclosion ne se produit, tous les embryons sont morts, peu après la catatrepsis et présentent des pattes -moignons, noires.

- Un autre lot O_1 traité à l'âge de 60 heures par de l'altosid à 1 ‰ a, quant à lui entraîné la production d'embryons malformés dans les O_2

- à un taux de 13 % après application du broyat d'embryon
- à un taux de 55 % après application du broyat de vitellus, le liquide extra-embryonnaire ne produisant pas d'effet. (on note que les taux d'éclosion sont plus élevés que précédemment.

- Si on traite O_1 à l'âge de 60 heures par de l'altosid au 1/5000ème, on retrouve quelques atteintes sur les embryons d'O_2 traités par les broyats d'embryons et de vitellus. On n'en retrouve aucune si le traitement au 1/5000ème est pratiqué sur des O_1 âgés de moins d'une heure.

Conclusions

Il est donc possible de retrouver de l'altosid actif dans les oeufs plus de 48 heures après le traitement, on en retrouve d'autant plus que la dilution utilisée au départ est faible. Par ailleurs, il semble que le produit s'accumule plus dans le vitellus que dans le

tissu embryonnaire. Il serait intéressant de déterminer le devenir de l'HJA dans l'oeuf par des techniques plus fines.

γ) Expériences de traitement topique

Elles sont destinées à déterminer si le chorion présente une perméabilité uniforme vis-à-vis de l'altosid, en en déposant une gouttelette soit du côté dorsal (face concave) soit du côté ventral (face convexe), et dans chaque cas, vers le pôle antérieur, vers le pôle postérieur, à mi-distance.

Les oeufs utilisés pour ces expériences sont âgés de 24 heures de telle façon que lors de l'application de l'altosid, la bandelette embryonnaire soit formée. Au bout des 12 - 18 heures déterminées précédemment pour la pénétration du produit, l'embryon a une position peu différente et ne s'est pas encore enfoncé dans la masse vitelline.

-Le dépôt d'une goutte d'altosid pur, ou bien d'altosid à 1 ‰ entraîne la mort de tous les oeufs utilisés quel que soit le point de dépôt, les embryons présentant les atteintes habituelles sur les appendices sont bloqués dans leur développement peu après la catatrepsis. L'utilisation d'une quantité de produit, somme toute importante ne permet aucune conclusion ; il semble donc que la diffusion de l'HJA dans l'oeuf soit grande.

-Lorsque une goutte d'altosid au 1/5000ème est déposée, des particularités se manifestent :

L'effet ovicide est maximal avec une application au pôle antérieur de l'oeuf, minimal au pôle postérieur, identique qu'elle soit dorsale ou ventrale. Il est à rappeler que la ligne de déhiscence du chorion est située au pôle antérieur où elle délimite une calotte.

Pour parfaire ces manipulations et pour étayer les expériences de transfert d'activité, l'observation du chorion en microscopie électronique à balayage est à envisager afin de rechercher, d'abord si la surface est homogène, ensuite s'il intervient des modifications structurales au cours du développement (ce qui est à suspecter quand on se rappelle que durant l'embryogénèse, le volume de l'oeuf double).

pour les molécules nouvelles, qui, de plus, sont associées dans le cas présent, à d'autres substances qui n'ont peut-être pas les mêmes mérites ?

A titre indicatif, disposer une coupelle contenant de l'altosid à 1 ‰ contre un tube à rayons ultra-violets de 30 watts durant une demi-heure n'a pas entamé l'activité ovicide tandis que des oeufs témoins exposés durant 10 minutes, à plus de deux mètres, ne se sont pas développés.

• Par ailleurs, l'hypothèse selon laquelle la conservation du pouvoir ovicide est certainement en rapport avec le mode de stockage de l'HJA a été émise plus haut lorsqu'il s'est avéré que des échantillons d'une même substance manifestaient des activités différentes.

Mise à part la baisse constatée trois mois après réception pour I_3, l'activité des échantillons n'a pas varié durant la période d'expérimentation. Par contre, les dilutions conservées dans les mêmes conditions ont montré des modifications d'autant plus importantes que les dilutions étaient grandes.

Ainsi, la dilution d'altozar (A_1) au 1/200ème, normalement ovicide à 100 % sur des oeufs âgés de moins d'une heure, permet 86 % d'éclosions après un séjour de 5 mois au réfrigérateur.

(A_2) au 1/400ème également ovicide à 100 % sur des oeufs de moins d'une heure, permet 40 % d'éclosions après un mois de séjour au réfrigérateur, 66 % après deux mois.

(A_2) à 1 ‰ permet normalement 27,7 % d'éclosions, et 91 % après 1 mois de séjour au réfrigérateur.

(I_2) à 1 ‰ permet normalement 20 % d'éclosions, et 79 % après deux mois et demi de séjour au réfrigérateur.

Trois mois de stockage du produit n'entament pas l'activité de l'altosid (I_1) au 1/500ème, mais si on se sert de cette solution pour faire une dilution plus forte, au 1/5000ème par exemple, cette dernière se révèle avoir un pouvoir ovicide beaucoup plus faible qu'une dilution équivalente faite directement à partir de l'échantillon.

Les dilutions examinées ci-dessus, appliquées après les mêmes temps de stockage sur des oeufs de 3 jours se sont avérées être encore ovicides à 100 %.

Ces dilutions, malgré la température de conservation, montrent des contaminations bactériennes. Des milieux (bouillon glucosé, bouillon lactosé, stock culture agar Difco•) ensemencés par les dilutions les plus grandes permettent des développements bactériens importants, tandis que les dilutions les moins grandes semblent moins contaminées. Il n'a jamais été observé de développement bactérien après ensemencement par les échantillons purs.

c) Etude histologique

Elle est entreprise avec les mêmes dilutions que celles utilisées par l'histologie des oeufs traités avant l'âge d'une heure. L'application en est faite d'une part sur des oeufs incubés depuis 60 heures, et donc au maximum de leur sensibilité, d'autre part, sur des oeufs embryonnés âgés de 5 jours c'est-à-dire en train de former leur tube digestif (qui s'est révélé être une structure-cible) Dans ce dernier cas, les dilutions sont, du point de vue des taux d'éclosions, complètement inactives, cela n'exclut pas une action qui pourrait avoir des conséquences après l'éclosion.

— l'altozar, dilué au 1/100ème, se manifeste, sur le plan histologique, de façon comparable lors du traitement d'oeufs âgés de 60 heures, ou de moins d'une heure. L'augmentation d'activité constatée pour les diverses dilutions lorsqu'elles sont appliquées sur les oeufs âgés de 60 heures, que ce soit au niveau du taux des éclosions ou au niveau de l'état d'avancement atteint par le développement embryonnaire des oeufs non éclos, ne se traduit pas par une exacerbation des effets histologiques.

— l'altosid agit au niveau des mêmes structures embryonnaires que lors des traitements précoces.

• Stock culture agar Difco : extrait de boeuf : 500 g, protéose peptone : 10 g, gélatine : 10 g, caséine : 5 g, dextrose : 0,5 g, phosphate disodique : 4 g, citrate de sodium : 3 g, agar : 15 g, pour 1 litre d'eau

Bouillon glucosé : pour 1 litre, peptone : 10 g, extrait de boeuf : 1g, chlorure de sodium : 5 g, glucose : 5 g.

Bouillon lactosé : pour 1 litre, peptone : 10 g, extrait de boeuf : 1g, chlorure de sodium : 5 g, lactose : 5 g.

α) Action sur les appendices et le tégument (voir planche 12, page 85)

Il n'apparaît des plages de cuticule anormale que sur des embryons âgés au moins de 4 jours, soit 36 heures après le traitement (dans le cas du traitement des oeufs âgés de moins d'une heure, les premières cellules ectodermiques suspectes sont décelées 72 heures plus tard). Les cellules ectodermiques situées sous ces plages de cuticule s'avèrent plus claires que les cellules voisines. L'évolution anormale de cette cuticule se fait rapidement et aboutit à un résultat tout à fait comparable à celui obtenu par traitement des oeufs âgés de moins d'une heure. Le développement des appendices est stoppé, les plages de cuticule deviennent de plus en plus brunes, de plus en plus épaisses et de plus en plus étendues. Dans la plupart des cas, les pattes sont réduites à des petits moignons difformes et noirs.

Les antennes sont aussi affectées, présentant une réduction du nombre des articles dont la cuticule, noirâtre, a un aspect plissoté.

On retrouve aussi quelques atteintes au niveau du revêtement abdominal, localisées sur les sternites.

β) Action sur le système nerveux

Quelques noyaux nécrosés sont repérés au sein du tissu nerveux (planche 13, page 86) mais uniquement sur des sujets âgés de 4 jours, ils disparaissent par la suite. Le phénomène n'est pas différent de ce qui est observable chez les témoins. Cependant, on retrouve, sur les sujets fixés le plus tardivement, le même état d'évolution de la chaîne nerveuse que lors du traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure. Seule la partie antérieure est formée de ganglions bien individualisés, les ganglions abdominaux sont télescopés. Il faut considérer ce résultat non pas comme découlant directement de l'action du JHA, mais comme une conséquence de l'arrêt du développement embryonnaire. Le fait que l'apparition des noyaux nécrosés dans le tissu nerveux ne soit observable qu'à la suite du traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure, laisse supposer que les cellules à vocation nerveuses, ont une sensibilité

plus grande au début de la constitution de la chaîne.

γ) Action au niveau du tube digestif

- Traitement pratiqué à 60 heures (planches 13 et 14, pages 86 et 87

Le stomodéum ne montre pas de cellules nécrosées mais conserve jusqu'au bout son orientation primitive dorso-ventrale, avec toutefois constitution d'un double coude dû, vraisemblablement, au fait que le stomodéum poursuit sa croissance alors que le développement d'ensemble de l'embryon est arrêté. La valvule cardiaque est quelquefois entourée des noyaux nécrosés existant chez les témoins et interprétés comme représentant le mécanisme de phagocytose des cellules de la séreuse. Le plus souvent, ces noyaux ne sont pas observés.

L'endoderme se met en place sans retard dans les oeufs traités, mais dès l'âge de 6 jours, il est constitué de cellules hautes à cytoplasme dense qui lui confèrent un aspect massif, tout comme celui rencontré lors du traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure. Par endroit, ces cellules montrent une vacuole apicale et dans ces régions ne persiste pratiquement plus de vitellus. Ailleurs, en regard des globules de vitellus, les cellules endodermiques sont dépourvues de vacuole.

- Traitement d'oeufs incubés depuis 5 jours (planche 15, page 88)

L'application n'entraîne aucune malformation au niveau du tube digestif tant du point de vue histologique que de l'aspect général. L'endoderme est formé de cellules petites, arrangées en amas dans la partie médiane du mésentéron. Dans la partie antérieure, les cellules ont un cytoplasme plus dense.

Il serait sûrement intéressant de pouvoir préciser si l'absence de réaction au niveau du tube digestif est dû à une imperméabilisation du chorion et des membranes de l'embryon, ou bien à une perte de sensibilité de cet organe-cible, ou du moins à une baisse de sensibilité qu'un traitement par des doses encore plus fortes aurait pu montrer.

δ) Actions diverses

- la musculature est peu développée dans le thorax et l'endoderme tandis que les pattes en sont dépourvues.

- les oenocytes présentent très fréquemment des noyaux pycnotiques tout comme lors des traitements d'oeufs âgés de moins d'une heure.

LEGENDE DE LA PLANCHE 12

Histologie des malformations présentées par des embryons de grillon formés dans des oeufs traités après 60 heures d'incubation à 35°C par l'altosid au 1/500ème.

a : Premières plaques de cuticule anormale sur des articles d'une patte d'embryon âgé de 4 jours (flèches)

b : Article fortement atteint chez un embryon âgé de 4 jours et 7 heures.

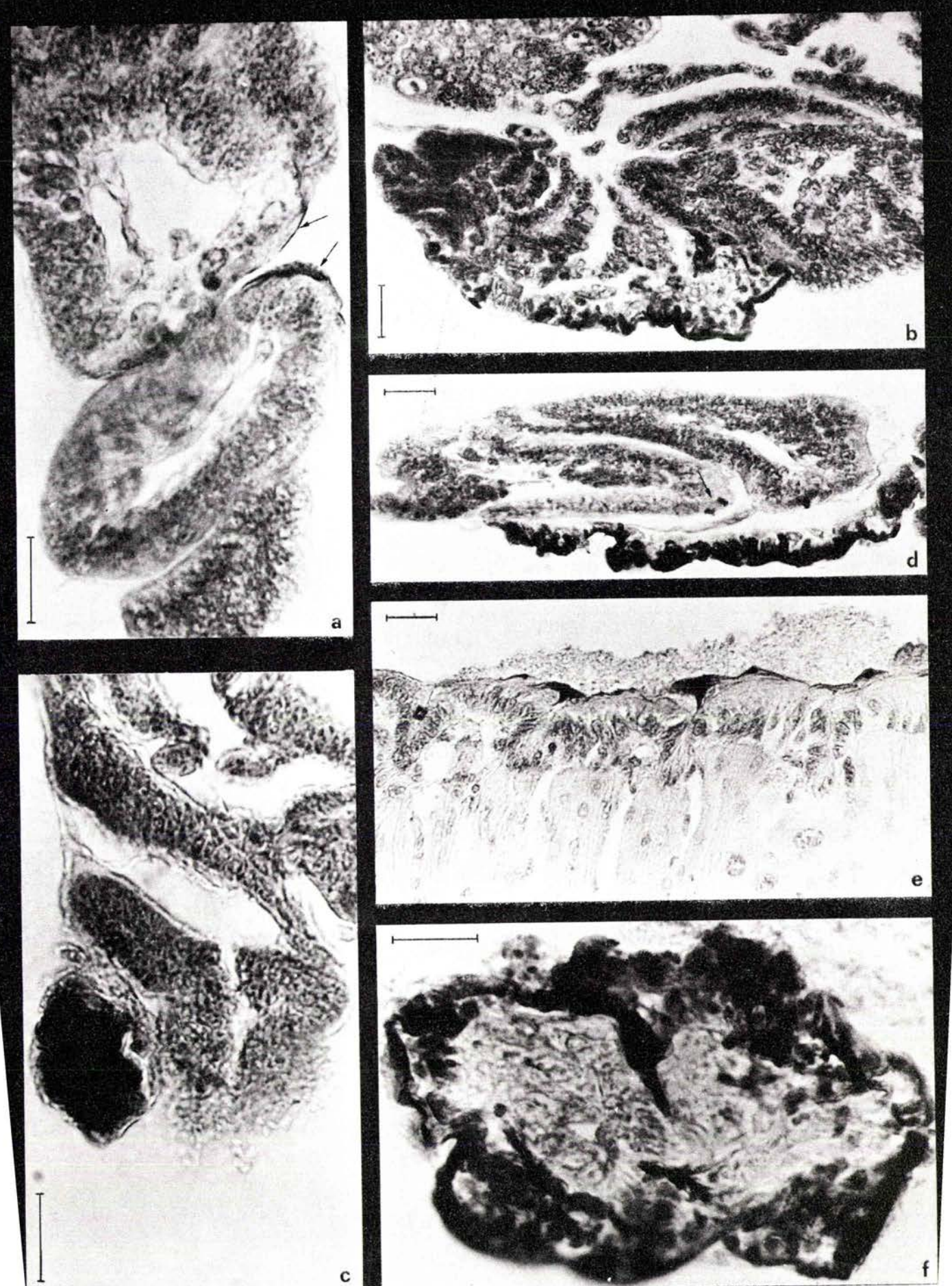
c : Bourgeon de cuticule anormale observée à l'âge de 4 jours e 18 heures sur une troisième patte thoracique.

d : Cuticule décollée et fortement mélanisée. Certaines cellules de l'ectoderme appendiculaire sous-jacent sont en division (flèche) bien que le tissu ait un aspect tout à fait anormal. Age de l'embryon : 5 jours, 1 heure.

e : Cet embryon âgé de 5 jours et 18 heures montre une évolution anormale de la cuticule des sternites abdominaux.

f : Coupe transversale d'une patte d'embryon âgé de 6 jours 6 heures montrant l'ampleur de l'effet sur le revêtement cuticulaire.

Le tiret représente 20 µ


a
b
c
d
e
f

LEGENDE DE LA PLANCHE 13

Histologie d'embryons de grillon formés dans des oeufs traités après 60 heures d'incubation à 35°C, par l'altosid au 1/500ème.

a : Coupe sagittale de la chaîne nerveuse d'un embryon âgé de 4 jours. Au niveau du thorax, les ganglions ont un aspect peu différent des témoins.

b : Coupe frontale tangentielle des ganglions cérébroïdes d'un spécimen de même âge dévoilant des noyaux pycnotiques dans le cortex ganglionnaire (flèche)

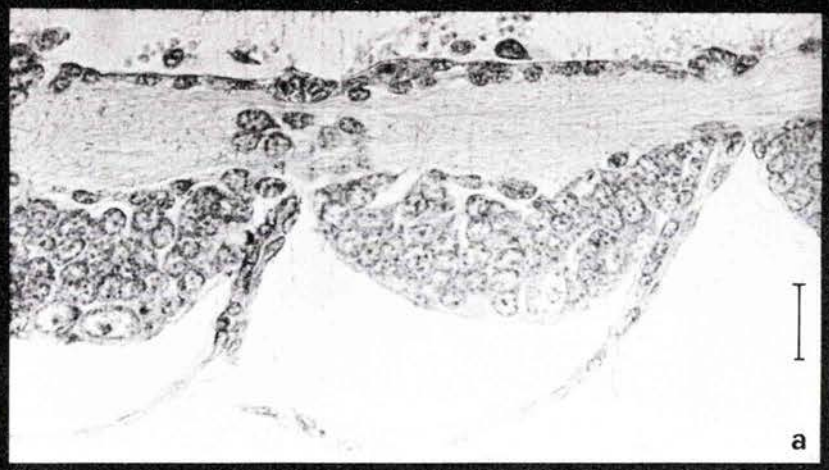
c : Coupe transversale du mésentéron d'un embryon âgé de 4 jours et demi, montrant la mise en place de l'endoderme dont une cellule a été fixée en métaphase (petite flèche). On retrouve des vitellophages (grosse flèche) disposés contre la paroi du mésentéron.

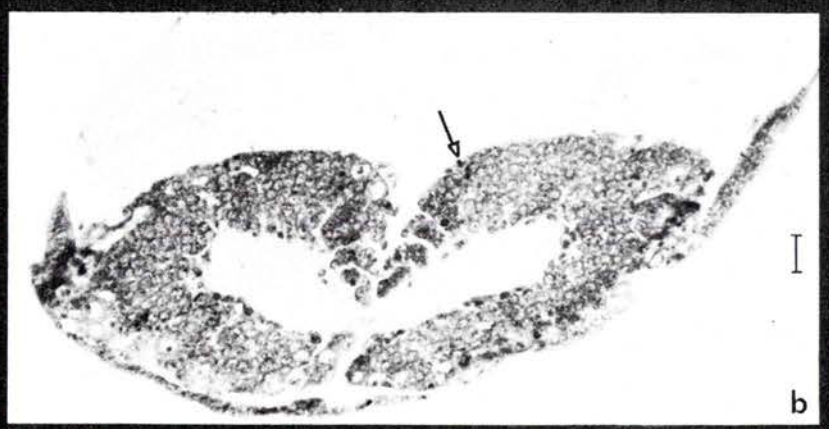
d : Coupe sagittale entière d'un embryon âgé de 6 mois et 18 heures sur laquelle apparaît nettement la direction dorso-ventrale du stomodéum (flèche) et l'abouchement en position céphalique de la valvule cardiaque.

e : Coupe identique dans un autre spécimen de même âge. La valvule (flèche) n'est pas entourée des noyaux nécrosés que montrerait un témoin.

f : Un autre exemple, où la coupe parasagittale montre ces noyaux nécrosés (petites flèches) et où l'endoderme montre une organisation très structurée, avec des cellules épaissies, certaines étant pourvues d'un apex vacuolaire (grosse flèche). (st : stomodéum).

Le tiret représente 20 µ


a


b


c


d


e


f
st.

LEGENDE DE LA PLANCHE 14

Histologie d'embryons de grillon formés dans des oeufs traités après 60 heures d'incubation à 35°C par l'altosid au 1/500ème.

a : Coupe longitudinale du mésentéron d'un embryon âgé de 6 jours. Les réserves sont encore importantes. L'endoderme est formé de cellules hautes et à cytoplasme dense.

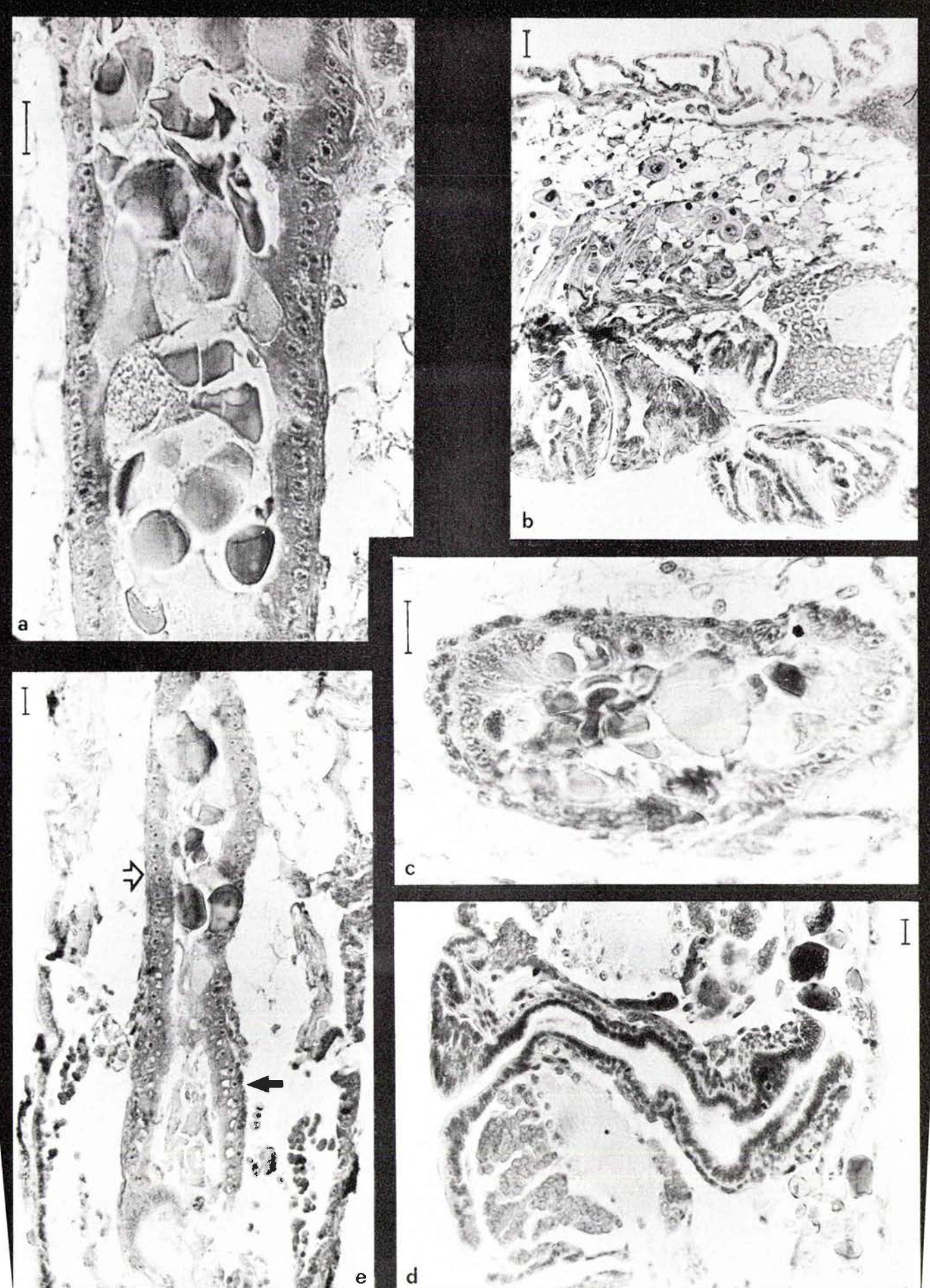
b : Coupe parasagittale d'un sujet âgé de 6 jours et demi De nombreux oenocytes ont leur noyau en état pycnotique, chromatine condensée.

c : Coupe transversale du mésentéron à l'âge de 6 jours et demi dans laquelle apparaît la disposition des cellules endodermiques et l'état hétérogène des réserves.

d : Dans cette coupe sagittale de la tête d'un sujet de même âge, le stomodéum coupé sur toute sa longueur conserve sa direction dorso-ventrale. L'abouchement de la valvule cardiaque est resté en position dorsale.

e : Coupe longitudinale du mésentéron à l'âge de 7 jours. A certains niveaux, les cellules endodermiques ont un pôle vacuolaire et les réserves en regard semblent digérées. (flèche noire). A d'autres endroits, le vitellus persiste en globules et les cellules endodermiques voisines sont dépourvues de vacuoles (flèche blanche). Ceci traduit des différences d'activité tout au long du mésentéron.

Le tiret représente 20 µ


a
b
c
d
e

LEGENDE DE LA PLANCHE 15

Histologie du tube digestif d'embryons de grillons formés dans des oeufs traités après 5 jours d'incubation à 35°C par l'Altosid au 1/500ème.

a : Valvule cardiaque à l'âge de 5 jours et demi coupée longitudinalement, on n'observe que quelques initiales endodermiques (flèche)

b : Valvule cardiaque à l'âge de 6 jours, la mise en place de l'endoderme (flèches) s'effectue à la racine valvulaire dans le tube digestif moyen encore rempli par le vitellus.

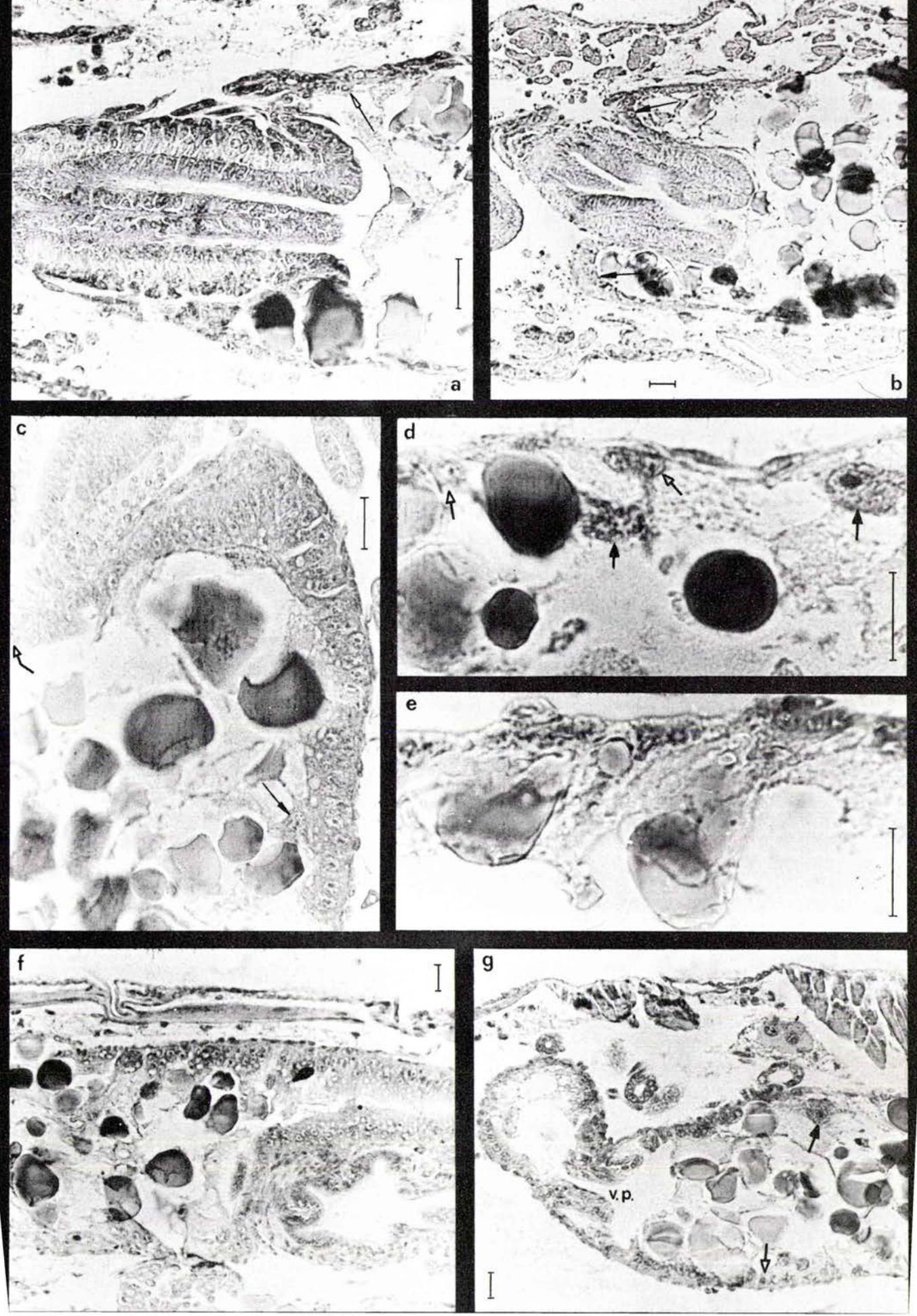
c : Endoderme au voisinage de la valvule cardiaque (flèche blanche) à l'âge de 6 jours et demi, cellules arrangées en épithélium cylindrique, certaines montrant une vacuole apicale. Le tube digestif moyen est encore rempli de réserves, certains vitellophages sont disposés contre l'endoderme (flèche noire).

d : Partie moyenne du mésentéron à l'âge de 6 jours et 18 heures. L'endoderme n'est présent que sous la forme d'ilôts (flèches blanches). Les vitellophages sont toujours disposés contre la paroi mésentérique (flèche noire).

e : Mésentéron moyen à l'âge de 7 jours. Les cellules endodermiques ne sont pas arrangées en épithélium cylindrique comme c'était le cas pour les sujets traités immédiatement après la ponte ou à l'âge de 60 heures.

f : Aspect de l'endoderme mis en place au voisinage de la valvule cardiaque à l'âge de 7 jours. Les réserves restent importantes.

g : Aspect de l'endoderme dans le mésentéron postérieur. Au voisinage, de la valvule pylorique (v.p.), les cellules sont arrangées en épithélium (flèche blanche) moins régulier que dans la partie antérieure du mésentéron. On trouve également des vitellophages disposés contre la paroi (flèche noire)


a
b
c
d
e
f
g
v.p.

LEGENDE DE LA PLANCHE 16

Histologie d'embryons témoins de *Gryllus bimaculatus*

a : Coupe transversale métathoracique d'un embryon âgé de 4 jours. La fermeture dorsale n'a pas encore atteint ce niveau et l'on peut apprécier la faible épaisseur de la paroi du mésentéron.

b : Coupe transversale d'un ganglion nerveux d'embryon âgé de 4 jours. La flèche indique un des noyaux pycnotiques qu'à cet âge, on peut trouver chez les témoins.

c : Coupe longitudinale de la chaîne nerveuse abdominale au même âge. On remarque la différence d'épaisseur entre les régions dorsale et ventrale du cortex ganglionnaire.

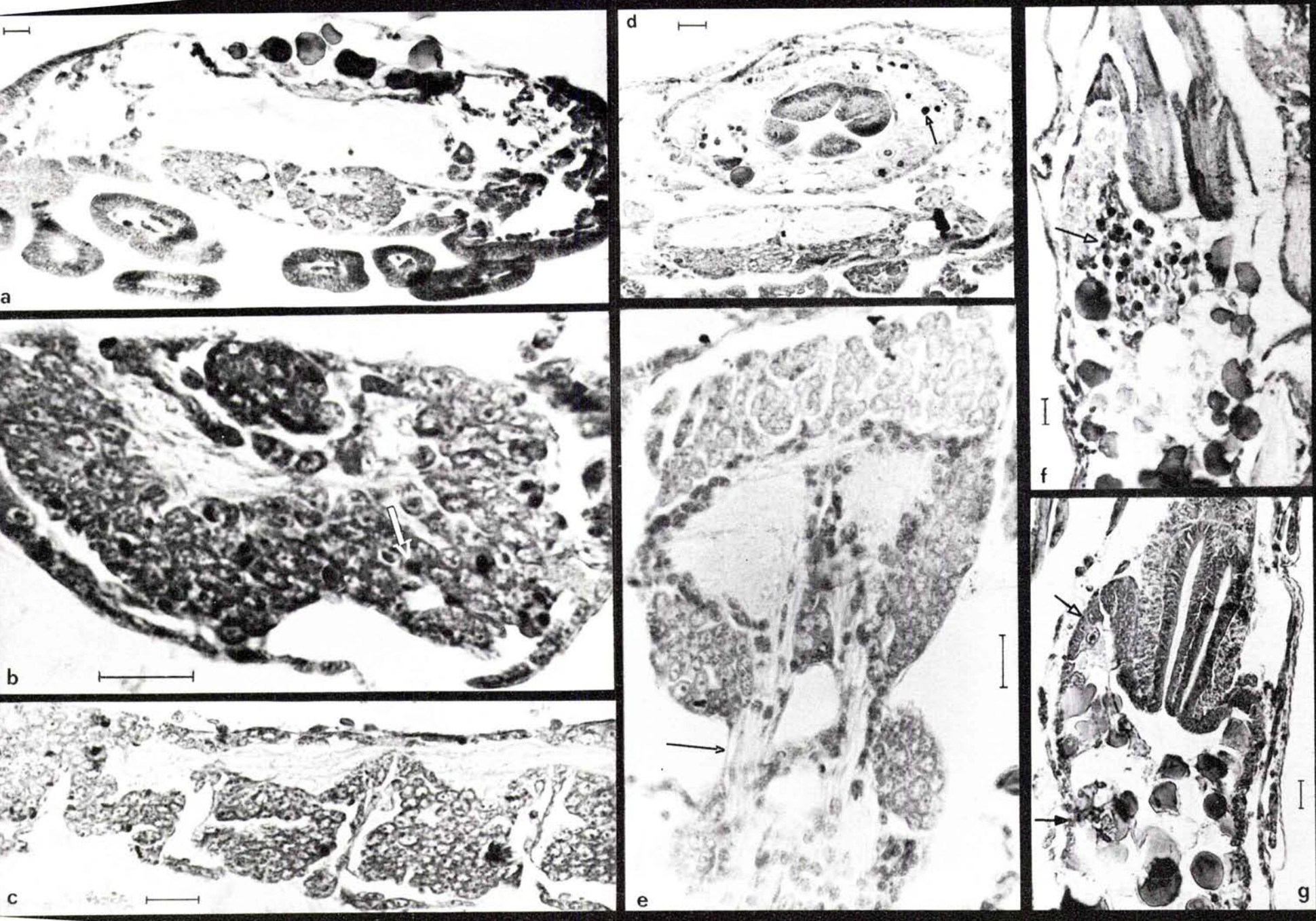
d : Embryon âgé de 5 jours, coupe transversale au niveau de la jonction du stomodéum avec le mésentéron (se reporter au cliché f). La flèche indique les noyaux pycnotiques que l'on rencontre dans le vitellus de la partie la plus antérieure du mésentéron.

e : Coupe longitudinale de la chaîne nerveuse au même âge, on assiste à la constitution des filets nerveux (flèche)

f : Coupe longitudinale de la valvule cardiaque et du mésentéron à l'âge de 5 jours (voir d.)

g : Même coupe que f, mais à l'âge de 6 jours. On n'observe plus de noyaux pycnotiques. Noter l'épaississement de la paroi du mésentéron dans sa partie antérieure (flèche blanche), la paroi plus postérieure restant fixe (flèche noire).

Le tiret représente 20 μ


a
b
c
d
e
f
g

LEGENDE DE LA PLANCHE 17

Histologie d'embryons témoins de *Gryllus bimaculatus* âgés de 6 jours et demi.

a : Coupe transversale au niveau de la valvule cardiaque (v.c.) et des coeca digestifs (coe). On peut apprécier l'épaisseur des revêtement épithéliaux dont le cliché b est un agrandissement (gg : ganglion nerveux).

b : A gauche, section dans l'épithélium de la valvule, à droite, section de la paroi du coecum digestif.

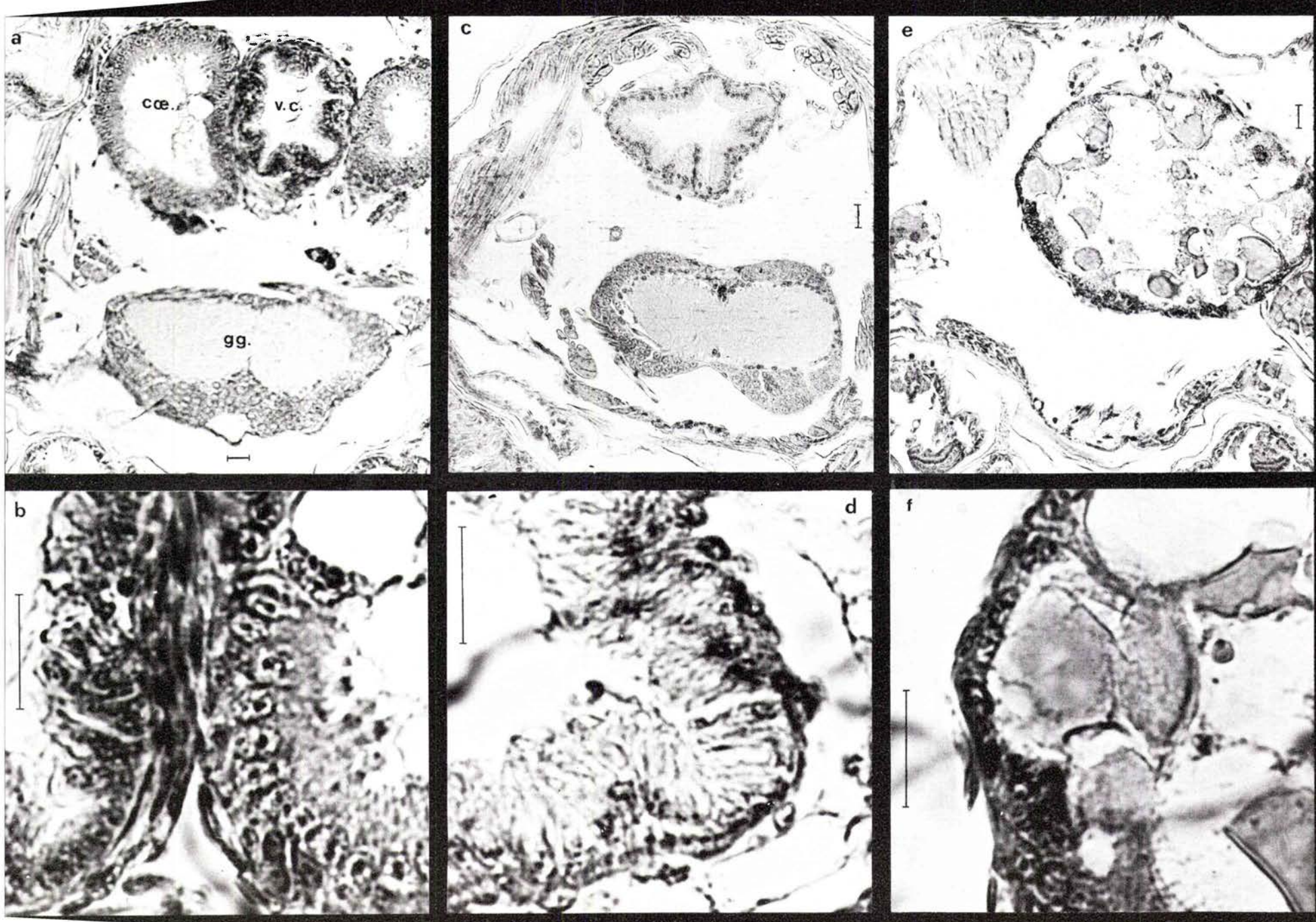
c : Coupe transversale au niveau du stomodéum. Le revêtement est aussi épais que celui observé dans les coeca.

d : Section de l'épithélium de cette partie du tube digestif.

e : Coupe transversale au niveau du mésentéron moyen.

f : Section de la paroi digestive dans cette région. L'épaisseur de l'épithélium n'est pas constante, le plus souvent faible par rapport aux autres niveaux illustrés par les clichés précédents.

Le tiret représente 20 μ


a
cœ.
v.c.
gg.
c
e
b
d
f

LEGENDE DE LA PLANCHE 18

Histologie d'embryons témoins de *Gryllus bimaculatus*.

a : Coupe transversale du mésentéron moyen à l'âge de 6 jours 17 h. La paroi est toujours d'épaisseur irrégulière, elle produit des massifs cellulaires dirigés de façon centripète. (t.m. : tubes de Malpighi).

b : Section de l'épithélium du coecum digestif à l'âge de 7 jours; d'épaisseur toujours aussi régulière, il est formé de cellules prismatiques à noyau basal.

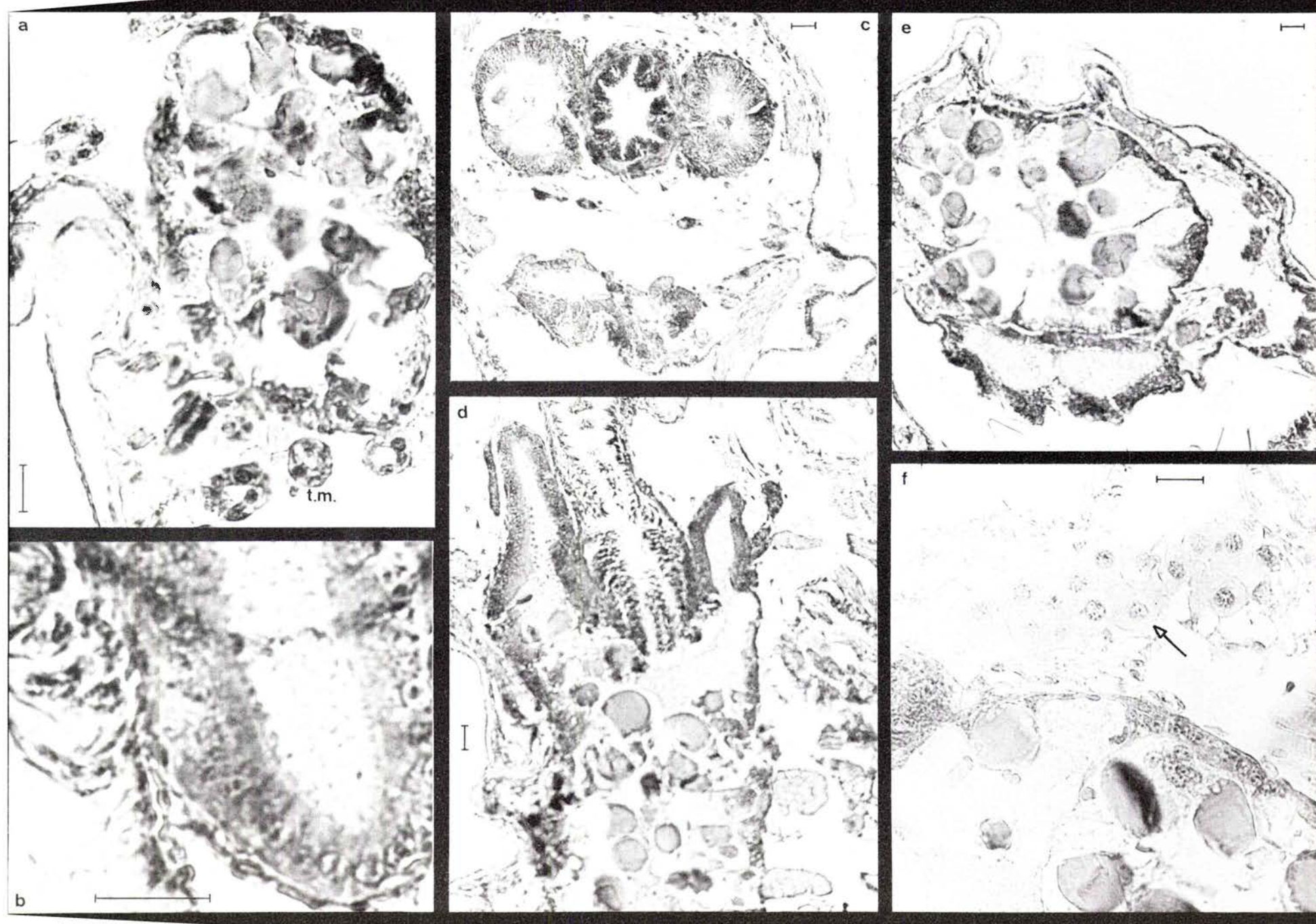
c : Sections transversales de la valvule cardiaque et des coeca digestifs à l'âge de 7 jours 3 heures.

d : Coupe longitudinale correspondante sur laquelle apparaît nettement la localisation de l'épaississement de la paroi digestive au niveau des coeca. Immédiatement en arrière de ceux-ci, on rencontre un épithélium beaucoup plus fin.

e : Coupe transversale du mésentéron moyen d'un embryon âgé de 7 jours et 3 heures.

f : Coupe transversale partielle du mésentéron moyen immédiatement avant éclosion. L'endoderme a conservé son aspect : fine épaisseur avec émission de prolongements centripètes. On rencontre encore à ce stade des grains de vitellus entiers. La flèche indique un groupement d'oenocytes.

Le tiret représente 20 µ


a
t.m.
b
c
d
e
f

C - CONCLUSIONS ET DISCUSSION

Nombreux sont les travaux comparant, sur une même espèce d'insecte, les activités de différents mimétiques de l'hormone juvénile, mais l'application est faite le plus souvent sur les adultes ou les larves et il a pu être montré (RETNAKARAN, 1970) que, parmi un lot de JHA, la substance la plus ovicide n'est pas obligatoirement celle ayant manifesté par ailleurs le plus fort pouvoir juvénilisant.

L'action sur le développement embryonnaire a été étudié sur quelques espèces, pour des analogues différents, sans que soit faite la confrontation des pouvoirs ovicides respectifs, aucun test de l'activité ovicide n'étant adopté de façon générale. C'est dans ce but que j'ai proposé (CROCHARD, 1975) la définition du test ovicide grillon, qui me permet aujourd'hui de comparer l'action du farnesol et des divers échantillons d'altosid et d'altozar.

Les résultats obtenus indiquent, que ces substances manifestent des pouvoirs ovicides distincts : la moins ovicide est le farnesol, la plus ovicide l'altosid.

Cependant, il a été démontré que des échantillons d'une même substance présentaient des activités différentes. Aussi, il me paraît nécessaire de définir parallélement des conditions de conservation et de stockage préalablement à toute évaluation intrinsèque du pouvoir ovicide d'un HJA. Si ROUSSEL (1975_2) ne constate aucune baisse d'activité après 4 mois 1/2 de conservation d'hormone juvénile synthétique en C18 à 5°. WIGGLESWORTH (1973) ne rapporte-t-il pas que certains composés perdent plus des 2/3 de leur puissance après 2 ans de stockage au réfrigérateur ? C'est pourquoi les valeurs avancées pour les produits étudiés ne doivent être considérées que pour les échantillons testés. Il faut également considérer que l'altosid 5E et l'altozar 4E sont chacun des mélanges du HJA avec des substances pouvant avoir, de leur côté, une activité juvénilisante. Cela a déjà été montré avec certains synergistes d'insecticides (BOWERS, 1968).

L'altozar et l'altosid se sont révélés être, comme le farnesol, plus actifs lorsqu'ils sont appliqués sur des oeufs âgés de 2 à 3 jours, c'est-à-dire peu avant la catatrepsis (PIHAN et CROCHARD, 1975).

La confirmation de cette période sensible place l'action de ces HJA durant le développement embryonnaire de l'oeuf de *Gryllus*, en opposition avec les travaux existants. D'une façon générale, les études déjà réalisées attribuent à l'oeuf une sensibilité maximale lors de la ponte, puis décroissante jusqu'à s'annuler et cela pour des exemples aussi différents que :

- des oeufs d'Hétéroptères :
  - *Pyrrhocoris apterus* (RIDDIFORD, 1969, 1970_2, 1971 et 1972 ; SLAMA et WILLIAMS, 1966 ; STAAL, 1972).
  - *Eurygaster intergriceps* (POLIVANOVA, 1975)
- des oeufs de Coléoptères :
  - *Dermestes vulpinus* (STAAL, 1972)
  - *Epilachna varivestis* (WALKER et BOWERS, 1970)
- des oeufs de Lépidoptères :
  - *Hyalophora cecropia* (RIDDIFORD, 1970_1, RIDDIFORD et WILLIAMS, 1967)
- des oeufs de Diptères :
  - *Drosophila melanogaster* (SMITH et ARKING, 1975)

Dès lors qu'il existe des types de développement embryonnaire différents, il est à suspecter des particularités dans le mode d'action des mimétiques. Cependant, le dépistage de ces particularités n'est possible que lorsque certaines conditions expérimentales peuvent être remplies ; ce que le choix du grillon favorise par le nombre important d'oeufs qu'un élevage courant fournit, à la demande. Ceci permet, d'une part, d'espacer le moins possible les applications de produit et de "couvrir" ainsi tout le cours du développement, d'autre part, de multiplier les essais pour toutes les dilutions nécessaires. De plus, le développement embryonnaire dure suffisamment longtemps pour que l'instant du traitement puisse être fixé avec une précision satisfaisante.

Ainsi, l'emploi du farnesol, d'altosid ou d'altozar limité à des dilutions relativement faibles, n'aurait pas permis de mettre en évidence la période de plus forte sensibilité du développement embryon-

naire du grillon. Cela aurait entraîné une conclusion tout à fait en accord avec celles des travaux cités ci-dessus. Une même omission résulterait, pour certaines dilutions, d'applications trop espacées dans le temps. MATOLIN et ROHDENDORF (1972) ne disposant pas avec *Thermobia domestica* des mêmes facilités, durent se résoudre à suspecter seulement l'existence d'une période de plus grande sensibilité de l'oeuf à la blastokinèse•.

Le bloquage du développement embryonnaire n'intervient jamais avant la fin de la catatrepsis dans le cas de l'emploi d'altosid ou d'altozar. Avec le farnesol cela peut se produire à différents stades, suivant les dilutions utilisées et le moment de leur application.

Ces deux possibilités sont rapportées par les auteurs. SLAMA et WILLIAMS (1966), MATOLIN (1970) observent l'arrêt à divers stades chez *Pyrrhocoris apterus* après traitement d'oeufs fraîchement pondus, de même que NOVAK (1969) chez *Schistocerca gregaria* et MATOLIN et ROHDENDORF (1972) avec *Thermobia domestica*.

WALL (1974) n'obtient l'arrêt du développement de *Dysdercus fasciatus* qu'à divers moments de la blastokinèse et de la morphogénèse.

Contrairement à ce qui a pu être constaté avec le farnesol, plus l'application d'altosid ou d'altozar est proche de la catatrepsis, (tout en la précédant), plus rapidement les embryons semblent être stoppés dans le cours de leur développement.

RIDDIFORD (1972) a cru pouvoir généraliser les résultats obtenus avec *Hyalophora cecropia* (1970_1) et selon lesquels

- des traitements effectués durant la période qui précède la formation du blastoderme entraînent l'arrêt du développement au plus tôt lors de la blastokinèse.

- des traitements faits quand le blastoderme se forme produisent l'arrêt durant la morphogénèse, ou bien avant l'éclosion, ou bien déterminent une mort larvaire.

- d'autres traitements postérieurs à la formation du blastoderme mais antérieurs à la blastokinèse ne provoquent l'arrêt qu'avant l'éclosion, ou bien ne se manifestent que sous forme de mortalité larvaire.

•It cannot be excluded that the stronger effect is connected with a more pronounced susceptibility of a certain developmental phase, especially blastokinesis.

Si les résultats obtenus avec le farnesol suscitent des réserves, ceux découlant de l'emploi d'altosid et d'altozar s'opposent à l'extension de ce schéma propre à *H. cecropia*, à tous les oeufs d'insectes.

Les malformations produites sur les embryons sont observées à des degrés divers par les auteurs précédents.

L'embryon de *Drosophila melanogaster* présente des anomalies céphaliques. Coloration anormale des yeux chez *Thermobia domestica*, associée à une impossibilité de terminer la fermeture dorsale et à un raccourcissement du nombre d'articles des antennes (également rencontré chez *Dysdercus fasciatus*). Chez *Schistocerca gregaria*, les malformations obtenues sont très variées, certaines rappelant beaucoup celles rencontrées dans les oeufs de grillon traités au farnesol (et que l'on retrouve en partie dans le cas des traitements à l'altosid et à l'altozar), mais les atteintes relevées sur les appendices ne sont pas aussi importantes puisqu'elles consistent essentiellement en une réduction du nombre d'articles et en un arrêt de leur croissance. La pigmentation cuticulaire et la formation de cals n'est jamais observée, contrairement au grillon.

Dans le cas de traitements pratiqués durant la période de plus grande sensibilité, les malformations obtenues sont plus importantes que celles qu'aurait engendrées le même traitement effectué sur des oeufs fraîchement pondus. De plus, pour des traitements d'oeufs âgés de 2 à 3 jours ou de moins d'une heure, le développement embryonnaire est arrêté au même stade, ce qui plaide pour une pénétration plus rapide du HJA dans le premier cas (confirmée par des expériences de lavage) et également en faveur de l'hypothèse selon laquelle l'action ne se manifesterait que dans la mesure où les structures-cibles seraient en place. Ceci va à l'encontre de l'interprétation de RIDDIFORD (1970_1) expliquant le bloquage du développement embryonnaire à la blastokinèse après traitement d'oeufs récemment pondus, comme étant le temps nécessaire au HJA pour pénétrer l'oeuf et se trouver en quantité suffisante dans les sites d'action.

Le chorion est, tout au moins jusqu'à la catatrepsis, perméable à l'altosid et à l'altozar. D'après GRELLET (1969_1) les enve-

loppes de l'oeuf d'autres Gryllides tel *Scapsipedus marginatus* seraient perméables durant tout le développement embryonnaire, et sur la totalité de leur surface (GRELLET, 1969_2) ce qu'ont confirmé dans le cas du grillon, les expériences de traitement topique. Il existe cependant des différences de perméabilité en fonction du temps et aussi suivant les zones étudiées. Il serait intéressant de préciser dans quelle proportion les HJA persistent dans l'oeuf et au niveau de quelles structures embryonnaires. Certains envisagent une fixation au niveau de la cuticule (WILLIS et LAWRENCE, 1970) qui expliquerait les accidents survenant par la suite, au cours des mues larvaires dans le cas des oeufs traités mais ayant néanmoins éclos. Cela suppose que les molécules ainsi stockées soient stables.

Du point de vue histologique, les travaux sont inexistants ; tout au plus retrouve-t'on des interprétations de coupes entières d'embryon. Cette étude m'a permis de préciser les structures atteintes à la suite des traitements :

- tout d'abord, l'hypoderme appendiculaire et la cuticule le recouvrant
- le mésoderme des pattes, qui ne se développe pas
- des perturbations qui se manifestent sous forme de nécroses au sein du tissu nerveux, mais qui disparaissent par la suite (dans le cas de traitements précoces). La chaîne nerveuse est incomplètement différenciée dans sa partie postérieure.
- le tube digestif montre une disposition inhabituelle du stomodéum et de la valvule cardiaque, ainsi qu'un revêtement endodermique anormal dans le mésentéron, que le traitement soit précoce ou bien pratiqué aux environs de la catatrepsis. Un traitement fait lors de la formation de l'endoderme reste sans effet sur ce tissu, est-ce parce que le chorion est devenu imperméable ou bien parce que l'action sur ce tissu nécessite une présence précoce du HJA à son niveau ?
- les oenocytes semblent également atteints si l'on en juge par le nombre d'entre eux présentant des noyaux pycnotiques.

CHAPITRE II :

EXPERIMENTATION SUR LES OEUFS D'*Ephestia kuehniella*

C'est afin de disposer d'un matériel vivant facile à élever et pratique en ce qui concerne l'obtention des oeufs, qu'a été retenue cette espèce dont le développement embryonnaire est différent de celui du grillon puisqu'il est de type ectoblastique. De plus, lorsque la température ambiante demeure supérieure à 10°, le développement larvaire est continu. Ainsi, il est possible d'obtenir plus de 7 générations par an, chaque femelle pouvant pondre de 200 à 300 oeufs répartis sur une période de 4 à 5 jours, et cela, immédiatement après la fin de l'accouplement (BALACHOWSKY, 1972). Enfin, la pyrale de la farine est une espèce à répartition cosmopolite qui a été très étudiée car elle présente un intérêt économique relativement important.

Ce choix présente cependant au moins trois inconvénients :

- tout d'abord, c'est une espèce dont l'adulte est de moeurs nocturnes,
- ensuite, la taille des oeufs rend leur manipulation délicate. Ils sont de forme elliptique, le grand axe mesure en moyenne 0,41 mm, le petit axe, 0,35 mm.
- enfin, la durée du développement embryonnaire est courte.

A - MATERIEL ET TECHNIQUES UTILISES (voir planche 19, page 101)

1°) Méthode d'élevage

Un récipient vitré muni d'un couvercle à glissière grillagé, est au tiers rempli par un mélange de farine et de son qui sert d'abri et de source de nourriture aux larves.

Les adultes qui se forment restent prisonniers ; ils disposent toutefois d'un espace suffisant pour le vol.

Après l'accouplement, les oeufs pondus tombent directement dans le milieu nutritif. Périodiquement, il est rajouté de la farine

et du son au mélange déjà en place, après que les cadavres des vieux papillons aient été prélevés.

Dans ces conditions d'élevage, il n'est pas possible de mettre au point une méthode de prélèvement des oeufs. Leur couleur rend le tri impossible, leur taille ne permet pas le tamisage.

2°) Méthode expérimentale

a) Obtention des oeufs

Il est préférable de capturer des adultes et de les faire pondre dans un récipient vide.

La capture se fait par aspiration. Au cours du transvasement de l'aspirateur à l'enceinte de ponte, existe un risque de voir s'échapper des papillons ; à certaines périodes, le faible nombre d'individus disponibles ne permet pas la moindre perte. La solution la plus rationnelle consiste à se servir du même récipient pour la capture et l'obtention des oeufs.

Pour cette double opération, j'ai utilisé un erlenmayer d'un litre dont j'ai, dans un premier temps obstrué l'ouverture par un bouchon de caoutchouc percé de deux trous livrant passage au système d'aspiration.

Lorsque le nombre d'individus obtenu est satisfaisant, en tapotant la paroi, ils s'accumulent au fond de l'erlenmayer. On en profite pour remplacer le bouchon de caoutchouc et ses accessoires, par une toile métallique que l'on fixe au col. Le récipient est alors renversé au-dessus d'une petite coupelle de même diamètre que le goulot.

L'ouverture de la maille (environ 1 mm) laisse passer facilement les oeufs pondus, dans la coupelle, tandis que les papillons restent emprisonnés.

La ponte peut être provoquée au moment voulu, simplement en recouvrant le montage par un manchon noir, après l'avoir exposé quelque temps à la lumière. Les oeufs retrouvés dans la petite coupelle sont accompagnés de quelques écailles qu'il est facile d'éliminer à l'aide d'un pinceau. Pour plus de sécurité, la grille métallique est changée d'une manipulation à l'autre et brossée avant de resservir à nouveau

Chaque période de ponte dure une heure.

b) Traitement des oeufs

Leur petite taille les rend difficiles à manipuler. Les mettre à tremper dans les produits, les récupérer au pinceau pour les déposer sur un support de papier filtre dans une boîte d'incubation entraîne finalement l'imbibition complète de ce support. Aussi, j'ai trouvé plus pratique, pour un résultat identique, d'imbiber directement le fragment de papier filtre et d'y déposer ensuite les oeufs. Cette technique est adoptée par PEYER et VOGEL (1971) avec le même insecte.

Les morceaux de papier filtre utilisés, d'un demi-centimètre carré environ sont disposés, après avoir trempé dans la dilution de HJA voulue, sur une couche de coton sec elle-même déposée sur une petite coupelle. Une fois les languettes de papier filtre saupoudrées d'oeufs, les coupelles sont enfermées dans des "boites d'incubation", cylindriques, hermétiquement closes.

Le développement a lieu en étuve à 30°C de manière à :

- se dérouler à une température qui soit tout au long du temps d'incubation supérieure à la température ambiante
- se passer également à la température la plus basse possible dans ces conditions, de façon à allonger le plus possible sa durée. Cela afin de gagner en précision lors des traitements pratiqués durant l'embryogénèse.

LEGENDE DE LA PLANCHE 19

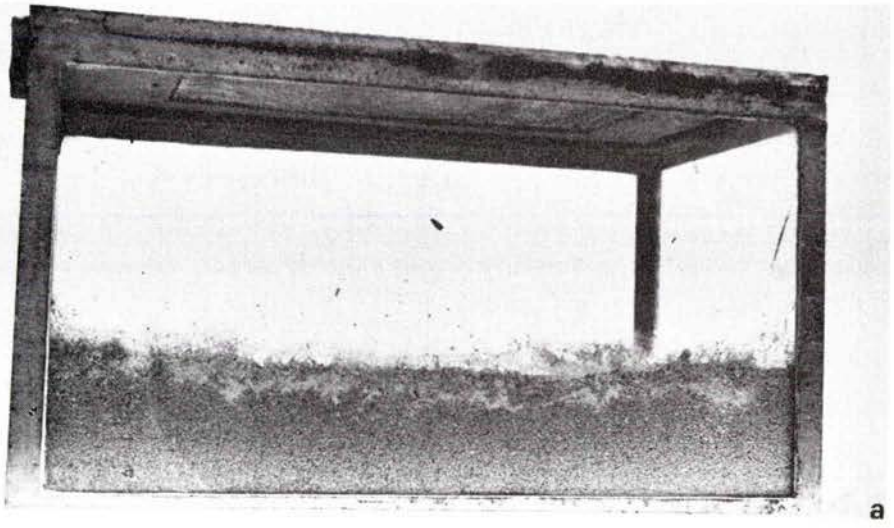
a : Méthode d'élevage des *Ephestia* : un récipient vitré de 60 cm x 35 cm x 35 cm est au tiers rempli d'un mélange de son et de farine. Le couvercle coulissant est grillagé.

b : L'aspirateur à adultes est composé d'un erlenmeyer en pyrex d'1 litre dont le bouchon de caoutchouc est traversé par des tuyaux d'aspiration et de capture.

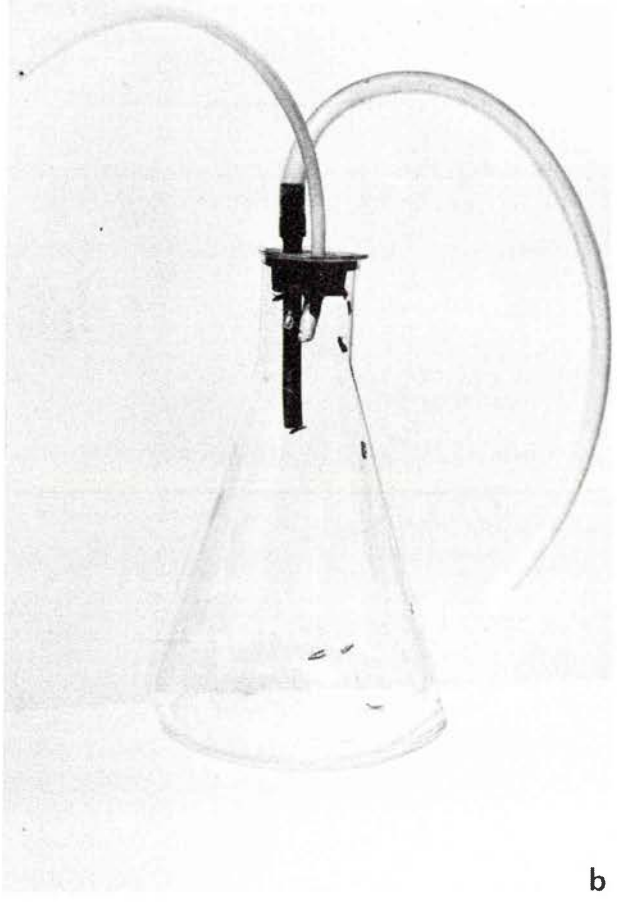
c : C'est le même erlenmeyer qui sert d'enceinte de ponte. Le système d'aspiration est remplacé par une toile grillagée et le récipient est renversé au-dessus d'une coupelle où seront recueillis les oeufs pondus.

d : La "boite d'incubation" (h = 5,5 cm x Ø = 8 cm) ferme hermétiquement. Elle contient une petite coupelle garnie de coton sec sur lequel sont disposés des bouts de papier filtre imbibés de produit et saupoudrés par les oeufs à étudier (pour la bonne compréhension du cliché, le papier filtre a été remplacé par du canson noir, les petits points blancs sont les oeufs).

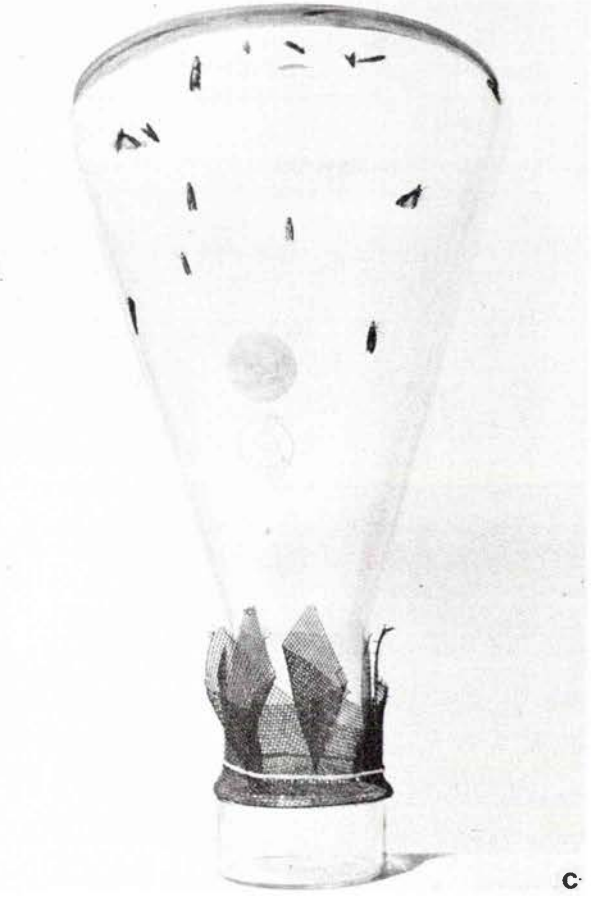
B. U. METZ



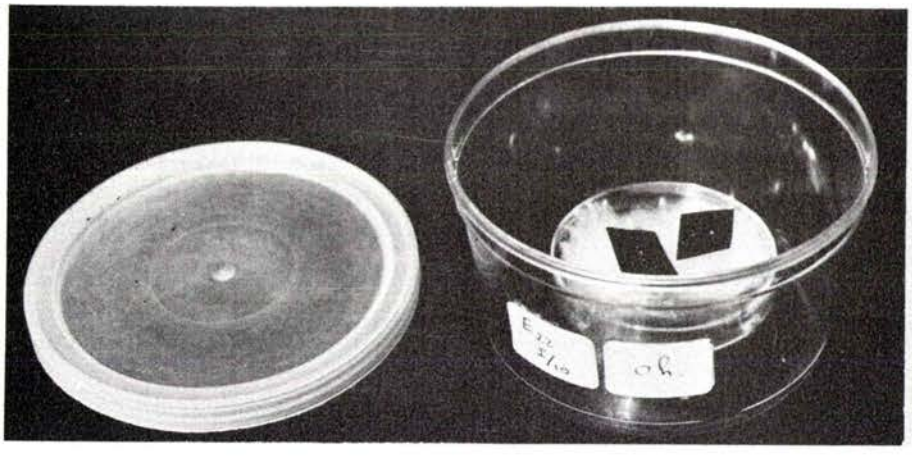
a



b



c



d

3°) Techniques histologiques

La fixation se fait au Bouin alcoolique, le chorion étant percé avec une minuscule aiguille pour en activer la pénétration. Cette piqûre est faite au hasard, car il n'est pas possible d'orienter l'oeuf ; aussi le nombre de sujets doit-il être assez élevé pour que suffisamment d'entre eux demeurent intacts. L'opération a lieu dans une petite salière, sous la loupe.

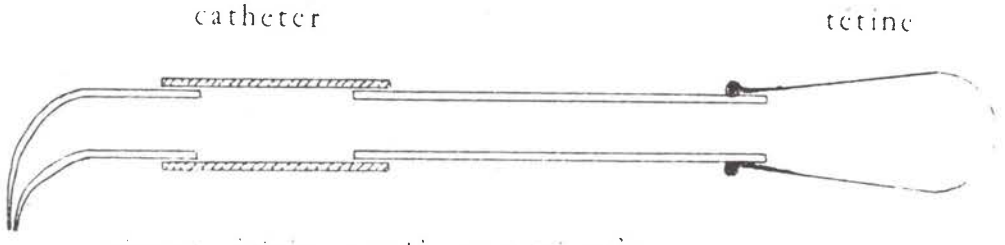
Au bout de 24 heures, le Bouin est enlevé à la pipette et remplacé par de l'alcool à 80° renouvelé deux fois.

Le déchorionnage est pratiqué dans le deuxième bain d'alcool à 80°. En fait, il s'agit plutôt d'une extraction de l'embryon, car la taille des oeufs ne permet pas d'épargner la masse vitelline, d'autant plus que le chorion est dédoublé en exo et endochorion séparés.

Cette manipulation est faite à l'aide de deux minuscules épingles à insectes dont l'extrémité est affûtée suivant 3 plans formant entre eux des arêtes relativement coupantes, et qui sont montées sur des porte-aiguilles.

Le montage in-toto nécessite une hydratation progressive par des bains d'alcool à 70°, 50°, 30° et eau distillée. Les embryons sont alors colorés au bleu de Toluidine durant un laps de temps en rapport avec leur âge ; ils sont ensuite deshydratés par une série d'alcool et un bain final de toluène. La récupération des embryons pour le montage entre lame et lamelle est très délicate. Il m'a fallu pour cela confectionner une pipette à bec fin, à système d'aspiration ne permettant de pomper qu'un faible volume de liquide et dont on trouvera ci-après un croquis d'ensemble.

Le montage est fait à l'Eukitt.



pipette étirée, coudée et sectionnée

En pinçant uniquement le cathéter puis en le relâchant, on produit une aspiration d'autant plus faible que celui-ci est rigide et que le caoutchouc de la tétine est souple.

Les coupes histologiques ont une épaisseur de 5 μ et leur réalisation présente quelque difficulté.

La taille des oeufs nécessiterait presque une double inclusion ; il est cependant possible de les manipuler, et surtout de les repérer dans les bains de paraffine si on les colore au préalable. Aussi dans la série montante habituelle des alcools, j'ai intercalé un bain d'alcool à 90° coloré à l'éosine.

Il est difficile d'orienter les sujets au moment de l'inclusion, cela n'est pas un gros inconvénient : l'embryon est enroulé de telle façon que, quel que soit le plan de coupe, on rencontrera immanquablement toutes sortes de sections.

La coloration pratiquée est l'Hémalum de Masson-éosine.

B - CHRONOLOGIE DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE A 30°C

(voir figures 8 à 10 pages 108 à 110 et planches 20 à 22 pages 111 à 113)

La température conditionne la durée du développement embryonnaire. Si, à 25° (température du laboratoire) l'embryogénèse se déroule en 96 heures, à 30° elle s'effectue entre 60 et 66 heures.

Trois heures après la ponte, l'aspect extérieur des oeufs a déjà changé ; ils paraissent intérieurement tapissés d'une couche blanchâtre. L'étude histologique révèle qu'il s'agit de l'enveloppe blastodermique, formée de grosses cellules dont plusieurs apparaissent en division réparties sur une seule assise, et qui entoure le vitellus parsemé de vitellophages. Certains spécimens, plus précoces montrent même, localement, l'épaississement correspondant au début de la formation de la bandelette embryonnaire.

Après 6 heures d'incubation, la bandelette embryonnaire est bien formée, elle apparaît comme une large ceinture blanchâtre sur les montages in-toto, tandis que les sections mettent son épaisseur en évidence.

Dès l'âge de 9 heures, on peut parler d'embryon. En effet, la bandelette qui s'étalait à la surface du vitellus a pris un aspect massif en voyant ses bords se rapprocher dans un mouvement incomplet d'enserrement des réserves, mouvement se combinant avec un épaississement de ces bords.

Les parties antérieure et postérieure de la bandelette ont, par ailleurs, conservé une largeur supérieure à celle de la partie médiane. De plus, la partie postérieure a progressé en spirale, s'enfouissant légèrement dans le vitellus.

De sorte que l'embryon ainsi observé est parfaitement orientable avec une partie antérieure superficielle et aplatie, une partie postérieure plus massive avec un léger enfoncement intra-vitellin.

C'est après une incubation de 12 heures que se produit la gastrulation, reconnaissable, tant sur les montages in-toto que sur les coupes transversales, au sillon longitudinal qui en est la première manifestation. Ce sillon apparaît dans la région antérieure et progresse vers l'arrière de l'embryon.

Par ailleurs, la région antérieure de l'embryon forme deux lobes latéraux. L'aspect ainsi obtenu permet déjà de parler de région céphalique de l'embryon bien que la condensation des centres nerveux ne soit pas encore réalisée.

La partie postérieure de l'embryon continue à s'allonger et annonce un mouvement de spiralisation.

Entre l'âge de 12 et 15 heures se produit le bourgeonnement des appendices thoraciques et céphaliques. La tête et le thorax sont les seules régions métamérisées. La gouttière de gastrulation devient bien visible, l'enfoncement des cellules a pu être observé sur certaines coupes.

C'est également à cet âge que sont rencontrés les premiers gros noyaux, clairs situés en bordure de la gouttière de gastrulation et qui sont les premiers neuroblastes. L'enroulement de l'embryon atteint à ce stade sa plus grande complexité. Il consiste en deux spires consécutives de même sens d'enroulement, mais d'importances différentes : une grande spire céphalique et une petite spire caudale. Ceci est compliqué par le fait que la grande spire céphalique est comprimée sur la spire caudale.

Après 18 heures d'incubation, les neuroblastes sont nettement visibles sur les coupes. Le tissu embryonnaire est toujours le siège d'une activité mitotique importante.

La partie postérieure d'embryons âgés de 21 heures, lorsqu'elle est coupée transversalement, ne montre plus des sections pleines mais des sections en couronne, traduisant la formation du proctodéum. Le stomodéum n'est pas encore formé à ce stade (ceci est en accord avec la description faite par JOHANNSEN et BUTT, 1941).

Lorsqu'ils sont coupés longitudinalement, les appendices thoraciques montrent des constrictions, prélude à la formation des articles. La métamérisation atteint maintenant les derniers segments abdominaux.

C'est au bout d'un jour de développement que se forme le stomodéum, il est coudé et, tout comme le proctodéum, n'a pas de communication avec ce qui sera le tube digestif moyen, et qui n'est encore que la masse vitelline plus ou moins enserrée par les bords latéraux de l'embryon.

Les structures nerveuses commencent à se mettre en place : les amas cellulaires montrent une partie centrale plus claire : le neuropile.

A cet âge, les embryons observés en entier sont très nettement métamérisés jusqu'à l'extrémité caudale.

Chez les embryons âgés de 27 heures, les ganglions nerveux sont bien individualisés, avec un neuropile important.

Le cortex des ganglions nerveux d'embryons âgés de 30 heures est très légèrement parsemé de noyaux à apparence anormale. Leur chromatine est condensée et sombre, surtout pour ceux situés dans la partie ventrale. Cela se rencontre aussi bien dans les ganglions cérébroïdes que dans les ganglions thoraciques et abdominaux. Montés in-toto, les embryons montrent un processus de céphalisation avancé. On ne peut encore parler de capsule céphalique mais la partie antérieure de l'embryon a maintenant une forme globuleuse. Par ailleurs, la fermeture dorsale s'accomplit à cet âge.

C'est après 33 heures d'incubation que se produit le retournement de l'embryon. Ce mouvement n'a rien de comparable avec la catatrepsis de la blastokinèse car il consiste en une révolution de l'embryon autour de son axe de symétrie. De cette façon, la face ventrale va constituer l'intérieur de la spire que l'embryon continue de former, alors qu'elle s'y trouvait précédemment à l'extérieur.

A l'âge de 36 heures, l'embryon occupe pratiquement tout le volume disponible dans l'oeuf. Le tube digestif moyen est constitué par de grosses cellules éparses à gros noyaux, doublés par endroit par les petites cellules aplaties de la splanchnopleure. Les valvules cardiaques et pyloriques sont encore fermées. On commence à trouver des sections de tubes de Malpighi.

A l'âge de 39 heures, les valvules de l'intestin sont ouvertes. Dans la partie moyenne, le vitellus contient encore des vitellophages tandis que l'endoderme s'organise. Extérieurement, les oeufs semblent comprimés sur deux faces.

On peut distinguer les ocelles par transparence, à travers le chorion, leur couleur est rouge.

A l'âge de 42 heures, les sections de mésentéron montrent des cellules bien arrangées en une seule couche qui est l'endoderme toujours doublé par les petites cellules de la splanchnopleure. On commence à trouver des oenocytes.

Les ocelles ont maintenant une couleur brune.

Durant les heures suivantes, l'organogénèse se poursuit, les ganglions nerveux sont mieux délimités, avec un cortex moins épais.

A l'âge de 48 heures, la capsule céphalique est formée. C'est également à ce moment que commence à être observée la chitinisation des pièces buccales, celle des mandibules est achevée à l'âge de 54 heures.

A l'âge de deux jours et neuf heures (57 heures) la capsule céphalique est pigmentée. Le tube digestif moyen est pratiquement vide de réserves tandis que les cellules endodermiques montrent maintenant un pôle vacuolaire vers la lumière du mésentéron.

Les premières éclosions se produisent à partir de 2 jours et demi d'incubation.

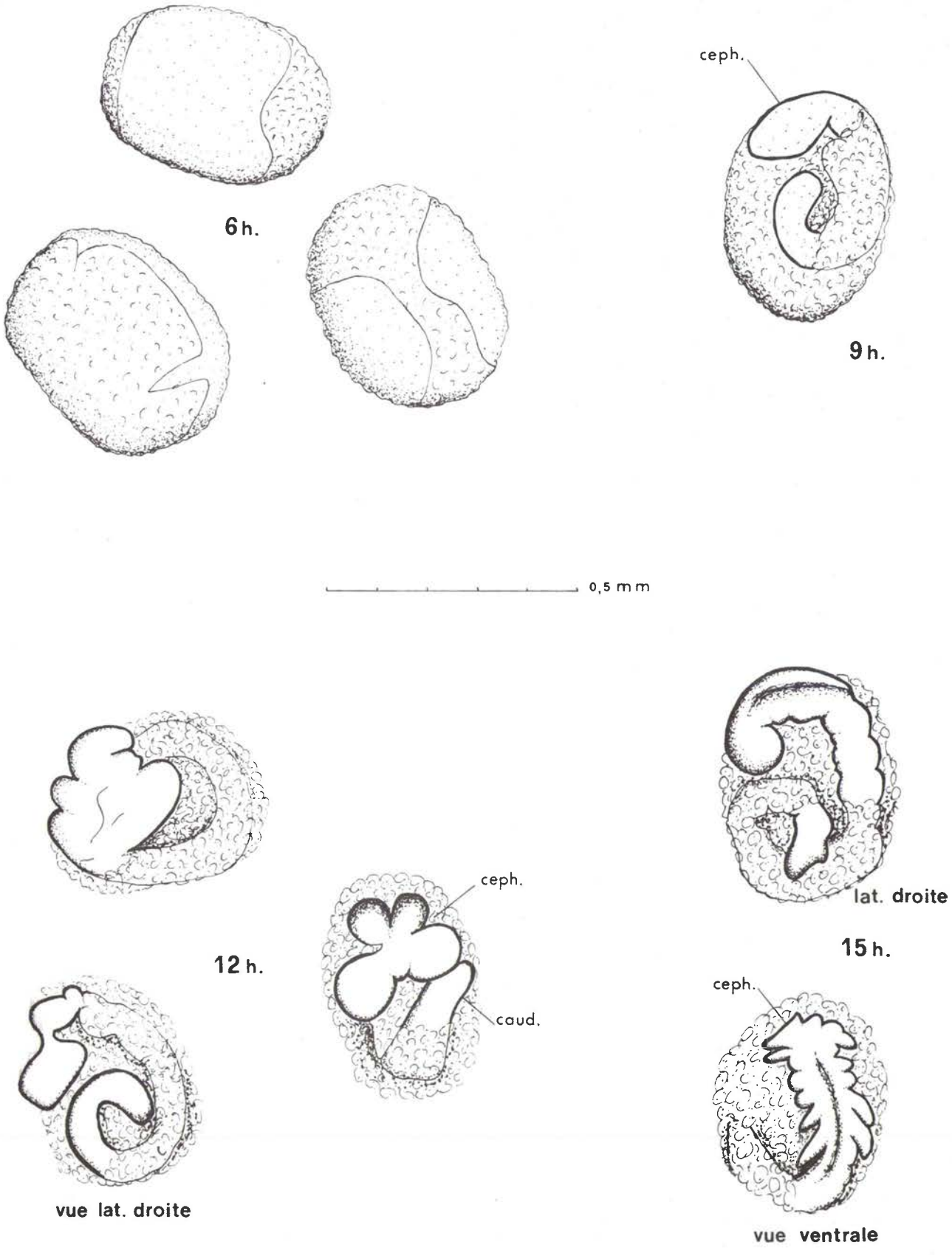


Figure 8 - Développement embryonnaire d'*Ephestia kuehniella*

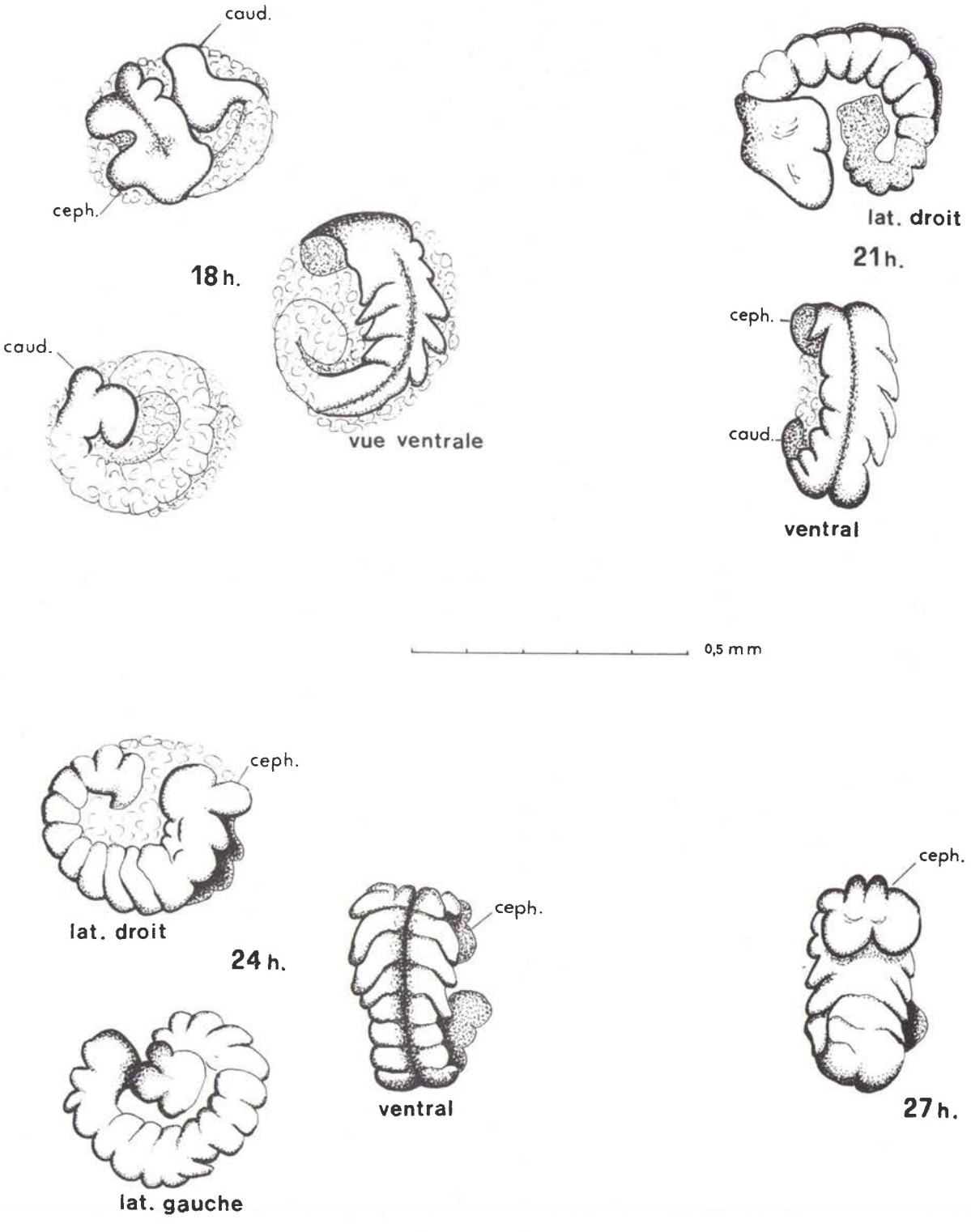


Figure 9 - Développement embryonnaire d'*Ephestia kuehniella* (suite)

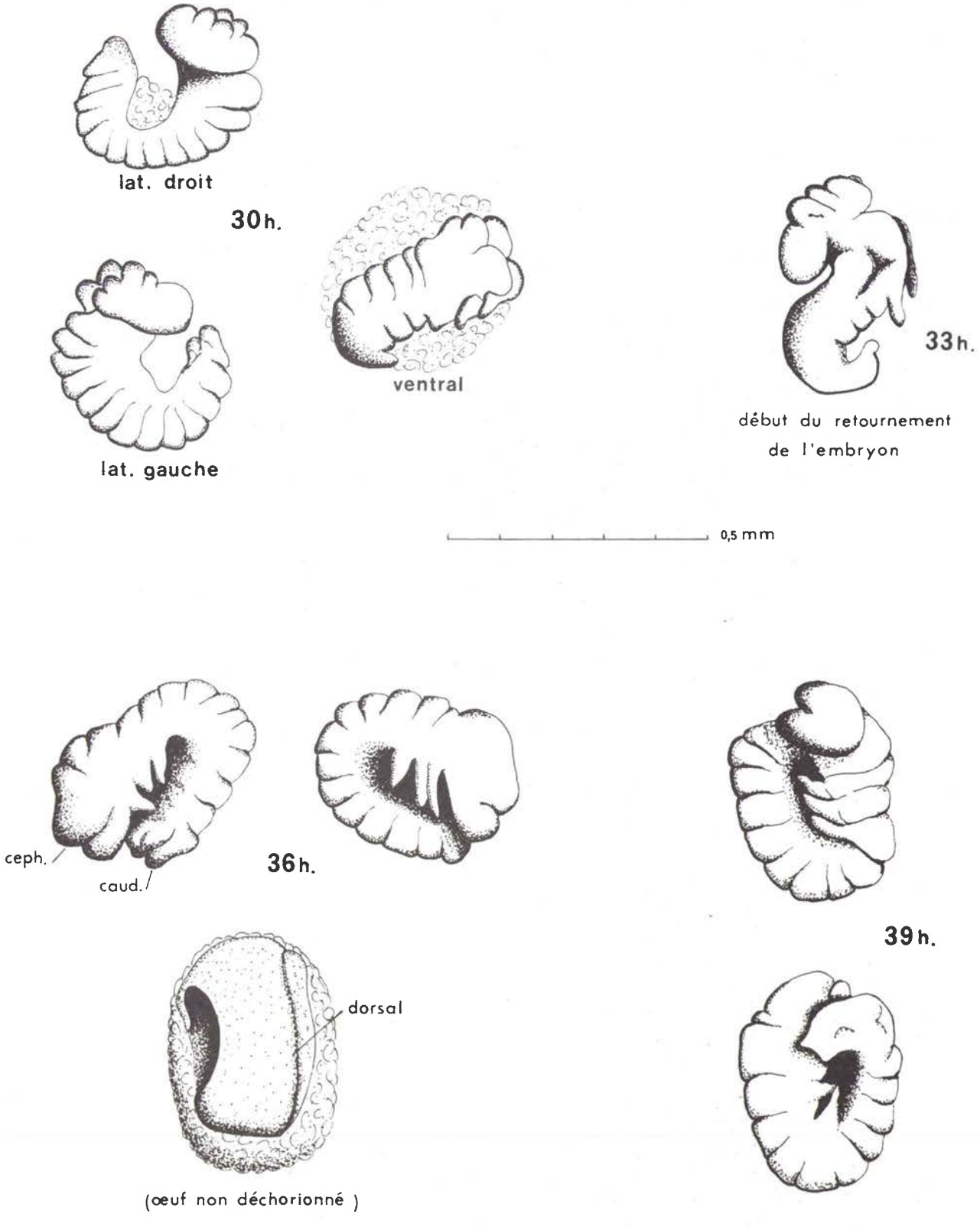


Figure 10 - Développement embryonnaire d'*Ephestia kuehniella* (fin)

LEGENDE DE LA PLANCHE 20

Histologie du développement normal de l'oeuf d'*Ephestia* à 30°C.

a : Blastoderme âgé de 3 heures : certaines cellules sont observées en division (flèche). Le vitellus est finement granuleux.

b : Bandelette âgée de 6 heures coupée transversalement à deux niveaux. Le vitellus est parsemé de vitellophages (flèche).

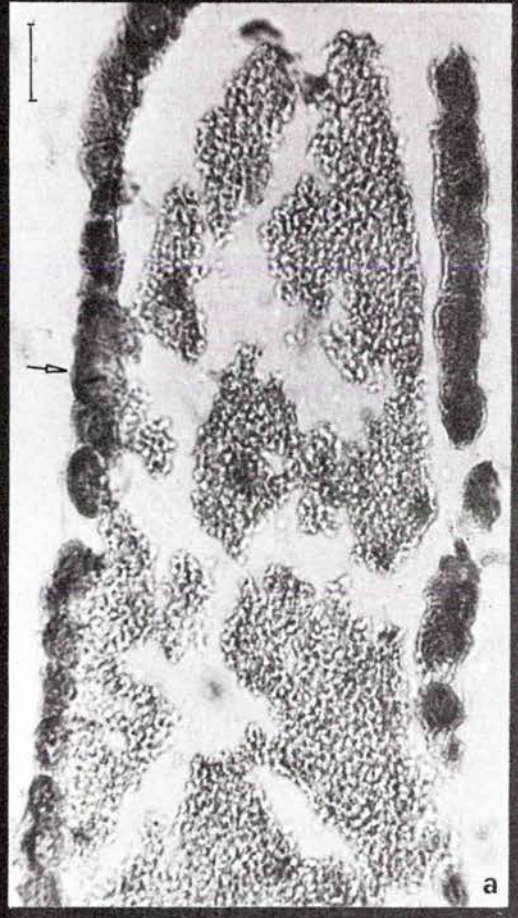
c : Embryon âgé de 15 heures coupé transversalement au niveau de l'abdomen et au niveau du thorax, la flèche indiquant un bourgeon de patte.

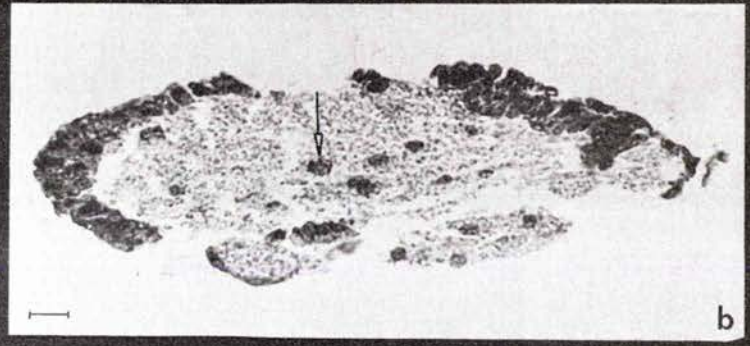
d : Coupe d'un embryon âgé de 21 heures, tangentielle dans la région caudale (aplatie), longitudinale dans l'abdomen moyen et transversale dans l'abdomen antérieur où la flèche désigne une cellule initiale nerveuse.

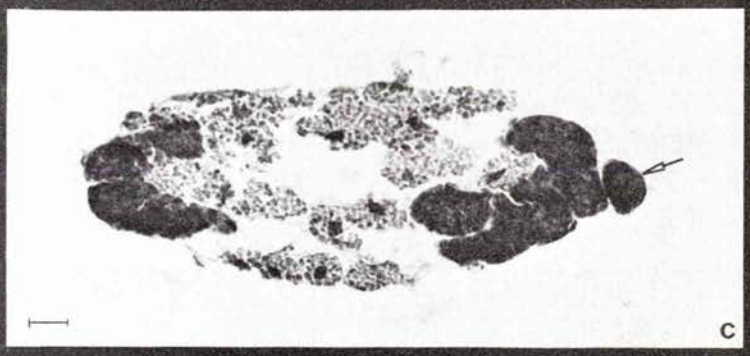
e : Coupes transversales d'un embryon âgé de 24 heures au niveau thoracique (en bas) au niveau céphalique (en haut) la flèche indique le stomodéum.

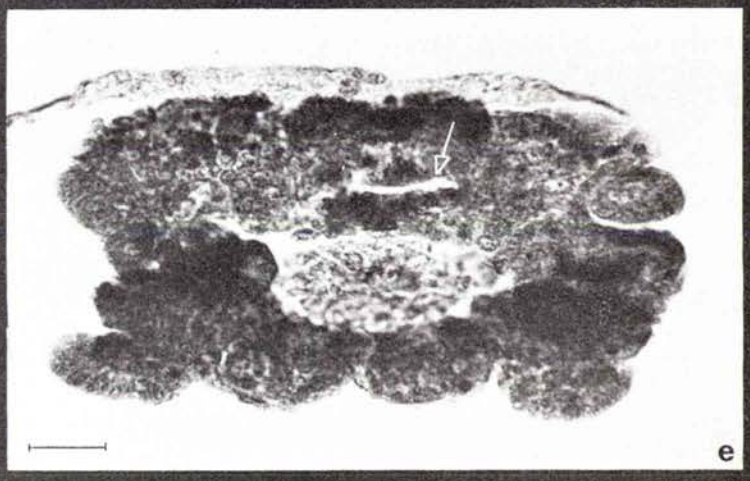
f : Coupe parasagittale à 27 heures sur laquelle on peut voir l'élaboration des ganglions nerveux dont la flèche noire indique le neuropile, la flèche blanche situant par ailleurs le proctodéum.

Le tiret représente 20 µ

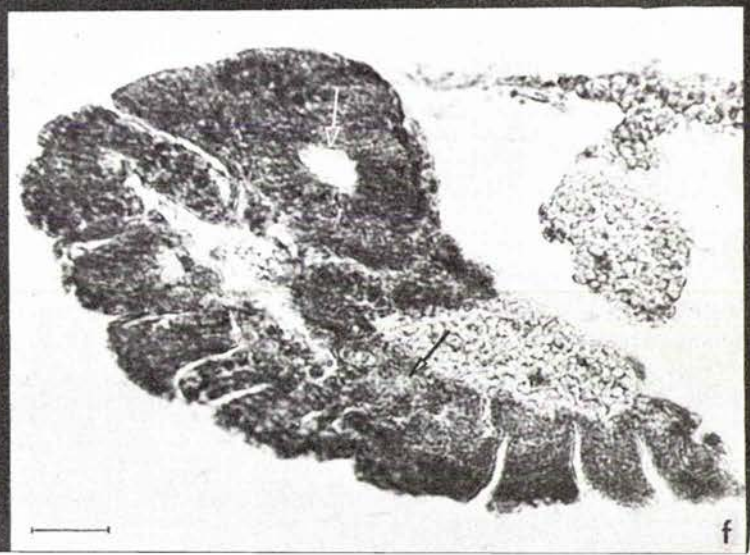

a


b


c


e


d


f

LEGENDE DE LA PLANCHE 21

Histologie du développement normal de l'oeuf d'*Ephestia* à 30°C (suite)

a : Coupe transversale de l'abdomen d'un embryon âgé de 30 heures. La flèche désigne un noyau pycnotique du cortex ventral d'un ganglion abdominal.

b : Coupe transversale de la partie céphalique à l'âge de 30 heures au niveau du collier périoesophagien (C.P.). La flèche noire indique un noyau pycnotique du ganglion sous-oesophagien coupé tangentiellement tandis que la coupe passe par le neuropile des ganglions cérébroïdes (G.C.). La flèche blanche situe le stomodéum.

c : Coupe transversale du mésentéron à l'âge de 33 heures : la fermeture dorsale est accomplie, mais il apparaît une nette différence d'épaisseur entre les faces dorsale (flèche noire) et ventrale (flèche blanche) de la paroi du mésentéron.

d : Coupe sagittale du mésentéron à l'âge de 36 heures. Les réserves occupent tout l'intérieur du tube. (gg : ganglion nerveux).

e : Coupe transversale de la tête d'un embryon âgé de 39 heures. La section passe par les neuropiles des ganglions cérébroïdes et sous oesophagiens (G. $^{S}/œ$)

f : Coupe longitudinale de la valvule cardiaque à l'âge de 39 heures. L'ouverture est faite (flèche blanche), la partie stomodéale est vide tandis que le mésentéron est encore partiellement occupé par des réserves.

g : Coupe longitudinale de la valvule pylorique à l'âge de 45 heures. La flèche indique la valvule (pt : proctodéum). Le mésentéron est toujours occupé par des réserves. La chaîne nerveuse est coupée sagittalement (n : neuropiles).

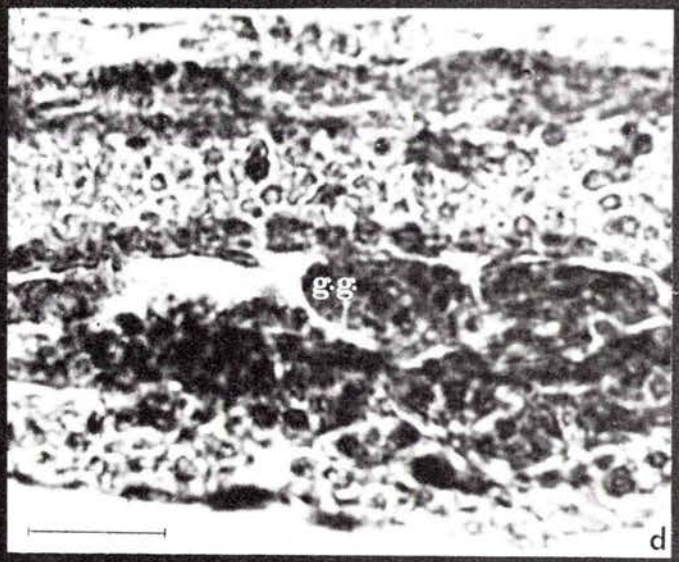
Le tiret représente 20 µ



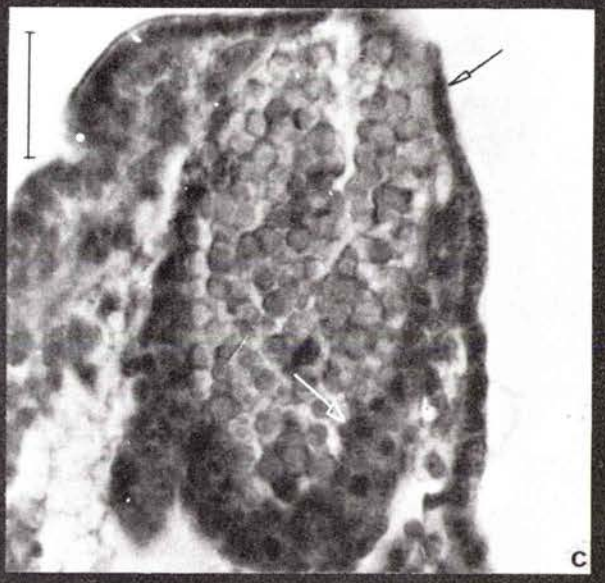
a



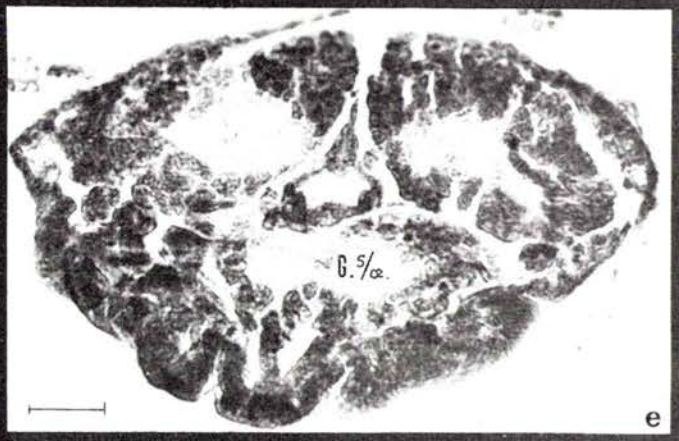
b



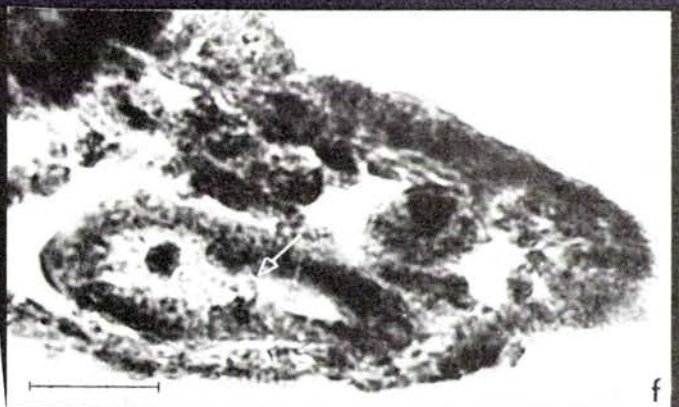
d



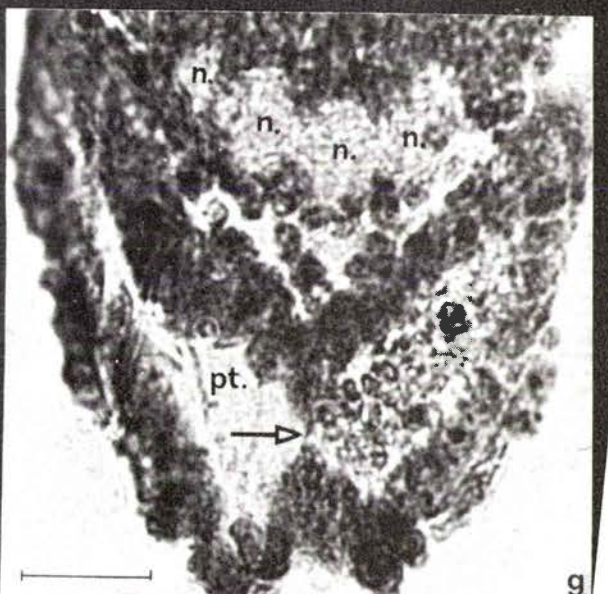
c



e



f



g

LEGENDE DE LA PLANCHE 22

Histologie du développement normal de l'oeuf d'*Ephestia* à 30° (fin)

a : Coupe longitudinale de l'abdomen antérieur d'un embryon âgé de 42 heures au niveau de la valvule cardiaque (v.c.) dans laquelle apparaît un alignement d'oenocytes (flèche).

b : Coupe transversale abdominale au même âge (m : mésentéron, c.n. : chaîne nerveuse).

c : Coupe sagittale de la valvule pylorique à l'âge de 48 heures. La flèche désigne la communication entre mésentéron et proctodéum

d : Coupe sagittale de la valvule cardiaque à l'âge de 48h. La flèche indique la communication entre mésentéron et stomodéum.

e : Coupe transversale d'un ganglion nerveux abdominal à l'âge de 54 heures. Le neuropile représente maintenant un volume relativement plus important du ganglion.

f : Coupe longitudinale oblique du mésentéron au niveau de la naissance des tubes de Malpighi (flèche blanche) à l'âge de 57 heures. Par endroit, les cellules endodermiques montrent une vacuole apicale (flèche noire).

g : Coupe transversale abdominale à l'âge de 60 h. Les cellules endodermiques sont presque toutes pourvues d'une vacuole apicale (flèche).

Le tiret représente 20 μ


V.C.
a
m
c.n.
b
c
d
e
f
g

C - ETUDE DE L'ACTION OVICIDE DE L'ALTOSID

Elle ne concerne que l'altosid et n'a été entreprise qu'avec son échantillon I_3, au moment où l'unité ovicide grillon était la dilution au 1/15.000ème. Des essais ponctuels ont été réalisés avec l'altozar afin de permettre une rapide comparaison.

1°) Etude quantitative

a) traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure.

Dans les conditions expérimentales définies au paragraphe A, l'altosid s'est révélé beaucoup moins actif sur l'oeuf d'*Ephestia* que sur celui de *Gryllus*. Les résultats obtenus sont rapportés par le tableau XII, page 115. La figure 11, page 116 indique que la dilution autorisant seulement 50 % d'éclosion est très voisine du 1/100ème. l'altozar révèle un pouvoir ovicide peu différent, légèrement plus fort car les deux essais réalisés permettent d'évaluer au 1/150ème la DI. L. 50 ovicide (voir tableau XII, page 115 et figure 12, page 117.

J'ai pu maintenir durant une quinzaine de jours une température d'incubation de 22°C. Le développement embryonnaire dure alors 6 jours, ce qui, dans le cas d'oeufs traités, a pour première conséquence d'augmenter le temps de contact avec le produit. Dans ces conditions, l'altosid s'avère beaucoup plus actif que dans le cas d'une incubation à 30° puisque la DI. L. 50 ovicide manifestée est très proche du 1/3.000ème.

SUBSTANCE UTILISEE	DILUTIONS	RESULTATS APRES INCUBATION A 30° C			RESULTATS APRES INCUBATION A 22° C		
		Nombre d'oeufs à l'essai	Nombre d'éclosions	Taux d'éclosion	Nombre d'oeufs à l'essai	Nombre d'éclosions	Taux d'éclosion
ALTOSID	1/10	219	0	0			
	1/20	74	0	0			
	1/50	196	28	14,3			
	1/75	156	49	31,4			
	1/100	207	117	56,5			
	1/150	154	103	66,8			
	1/200	170	132	77,6			
	1/300	61	48	78,7			
	1/400	66	51	77,3			
	1/500	56	50	89,3			
	1/1000	58	51	87,9			
	1/2000				132	48	36,4
	1/5000				161	98	60,9
	1/10.000				104	76	73
	1/15.000				65	57	87,7
ALTOZAR	1/100	146	46	31,5			
	1/200	126	93	73,8			

TABLEAU XII

TRAITEMENT D'OEUFS D'*EPHESTIA* AGES DE MOINS D'UNE HEURE MIS A INCUBER A 30°C ET A 22°C.

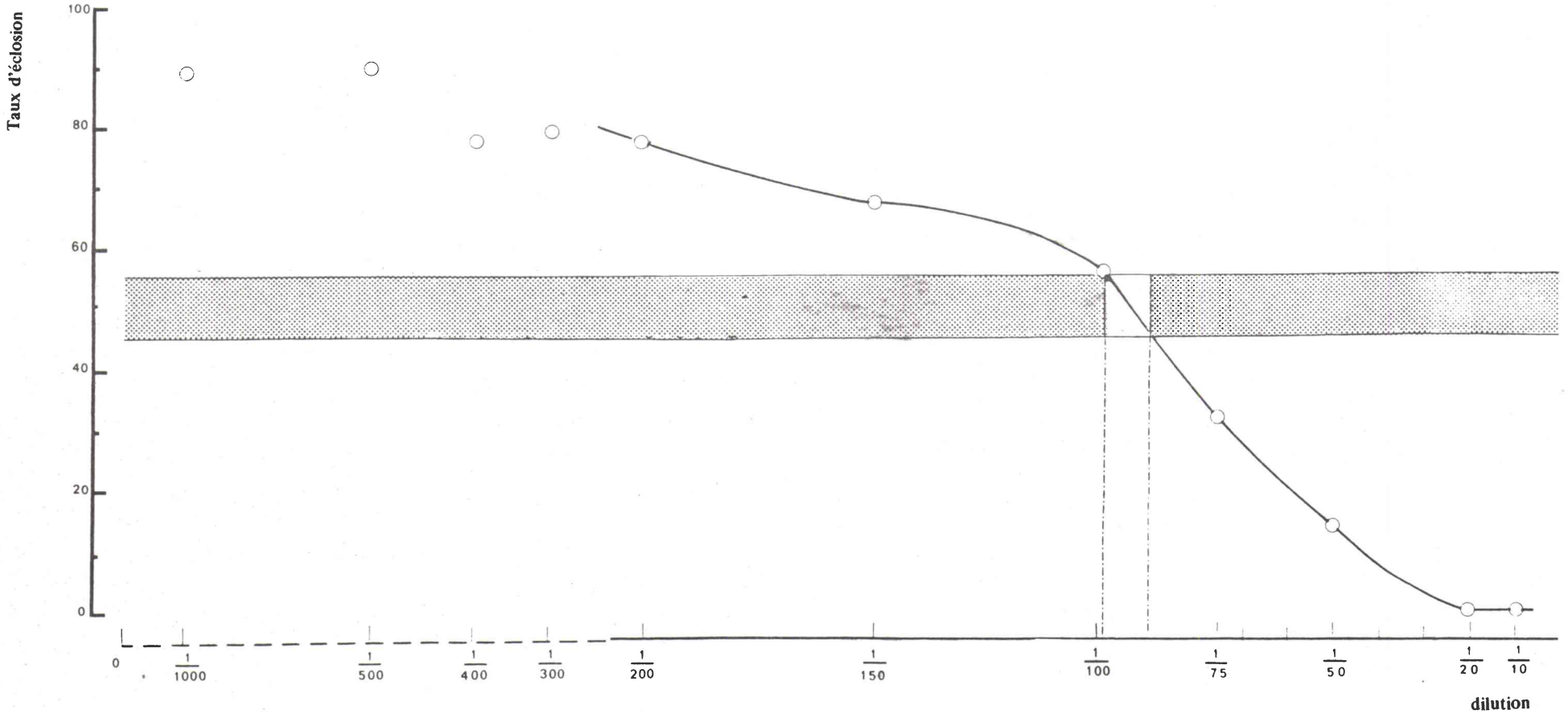
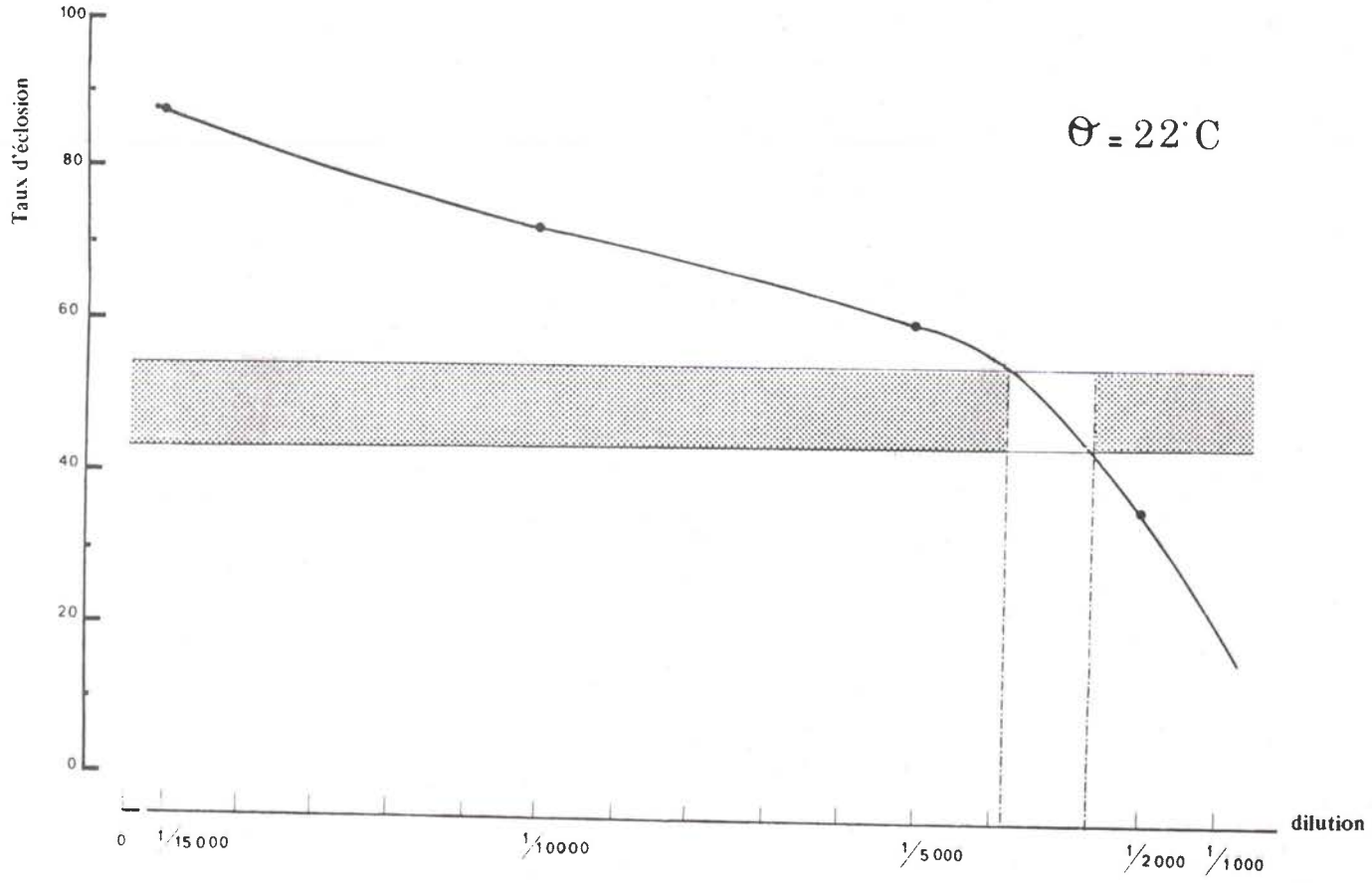


Figure 11 : Variation des taux d'éclosion suivant la dilution de l'altosid appliqué sur des oeufs d'Ephestia de O heure, incubés à 30° C



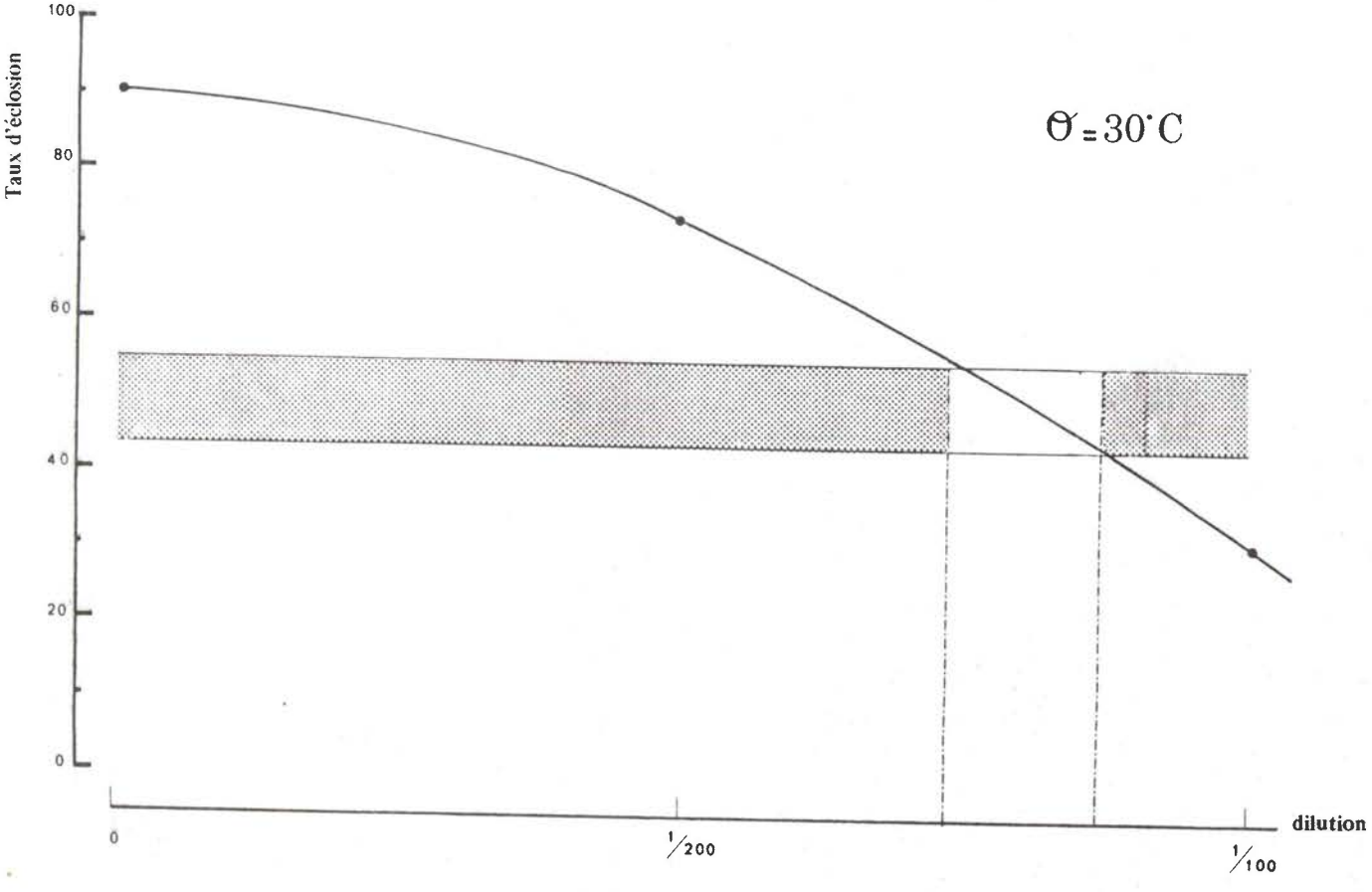


Figure 12 : Variation des taux d'éclosion avec la dilution d'altosid (en haut) et d'altozar (en bas) sur des oeufs d'Ephestia de O heure, incubés aux températures indiquées

b) traitements effectués au cours du développement embryonnaire

La dilution au 1/10ème lorsqu'elle est utilisée au cours de l'embryogénèse conserve son pouvoir ovicide absolu tant que l'âge des oeufs ne dépasse pas 36 heures. L'activité diminue ensuite, rapidement puisque cette dilution est pratiquement inactive sur des oeufs âgés de 2 jours et 6 heures. (voir tableau XIII ci-dessous et figure 13, page 120).

AGE DES OEUFS TRAITES	NOMBRE D'OEUFS A L'ESSAI	NOMBRE D'ECLOSIONS	TAUX D'ECLOSION
0 h	219	0	0
24 h	81	0	0
36 h	104	0	0
42 h	166	10	6
48 h	279	90	32,3
54 h	93	74	79,6

TABLEAU XIII : RESULTATS OBTENUS SUIVANT LE MOMENT DU TRAITEMENT PAR L'ALTOSID AU 1/10ème.

La période 36-42 heures pendant laquelle l'altosid commence à perdre son activité est une phase importante du développement puisqu'elle succède au retournement de l'embryon. Elle correspond également à l'ouverture des valvules cardiaque et pylorique, à la formation de l'endoderme, des tubes de Malpighi, des oenocytes.

La courbe des taux d'éclosion est semblable à celle obtenue avec les oeufs de grillon lors de l'emploi de dilutions ovicides à 100 % sur les pontes âgées de moins d'une heure.

On a vu chez le grillon que c'est avec l'utilisation de dilutions plus faibles sur les oeufs âgés de moins d'une heure que l'on arrivait à démasquer l'existence d'une période de grande sensibilité.

Une série d'essais avec la dilution au 1/100 ème n'a montré aucune baisse significative du taux des éclosions durant la période 0 - 36 heures. Les oeufs âgés de plus d'un jour et demi se révélent de plus en plus résistants aux traitements.

J'ai aussi pratiqué des traitements à l'altosid au 1/10ème sur des oeufs âgés de 1, 2, 3, 4 et 5 jours à la suite de l'incubation à 22°C. Dans tous ces cas, l'altosid s'est montré ovicide à 100 %. Cette manipulation est à rapprocher de celle réalisée avec la même dilution sur des oeufs incubés à 30°. En effet, à la suite de cette dernière, la perte d'activité était mise en parallèle avec le degré atteint par le développement embryonnaire. Les résultats obtenus avec les oeufs incubés à 22° ne permettent plus une telle comparaison. Il semblerait donc que le taux d'éclosion obtenu soit plutôt en rapport avec le temps de séjour du produit à l'intérieur de l'oeuf.

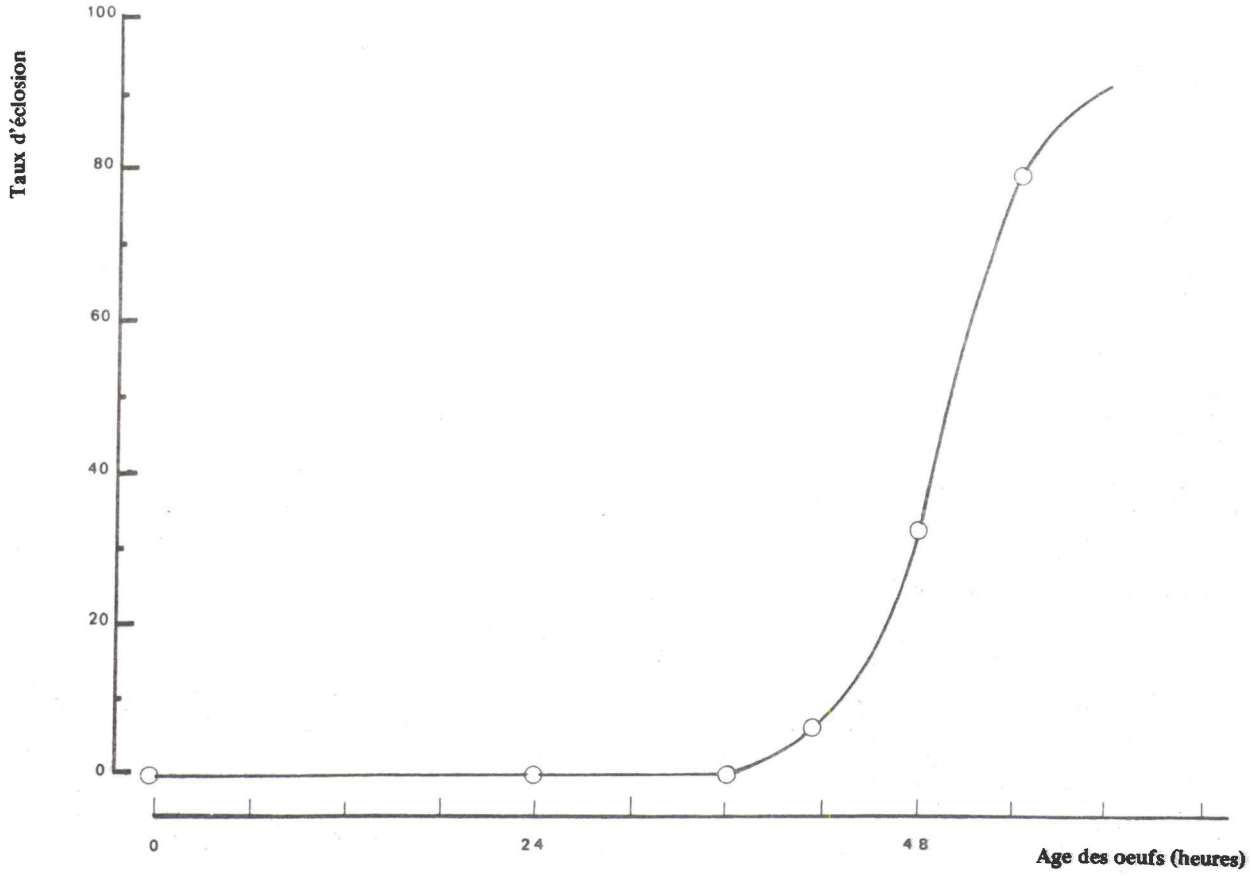


Figure 13 : Variation des taux d'éclosion avec le moment de l'application de l'altosid au 1/10ème

c) expériences de lavage

Il est intéressant de déterminer le temps nécessaire à la pénétration de l'altosid.

La manipulation est la même que sur les oeufs de grillon. Les taux d'éclosion obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

AGE DES OEUFS TRAITES PAR L'ALTOSID AU 1/10ème	LAVAGE EFFECTUE APRES UNE INCUBATION A 30° DE			
	1 h.	3 h.	6 h.	12 h.
0 h.	90 %	73,7 %	0 %	0 %
24 h.	87 %	62,5 %	10 %	0 %
48 h.	92 %	79,2 %	40 %	

On peut en conclure que le temps nécessaire à la pénétration de l'altosid en quantité suffisante pour manifester son pouvoir est pratiquement le même quel que soit le moment du traitement, il est de 3 à 6 heures. Ce temps est plus court que celui nécessité par l'oeuf de grillon, chez lequel il variait d'ailleurs avec l'âge des oeufs traités.

2°) Etude qualitative

a) considérations générales

La première constatation faite sur les oeufs non éclos après avoir été traités par l'altosid est qu'aucun ne contient d'embryon présentant une malformation morphologique qui puisse être comparée à celles rencontrées dans les oeufs de grillon.

Observés in-toto après 3 jours d'incubation, les oeufs qui n'ont pas éclos sont de deux sortes :
- certains renferment une chenille entièrement formée, à aspect tout-à-fait normal
- d'autres renferment un embryon beaucoup moins avancé puisqu'il n'a pas accompli sa révolution sur lui-même. Ces embryons présentent de plus une allure anormale : ils tendent à s'enrouler sans englober le vitellus. Ce dernier a alors une couleur brune rougeâtre différente de celle des oeufs témoins chez lesquels il est jaune-clair. Cette catégorie représente un pourcentage de 25 à 30 % des oeufs non éclos, quel que soit le traitement auquel ils ont été soumis : 1/10ème, 1/20ème, 1/50ème ou 1/75ème avant l'âge d'une heure. Pour les dilutions plus fortes appliquées à cet âge, les oeufs non éclos renferment tous des chenilles complètes ; de même pour les traitements pratiqués sur des sujets âgés de 24 heures, et là, quelle que soit la dilution utilisée.

Dans le cas des oeufs arrivant à l'éclosion, il n'a pas été constaté d'augmentation de la durée du développement embryonnaire.

A 30°, cela est d'autant moins décelable que pour une embryogénèse normale s'étendant sur deux jours et demi, les éclosions des témoins s'étalent déjà sur une période de 6 heures en général, quelquefois 9.

b) étude histologique

α) Cas du traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure.

● Altosid au 1/100ème : Dans la gamme utilisée, cette dilution est la plus proche de la DI. L. 50 ovicide. L'étude histologique ne permet d'observer aucune malformation particulière, quel que soit l'âge des sujets. Les coupes d'oeufs incubés pendant 3 jours (et donc qui n'éclo-ront pas) ne montrent que des chenilles complètement formées dont aucune structure ne présente d'anomalies décelables.

● Altosid au 1/50ème : (voir planche 23, page 126) Les premières remarques concernent quelques embryons âgés de 18 heures qui accusent un retard dans

l'élaboration de leur système nerveux puisqu'il n'est pas observé de cellules initiales de ce tissu. Certains noyaux ectodermiques sont de plus pycnotiques. Le vitellus a alors un aspect anormal : il semble constitué de gros lobules individualisés que l'on ne retrouve pas dans les sections d'oeufs plus âgés.

Certains spécimens âgés de 24 heures ne montrent pas encore de système nerveux, mais la majorité des sujets possède des ébauches ganglionnaires.

A l'âge de 30 heures, les sections transversales de ganglions présentent des noyaux pycnotiques qui dans la plupart des cas sont localisés dans la partie ventrale (comme pour les témoins) mais qui, pour certains spécimens, sont répartis dans toute la masse ganglionnaire.

Les pycnoses sont encore visibles sur les sujets de 42 heures. Plusieurs n'ont pas encore subi leur retournement et parmi eux, certains sont pourvus d'une séreuse de grosse épaisseur. Le vitellus contient peu de vitellophages, y compris celui contenu dans le mésentéron d'embryons ayant effectué leur retournement.

L'interprétation des résultats obtenus avec ce traitement est délicate.

•Lorsque la fixation concerne des sujets relativement jeunes, elle se rapporte à 3 cas possibles :

-les embryons qui mourront sans se retourner
-ceux qui se retourneront, mais n'écloront pas
-ceux qui écloront.

•Lorsque la fixation concerne des oeufs plus âgés, si on peut facilement identifier le premier cas, les deux derniers ne peuvent être reconnus.

● Altosid au 1/10ème : (voir planches 24 et 25, pages 127 et 128).

Il s'agit d'une dilution ovicide à 100 %. C'est sur des coupes d'embryons âgés de 24 heures que l'on commence à constater l'effet du traitement.

Certains montrent un retard sur le développement des témoins, surtout au niveau du système nerveux. En effet, à la place d'ébauches ganglionnaires avec neuropile, on ne rencontre que des cellules à gros noyau clair (les premiers neuroblastes) au voisinage de la gouttière de gastrulation. Les tissus embryonnaires ont, de plus, un aspect "dissocié". On rencontre des mitoses aux endroits où la morphogénèse est la plus active à cet âge, tels les bourgeonnements d'appendices.

A l'âge de 30 heures, on retrouve encore des embryons n'ayant pas formé de ganglions nerveux ; ils sont toujours dotés des gros neuroblastes, clairs, dont certains sont observés en division.

D'autres embryons sont pourvus de ganglions dont le cortex est alors parsemé de nombreux noyaux pycnotiques, surtout dans la partie ventrale.

Après 36 heures d'incubation, aucun embryon ne s'est retourné. Ceux qui semblent les moins atteints montrent toujours des ganglions nerveux parsemés de noyaux pycnotiques. Les autres ont maintenant des cellules nécrosées réparties dans tous les tissus, les noyaux sont clairs et volumineux, avec des granulations foncées, périphériques, de taille inégale et irrégulièrement disposées. Les vitellophages prennent aussi une apparence anormale : certains noyaux augmentent de volume et s'éclaircissent.

A l'âge de 54 heures, quelques embryons parmi les moins atteints ont subi leur retournement. Tous les sujets encore vivants ont des ganglions nerveux d'allure assez primitive : le cortex est épais et les cellules semblent avoir des rapports assez lâches entre elles. L'endoderme est formé de cellules non fonctionnelles car elles ne sont pas pourvues de vacuoles apicales claires telles qu'on en rencontre chez les témoins. Le mésentéron est par ailleurs plein de vitellus, dépourvu totalement de vitellophages.

Après deux jours d'incubation, les embryons nécrosés sont maintenant entourés d'une séreuse dont les noyaux dégénèrent à leur tour. Ceux des vitellophages ne sont plus que des sphérules très colorables, la cellule elle-même a une forme sphérique, turgescente.

Les embryons les moins atteints n'ont toujours pas subi leur retournement, les coupes de ganglion nerveux ont également la même apparence qu'auparavant avec des noyaux pycnotiques.

Les observations faites plus tard ne permettent que de constater l'augmentation puis la stabilisation du nombre des embryons retournés. Des coupes pratiquées à 3 jours ne permettent pas encore de déceler de tissus nécrosés parmi ces embryons, la mort ne survient donc pour eux qu'après cet âge.

β) Traitement d'oeufs âgés de 24 heures.

• par l'altosid au 1/50ème : l'étude histologique ne révèle aucune malformation particulière des tissus même lorsque les coupes concernent des embryons âgés. Tous les sujets effectuent leur retournement, aussi bien dans les oeufs qui écloront que dans ceux qui n'écloront pas.

• par l'altosid au 1/10ème : (voir planche 26, page 129) Des observations faites sur les coupes réalisées sur des oeufs âgés de 38 heures, il ressort que tous les embryons se sont retournés. L'organogénèse n'est pas perturbée dans son cours : présence de tubes de Malpighi, accomplissement de la fermeture dorsale. Cependant le cortex ganglionnaire est parsemé de plusieurs noyaux pycnotiques. Ces pycnoses peuvent être observées dans les préparations réalisées sur les sujets plus âgés, tandis que l'organogénèse se poursuit (percement des valvules cardiaque et pylorique, apparition des oenocytes, mise en place de l'endoderme). Aucune malformation n'est relevée ailleurs que dans le système nerveux. On constate néanmoins un retard dans la constitution de l'embryon, l'aspect définitif de l'endoderme n'est atteint qu'à l'âge de 3 jours. Ces embryons ne naîtront pas et pourtant les quelques perturbations observées ne paraissaient pas d'importance telle que la mort puisse être prévue.

LEGENDE DE LA PLANCHE 23

Oeufs d'*Ephestia* traités à l'âge de moins d'une heure par l'altosi
au 1/50ème.

a : Coupe transversale à l'âge de 18 heures. La bandelette ne mo
pas encore d'initiales nerveuses.

b : Coupe longitudinale céphalo-thoracique à l'âge de 18 heures
laquelle apparaît nettement le fractionnement du vitellus. C
tains noyaux ectodermiques sont pycnotiques.

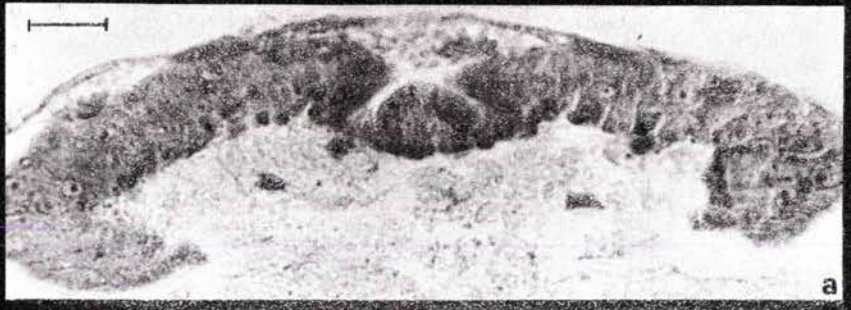
c : Coupe longitudinale de l'abdomen postérieur à l'âge de 18 he

d : Coupe transversale d'un ganglion abdominal à l'âge de 52 heu
Le neuropile est formé (n), le cortex montre plusieurs noyau
pycnotiques (flèche).

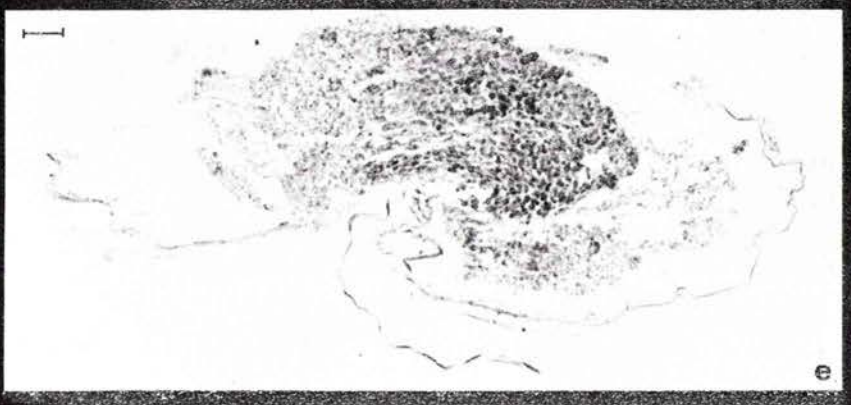
e : Section d'un embryon nécrosé après 3 jours d'incubation. L'a
de l'embryon n'est pas reconnaissable, les cellules sont tou
nécrosées.

f et g : montages in-toto d'embryons âgés de 3 jours malformés : l
deux sujets montrent une disposition inhabituelle, ils se
vouloir s'enrouler sans englober le vitellus.

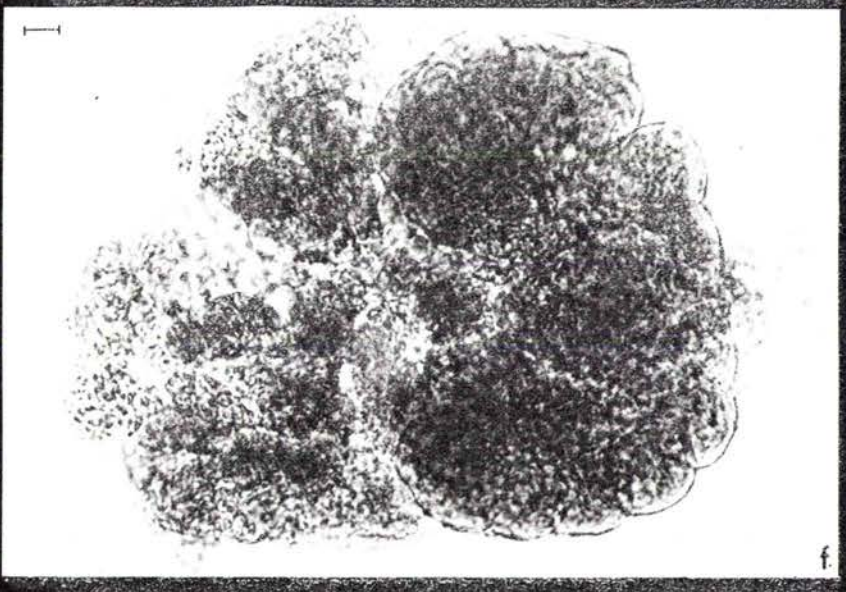
Le tiret représente 20 μ

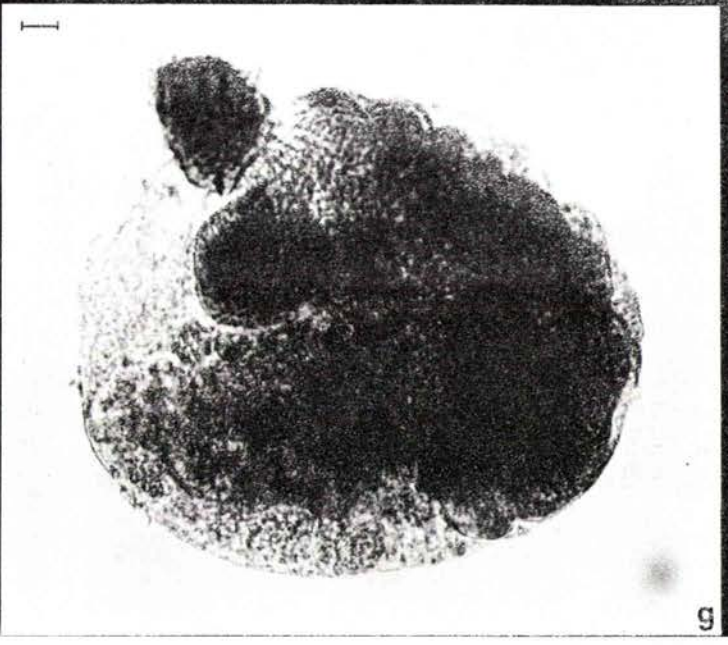

a

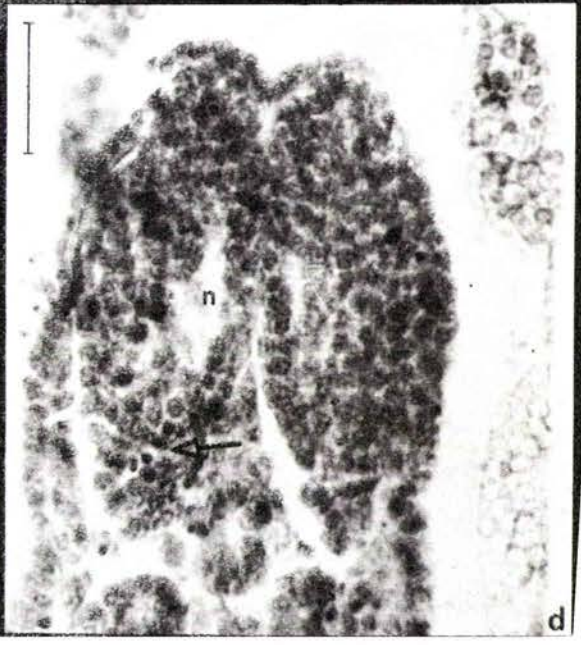

b


e


c


f


g


n
d

LEGENDE DE LA PLANCHE 24

Histologie d'embryons formés dans des oeufs d'*Ephestia* traités à l'âge de moins d'une heure par l'altosid au 1/10ème.

a à d : Coupes effectuées après 24 heures d'incubation à 30°C.

a : Coupe tangentielle, longitudinale montrant des mitoses ectodermiques dans la région thoracique (flèches).

b : Coupe transversale du thorax, la flèche désigne une initiale nerveuse. Ces cellules ont une grandeur inhabituelle, les noyaux ont un diamètre d'environ 7 µ.

c : Même remarque pour une coupe transversale de l'abdomen antérieur.

d : Dans la région où la coupe est transversale (flèche), on retrouve les grosses cellules nerveuses, claires. Ailleurs, la section est parasagittale et coupe les appendices sur toute leur longueur.

e à g : L'embryon est âgé de 30 heures : Persistance des grosses initiales nerveuses.

e : Coupe frontale abdominale et transversale du thorax.

f : Coupe transversale du thorax.

g : Coupe transversale de l'abdomen moyen.

Le tiret représente 20 µ


a
b
c
d
e
f
g

LEGENDE DE LA PLANCHE 25

Histologie d'embryons formés dans des oeufs d'*Ephestia* traités à l'âge de moins d'une heure par l'altosid au 1/10ème.

a : Coupe transversale de l'abdomen postérieur à l'âge de 30 heures. La flèche blanche indique le proctodéum, la flèche noire désigne les cellules nerveuses initiales.

b : Coupe transversale d'une partie plus antérieure de l'abdomen au même âge d'un spécimen ayant constitué son système nerveux. Cependant, les cellules nerveuses des ganglions sont pycnotiques (flèches blanches).

c : Coupe parasagittale thoracique au même âge, certaines cellules initiales nerveuses continuent à se diviser, la flèche désigne une métaphase.

d : Coupe frontale oblique de la tête à l'âge de 48 heures. Des cellules du cortex ganglionnaire sont pycnotiques (flèche) dans un " cerveau " bien formé.

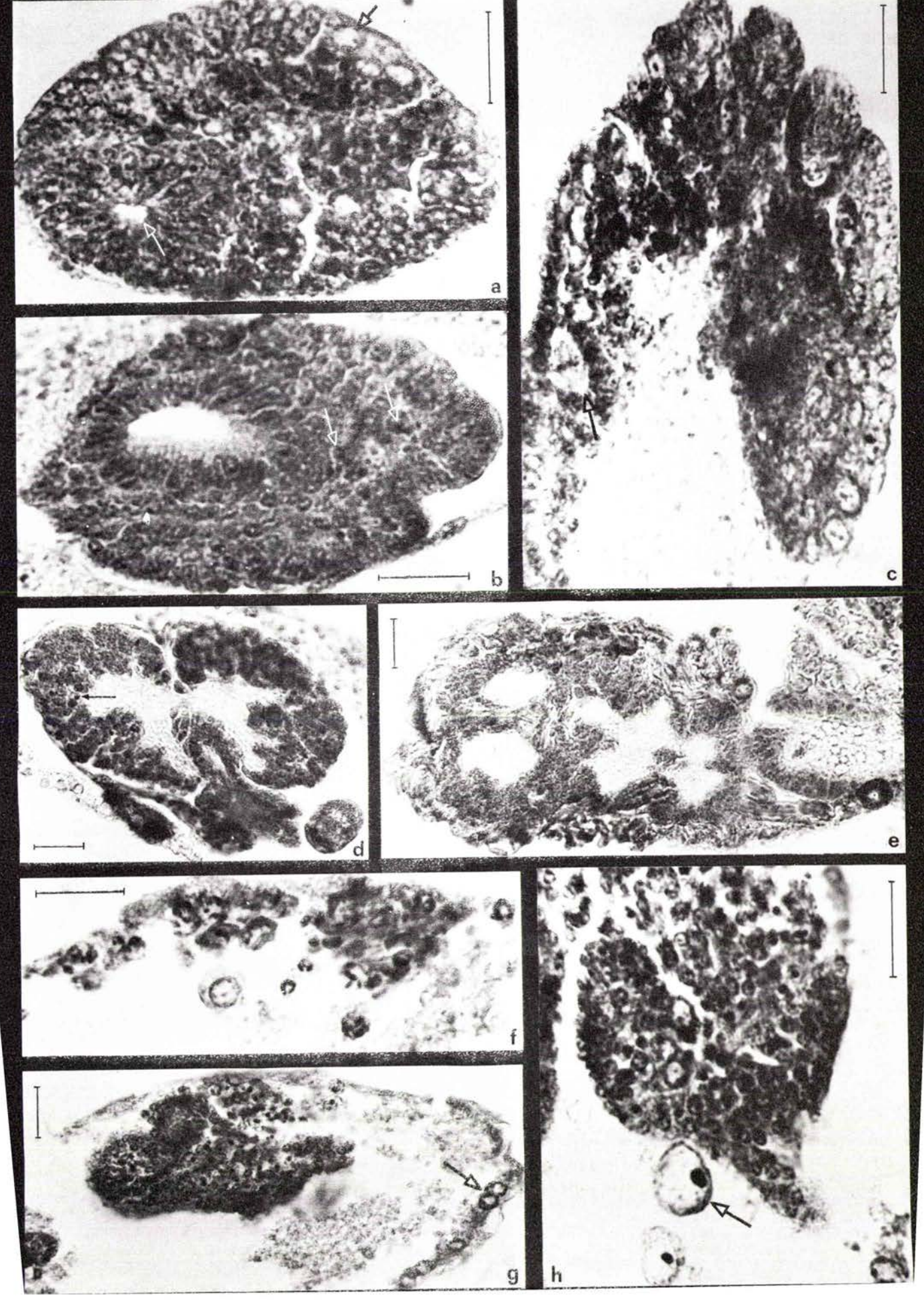
e : Section frontale du thorax au même âge. Les cortex des ganglions nerveux sont coupés dans leur partie latérale et ne montrent pas de pycnoses. Celles- ci sont rencontrées dans la face ventrale (celle qui est au voisinage de la séreuse, et donc vers l'extérieur).

f : Coupe transversale d'une bandelette nécrosée observée à l'âge de 36 heures.

g : Coupe tangentielle d'un abdomen postérieur nécrosé à l'âge de 48 heures. Les cellules de la séreuse sont atteintes à leur tour (flèche).

h : Coupe tangentielle thoracique, à l'âge de 48 heures. Ici, c'est au tour des vitellophages (flèche) de se nécroser.

Le tiret représente 20 μ


a
b
c
d
e
f
g
h

LEGENDE DE LA PLANCHE 26

Histologie d'embryons formés dans des oeufs d'*Ephestia* traités à l'âge de 24 heures par l'altosid au 1/10ème.

a : Coupe transversale de l'abdomen postérieur à l'âge de 38 heures. Le cortex ganglionnaire est parsemé de noyaux pycnotiques (flèche blanche). La flèche noire désigne une cellule de la paroi proctodéale en métaphase.

b : Coupe transversale du thorax à l'âge de 42 heures. La flèche traduit la persistance de noyaux pycnotiques.

c : Coupe transversale de l'abdomen antérieur à l'âge de 42 heures. Même remarque.

d : Coupe sagittale de l'abdomen à l'âge de 48 heures. La chaîne nerveuse coupée longitudinalement montre bien la localisation surtout ventrale des pycnoses dans le cortex ganglionnaire.

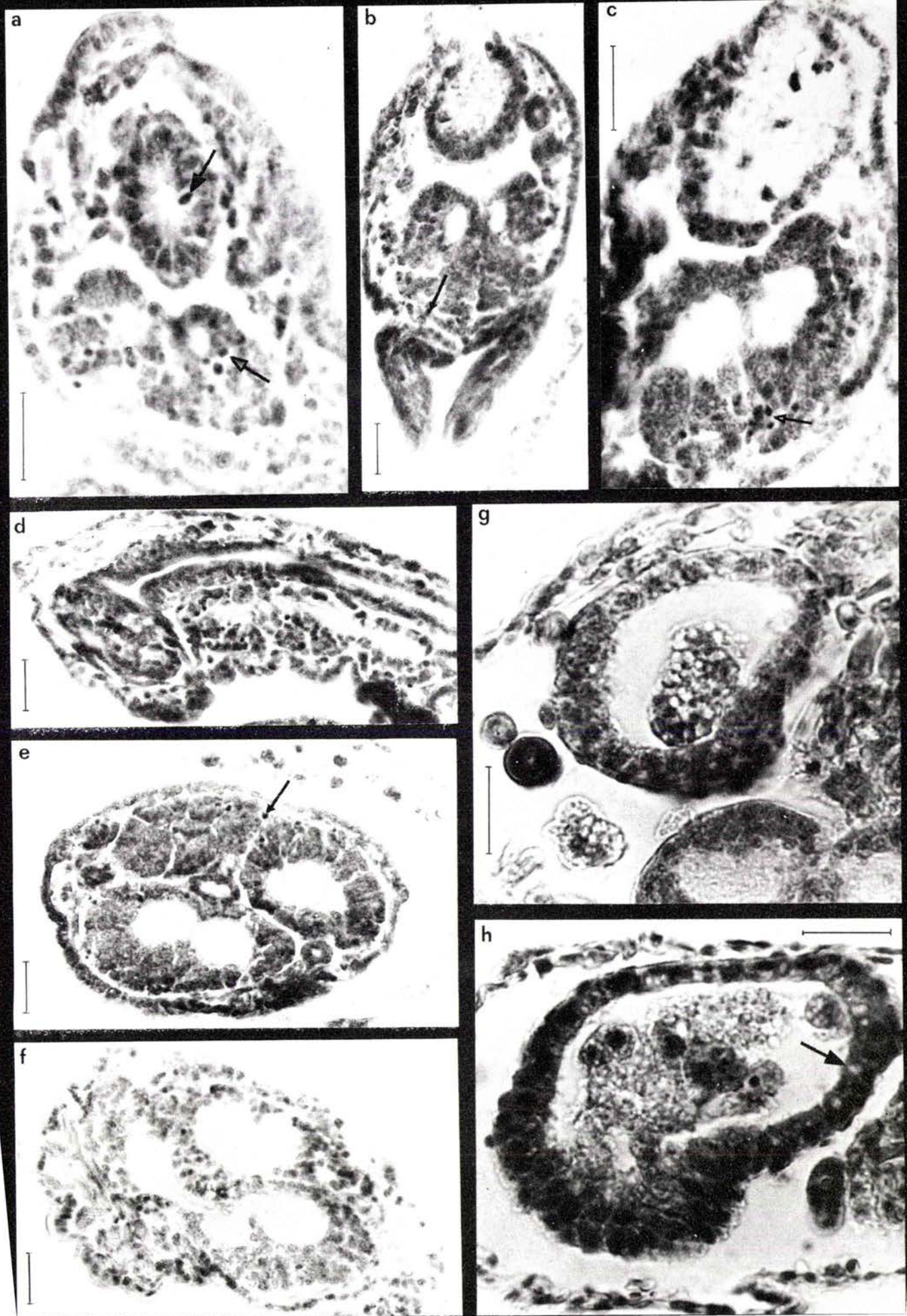
e : Coupe frontale de la tête à l'âge de 48 heures avec des cellules atteintes dans le cortex dorsal des ganglions cérébroïdes.

f : Coupe tangentielle du système nerveux thoracique à l'âge de 72 heures sur laquelle est aussi mise en évidence la répartition des pycnoses vers le côté ventral de l'embryon.

g : Coupe transversale du mésentéron à l'âge de 68 heures, l'endoderme est formé et se présente comme un épithélium unistratifié.

h : Coupe transversale du mésentéron à l'âge de 72 heures. Les cellules endodermiques sont pourvues d'une vacuole apicale (flèche). Les vitellophages sont groupés au centre du tube, mêlés au restant de vitellus non digéré.

Le tiret représente 20 µ


a
b
c
d
e
f
g
h

D - CONCLUSION ET DISCUSSION

Sur les oeufs d'*Ephestia*, l'altosid et l'altozar, se sont montrés beaucoup moins actifs que sur les oeufs de grillon. Cependant, si la durée du développement embryonnaire est allongée, par l'incubation des oeufs à plus basse température, les deux produits révèlent un pouvoir ovicide accru indiquant par là que le temps pendant lequel ils sont en contact avec l'oeuf détermine leur activité. Les expériences de lavage des oeufs après traitement, montrent qu'un temps de contact minimum de 3 à 6 h est nécessaire à l'altosid pour manifester entièrement son pouvoir ovicide, ceci dans le cas d'une incubation à 30°.

Au cours du développement embryonnaire, on constate que la sensibilité des oeufs aux produits se maintient jusqu'à l'âge de 36 heures dans le cas d'une incubation à 30°, puis diminue rapidement jusqu'à s'annuler. L'oeuf d'*Ephestia* se comporte donc de la même manière que la plupart des oeufs étudiés par les auteurs et pour qui l'oeuf est d'autant plus sensible que le contact avec l'HJA est précoce. D'après certains, la sensibilité serait à la limite maximale lorsque l'oeuf est dans l'oviducte de la femelle (RIDDIFORD et WILLIAMS, 1967) ; ce n'est pas l'avis de RETNAKARAN (1973), qui constate qu'un HJA actif sur les oeufs de *Choristoneura fumiferana* ne l'est plus dans le cas du traitement des femelles.

L'arrêt du développement se produit soit lorsque l'embryon est bien formé, (mais avant qu'il ne se retourne et ne résorbe entièrement le vitellus), soit plus tard, quand la petite chenille a terminé son évolution, elle semble normale mais n'éclot pas. Ceci a également été constaté par GELBIC et SEHNAL (1973) qui traitent des pontes de *Cydia pomonella* L. par l'altozar. Ils constatent de plus, l'arrêt du développement au cours de phases précoces. L'altozar se révéle, à cette occasion, 5 fois moins actif que l'hormone juvénile en C17, laquelle provoque 50 % de morts à l'éclosion lorsqu'elle est déposée à raison de 0,01 µg/oeuf, et 100 % dans le cas de 0,1 mg/oeuf. Une quantification semblable n'est pas possible avec le protocole adopté chez *Ephestia*. Dans des conditions semblables, PEYER et VOGEL (1971) expriment les doses utilisées en gramme

par cm2 de papier-filtre. D'une manière générale, ils trouvent l'oeuf d'*Ephestia* très sensible aux HJA mais ne donnent pas d'ordre de grandeur aux substances qu'ils emploient, car l'effet obtenu leur semble plutôt imputable à une action toxique que juvénilisante. Néanmoins, s'il fallait exprimer de façon pondérale les résultats obtenus lors de la recherche de la DI. L. 50, cela correspondrait environ :

A la température de 30°C,

Pour l'altosid : à 1×10^{-4} g/cm2 de papier filtre

Pour l'altozar : à 6×10^{-5} g/cm2

A la température de 22°C,

Pour l'altosid : à 3×10^{-6} g/cm2.

Ces valeurs se rapportent à la substance pure.

Aucune malformation n'a été observée au niveau du tégument appendiculaire. L'histologie a révélé que la structure qui paraissait la plus concernée par le traitement à l'altosid, est le système nerveux. Pour certains spécimens, c'est la phase initiale du processus de formation qui est atteinte, et la constitution des ganglions ne s'accomplit pas. Les sujets qui semblent le moins éprouvés ne présentent que des nécroses cellulaires dans la partie ventrale du cortex ganglionnaire ; aucune anomalie n'a été trouvée dans leur tube digestif qui s'était révélé chez le grillon être un organe-cible.

Si on considère l'aspect quantitatif ou si on examine la nature des dérangements produits par le traitement à l'altosid, l'oeuf d'*Ephestia* s'avère donc réagir de manière différente de l'oeuf de grillon. Chez ce dernier, c'est l'effet morphogénétique du produit qui peut être observé, tandis que chez *Ephestia*, on assiste plutôt à la manifestation des propriétés toxiques du mimétique de l'hormone juvénile.

CHAPITRE III :

ESSAIS DIVERS

Il m'a paru opportun de tester l'activité ovicide de l'altosid et de l'altozar sur les oeufs d'insecte récoltés durant la période d'expérimentation. Le nombre des essais pratiqués est fonction de l'importance des pontes.

I - *Tenebrio molitor* L.

C'est l'insecte primitivement choisi comme deuxième matériel expérimental, en lieu et place d'*Ephestia*. En effet, l'embryon subit un développement de type ectoblastique, la méthode d'élevage du ver de farine est simple, enfin, cet animal ayant été utilisé pour définir des tests d'activité juvénilisante (KARLSON et NACHTIGALL, 1961) ; BOWERS et THOMPSON, 1963), il paraissait intéressant d'étudier l'activité ovicide de l'altosid et l'altozar de façon :

- d'une part, à la comparer aux résultats obtenus chez le grillon,
- d'autre part, à la comparer à d'autres expériences permettant d'évaluer parallèlement l'activité juvénilisante de ces produits, comme le "*Tenebrio* test".

La récupération des pontes est possible en disposant une feuille de papier filtre au fond du récipient d'élevage. Les femelles s'enfouissent dans le mélange nutritif et collent leurs oeufs sur ce support. A la température de 35°C et en atmosphère sèche, le développement embryonnaire se réalise en un peu plus de 5 jours.

Si les pontes sont trempées dans l'eau distillée dans le but de constituer des lots témoins, aucune éclosion ne se produit. Il semble que la farine englobée dans le mucus qui recouvre les oeufs soit à incriminer.

Elevés, même passagèrement, dans d'autres milieux nutritifs les femelles ne pondent pas, aussi a-t-il été envisagé un type de traitement par vapeurs. C'est la technique utilisée par MATOLIN et ROHDENDORF (1972) sur les oeufs de *Thermobia domestica* ainsi que par WALKER et BOWERS (1970) sur les oeufs de *Lasioderma serricorne* et *Epilachna varivestis* pour des HJA mais aussi pour le parathion. Dans les lots témoins alors constitués, l'action de la vapeur d'eau, à elle seule, empêche toute éclosion.

Cette espèce, si largement utilisée pour l'étude de l'action des HJA sur les larves, nymphes et adultes s'avère donc inutilisable pour l'expérimentation sur l'oeuf.

II - *PENTATOMIDES*

Ils proviennent de l'élevage de punaises des blès entretenu à l'insectarium de la station INRA de Meknès. L'espèce la plus intéressante est *Aelia cognata* FIEB, car son développement embryonnaire a été étudié dans le détail par VOEGELE (1967). Ne pouvant disposer d'un nombre suffisant d'individus, c'est *Graphosoma semipunctata* FABRICIUS, qui servit à l'expérimentation. Cette punaise est élevée selon la méthode mise au point par VOEGELE (1966) ; les pontes sont aisément repérables et prélevables. Mises à incuber à 30°, l'éclosion se produit au bout de 5 jours.

Des essais préliminaires effectués avec de faibles dilutions de l'altosid (1/10ème, 1/50ème, 1/100ème) montrent des taux d'éclosions voisines des témoins (respectivement : 92, 91,3 et 95,8 %.) plaidant pour une insensibilité totale de l'oeuf.

Les mêmes dilutions sont appliquées sur des oeufs âgés de 1, 2, et 4 jours de façon à rechercher une éventuelle sensibilité au cours du développement. A aucun moment, les taux d'éclosion ne sont inférieurs à 96 %.

L'altozar montre des résultats identiques.

L'oeuf de *Graphosoma semipunctata* est donc complétement insensible à des traitements par ces deux produits. Cela doit être en grande partie attribué à la nature du chorion, épais, rigide, et donc vraisemblablement peu perméable.

Altosid et altozar ayant montré chez *Ephestia* et *Gryllus* des propriétés ovicides, manifestent une spécificité d'action dont il serait intéressant de déterminer la portée en multipliant les essais. De telles propriétés ont déjà été rapportées par les auteurs, ainsi la juvabione qui, au contraire de ces deux produits, est active sur des hémiptères (Pyrrhocorides) et inactive sur un orthoptère comme *Schistocerca gregaria* (NOVAK, 1969). MATOLIN (1971), n'obtient également

aucun effet sur *Musca domestica* avec un HJA pourtant actif sur *P. apterus* et *Thermobia domestica*. La spécificité d'action est une qualité recherchée lors des essais de mimétiques de l'hormone juvénile car elle a un intérêt primordial pour l'emploi sur le terrain.

III - *Culex pipiens* L.

Quelques pontes ont été traitées avec de l'altosid au 1/10ème et au 1/1000ème. En fait, il n'est pas possible d'immerger les pontes entières, elles doivent être dissociées pour que chaque oeuf puisse être plongé dans la solution utilisée. L'altosid a été appliqué sur des oeufs âgés de 3 à 16 heures. Le développement embryonnaire s'effectue environ en 2 jours et demi, aucune diminution du taux des éclosions n'est observée.

L'intérêt de cette manipulation est qu'elle montre l'inactivité sur l'oeuf d'une substance retenue par les auteurs pour son action sur d'autres étapes de la vie du moustique. Les traitements sont surtout pratiqués sur des quatrièmes stades larvaires (LEWALLEN, 1964 ; SPIELMAN et WILLIAMS, 1966). Mis à part les résultats obtenus par SMITH et ARKING (1975) sur *Drosophila melanogaster*, il n'a jamais été observé d'effet ovidice chez les Diptères quel que soit le produit testé.

IV - *Bombyx mori* L.

Les oeufs de *B. mori* ont la particularité d'être des oeufs à diapause. Pondus à la belle saison, ils commencent à se développer jusqu'à la formation du blastoderme qui leur confère une coloration grise sombre, puis ils entrent en diapause. Le développement ne reprend qu'au printemps suivant et à divers moments pour les oeufs d'une même ponte.

• Tout d'abord sont traités des oeufs récemment pondus par les dilutions au 1/10ème, 1/100ème, 1/1000ème, 1/5000ème de l'altosid et de l'altozar. L'application concerne des fractions de pontes âgées de 0 à 6 heures, d'un jour, de 5 jours, de 7 jours, 10 jours et 16 jours. Les pontes manifestant normalement des taux d'éclosion très variables, il est préférable de les fractionner, un certain nombre d'oeufs servant de

témoins, les autres étant traités. Ces oeufs sont fortement collés au support de papier où les femelles ont pondu.

Ce support est découpé, les morceaux de papier portant les oeufs immergés dans la solution voulue durant 5 minutes, puis mis à sécher à l'air libre.

L'incubation se fait à la température du laboratoire.

Dans ces conditions et 9 mois plus tard :

- les dilutions au 1/10ème, 1/100ème et 1/1000ème, de l'altosid comme de l'altozar se sont avérées ovicides à 100 %.
- les dilutions au 1/5000ème ont provoqué des écarts avec les taux d'éclosion des témoins variant pour le plus grand nombre de 3,5 à 27 %. Ces écarts ne semblent pas liés avec le moment du traitement, deux lots ont été particulièrement touchés : une application d'altosid sur des oeufs âgés de 7 jours provoquant 38 % d'éclosions de moins que le témoin, et l'application d'altozar sur des oeufs âgés de 0 à 6 heures s'avérant ovicide pratiquement à 100 %.

Ce qu'il faut retenir, c'est que les deux HJA agissent sur les oeufs de *Bombyx* récemment pondus; ils manifestent des activités d'intensité beaucoup plus voisines que celles observées sur les oeufs de grillon. L'examen des oeufs non éclos montre que certains (d'autant plus nombreux que la dose utilisée est forte) n'ont pas dépassé le stade blastoderme, tandis que d'autres contiennent une chenille entièrement formée. Cette deuxième possibilité amène la question suivante : l'arrêt du développement se produit-il à la suite d'une pénétration de l'HJA lors du traitement, de son stockage dans l'oeuf (où ?) et de son action lors de la rupture de diapause ? Ou bien, le produit déposé sur le chorion et le papier support conserve-t-il son activité et penêtre-t-il à nouveau l'oeuf lors de cette rupture de diapause ? Il a pu être démontré que le produit resté ainsi à l'extérieur de l'oeuf est encore actif lors de la reprise du cours du développement embryonnaire. Pour cela, en juillet 1976, j'ai mis à tremper dans des petites coupelles d'eau distillée des échantillons traités en juin 1975 par l'altosid ou l'altozar au 1/10ème.

Cette eau a servi à badigeonner des oeufs de grillon âgés de 60 heures qui ont manifesté ensuite les taux d'éclosions suivants :

- environ 19 % avec l'altozar
- environ 62 % avec l'altosid

Ces deux chiffres ne sont pas à comparer entre eux car les

conditions d'expérience ont été assez sommaires, mais il est important de noter qu'une activité ovicide est encore décelable plus d'un an après le dépôt des produits !... Les oeufs de grillon non éclos montrent des atteintes sur les appendices comparables à celles déjà décrites.

• Dans un deuxième temps, les mêmes traitements sont réalisés au moment de la rupture de diapause, 3 fois, à une semaine d'intervalle sur des pontes différentes. Les résultats sont plus délicats à interpréter car, lors de l'application des produits, tous les oeufs de la même ponte n'ont pas atteint le même degré de développement, certains sont même déjà éclos. L'activité est évaluée en prenant en considération les progressions définitives des taux d'éclosion qui sont rapportées dans les tableaux suivants :

		PROGRESSION DES TAUX D'ECLOSION		
		Ponte n°1 traitée la 1ère semaine	Ponte n°3 traitée la 2ème semaine	Ponte n°5 traitée la 3ème semaine
Témoin		+60,1 %	+45,9 %	+30,1%
TRAITEMENT ALTOSID	1/10	0	+4,2 %	0
	1/100	+1,3 %	+10,6 %	+4,6 %
	1/1000	+3,2 %	+16,4 %	+1,3 %
	1/5000	+58,1 %	+57,1 %	+6,3 %

		PROGRESSION DES TAUX D'ECLOSION		
		Ponte n°2 traitée 1ère semaine	Ponte n°4 traitée 2ème semaine	Ponte n°6 traitée 3ème semaine
Témoin		+55,4 %	+85,1 %	+73,3 %
Traitement ALTOZAR	1/10	0	0	0
	1/100	+5,3 %	+5,8 %	+5,3 %
	1/1000	+10,4 %	+16,3 %	+5 %
	1/5000	+20,9 %	+27,0 %	+40 %

Il ressort de ces résultats que l'altosid et l'altozar manifestent des pouvoirs ovicides de même ordre que le traitement soit fait lors de la ponte, ou bien lors de la rupture de diapause. Dans ce dernier cas, les taux d'éclosions plus élevés que l'on constate parfois avec les dilutions au 1/100ème et au 1/1000ème par rapport au même traitement pratiqués sur des oeufs récemment pondus sont dus aux oeufs ayant pratiquement achevé leur évolution alors qu'intervenait la manipulation, et qui ont cependant éclos.

L'application de farnesol sur des oeufs d'*Aeneolamia varia saccharina* donne au contraire des résultats très différents selon que le produit est déposé pendant la diapause ou bien à la fin de celle-ci (FEWKES, 1963).

Par ailleurs, TAKIGAWA et al (1975) attribuent à *B. mori* une sensibilité très étroite aux HJA. Pour ce qui est des deux substances qui nous intéressent, la ressemblance des effets obtenus sur l'oeuf est grande, mais il est vrai que les constitutions chimiques sont voisines.

CONCLUSION GENERALE ET DISCUSSION

Chaque chapître a déjà donné lieu à l'exposé des conclusions s'y rapportant et à leur discussion ; dans cette dernière partie, je tenterai d'en effectuer une synthèse réinsérée dans le contexte actuel des travaux sur les analogues de l'hormone juvénile.

La première question qui se pose à la suite du traitement d'oeufs par un HJA est de savoir quel est le rapport existant entre l'effet ovicide constaté et l'activité juvénilisante de ce produit. A la réflexion, une action juvénilisante sur des oeufs d'insecte ne peut être reconnue de façon certaine que dans le cas d'accidents intervenant, au plus tôt, durant la vie larvaire. Les conséquences sur le développement embryonnaire et l'éclosion semblent plus facilement attribuables à un pouvoir toxique de la substance. La nature des effets obtenus paraît bien étrangère à un processus de juvénilisation. Ce qui n'exclut pas que les HJA puissent engendrer des réactions semblables à celles produites par une application d'hormone vraie. Ainsi, l'effet au niveau du tégument obtenu chez le grillon est à rapprocher de l'action tégumentaire de l'hormone juvénile.

Les quantités de produits utilisées à des fins ovicides, ou bien à des fins juvénilisantes se situent à des niveaux peu comparables. Cela n'est expliqué de manière entièrement satisfaisante, ni par le fait qu'un chorion puisse présenter des caractères de perméabilité distincts de ceux d'un tégument, ni par le fait que les voies expérimentales de pénétration du HJA dans la larve, la nymphe ou l'adulte soient parfois différentes du traitement topique, le plus souvent choisi pour l'oeuf.

RETNAKARAN (1975) classe les HJA en deux groupes : les HJA hormonomimétiques, c'est-à-dire provoquant les mêmes effets qualitatifs qu'une application d'hormone juvénile, et ceux qui agissent comme des poisons respiratoires et donc à effet pharmacologique. En ce qui concerne le pouvoir ovicide de ces substances, il faut faire une distinction suivant qu'il résulte d'un effet toxique, comme c'est le cas pour *Ephestia* ou bien d'un action morphogénétique, comme chez le grillon. Le même HJA peut se manifester d'une manière ou de l'autre suivant les espèces : c'est le cas de l'altosid. Aussi, plutôt que ranger les mimétiques en classes, conviendrait-il de classer leur mode d'action suivant les insectes traités.

L'utilisation des HJA dans la nature soulève le problème de leur rentabilité. A l'heure actuelle, on estime que pour être compétitifs avec les insecticides conventionnels, ils ne doivent pas, à résultat comparable, être employés à plus de 250 grammes par hectare. Dans le cas de la recherche d'une action ovicide, cette quantité semble bien faible car, indépendamment des sensibilités plus ou moins grandes manifestées par les oeufs, il faut considérer que les pontes sont bien souvent protégées, voire enfouies. Les essais que j'ai entrepris avec l'altosid et l'altozar ne visent qu'à déterminer la sensibilité d'oeufs, isolés de leur milieu, et qui se traduit par une modification des taux d'éclosions et par des manifestations au cours du développement embryonnaire.

Les pontes de *Culex pipiens* et de *Graphosoma semipunctata* se sont révélées complétement insensibles aux traitements. Les autres insectes sur lesquels une activité ovicide a été observée appartiennent à des ordres différents. Il peut cependant arriver qu'au sein d'un même ordre, certaines espèces soient résistantes à des traitements très actifs pour d'autres (SLAMA et WILLIAMS, 1966_2).

Les oeufs d'*Ephestia* sont très peu sensibles à l'altosid et à l'altozar. Ils ont permis de montrer que la température, en déterminant la durée de l'embryogénèse, conditionnait l'intensité de l'activité du traitement. La période de sensibilité de ces oeufs représente, dans le cas d'une incubation à 30°, les deux premiers tiers du développement embryonnaire. Il serait intéressant de pouvoir expérimenter à plus basse température afin de déterminer l'importance à attribuer au séjour de l'HJA dans l'oeuf, en fonction de la constitution des tissus et des organes. Le temps de pénétration du HJA à travers le chorion est aussi susceptible de varier avec la température d'incubation. A 30° C, il est relativement court puisque les expériences de lavage d'oeufs permettent de l'évaluer entre 3 et 6 heures et cela, durant toute la phase de sensibilité. Chez le grillon, au contraire, ce temps de "latence" se raccourcit au fur et à mesure que l'on se rapproche de la période de plus grande sensibilité. J'ai pu montrer que l'oeuf de grillon commençait son évolution par une augmentation de taille et de poids allant croissant, jusqu'à la catatrepsis (CROCHARD, 1974). Le problème est de savoir si la variation

de perméabilité du chorion est responsable de l'augmentation de sensibilité, ou bien si c'est la proximité de plus en plus rapprochée de la catatrepsis, en temps que mécanisme embryonnaire vulnérable qui est en cause. Une partie de la réponse aurait pu être fournie par l'oeuf de *Graphosoma*, lequel subit aussi la blastokinèse, tout en n'augmentant pas de taille. Il s'est malencontreusement révélé complètement insensible aux traitements, et si des essais sur d'autres espèces sont à envisager, ce résultat négatif confirme que le premier facteur à considérer est la perméabilité de l'oeuf. D'après SMITH et SALKED (1966) l'effet toxique d'une substance tient à l'adaptation du chorion à laisser pénêtrer l'oxygène. WIGGLESWORTH (1969) pense que les HJA interviendraient en modifiant les caractères de perméabilité de l'oeuf et, dans le cas de l'absorption d'eau, d'après BROWNING (1965), il s'agirait d'une perméabilité passive.

Les expériences de transfert d'activité ont montré que l'altosid conservait, en partie au moins, son activité ovicide plusieurs heures après sa pénétration dans l'oeuf. Il semblerait aussi que ce soit au niveau du vitellus que le produit s'accumule. Des techniques appropriées permettraient de connaître les sites d'accumulation du HJA dans l'oeuf ainsi que les capacités de métabolisation par l'embryon.

L'activité de l'altosid et de l'altozar varie avec les échantillons, posant ainsi le problème de leur conservation et leur stabilité en général. Initialement, la fragilité des molécules de HJA en fonction des conditions de milieu était considérée comme favorable car, dégradées, elles ne polluaient pas. Puis cette qualité est devenue un défaut dès lors que leur coût a exigé une longévité suffisante pour garantir l'efficacité recherchée. SORM (1971) estime nécessaire de rechercher des molécules le plus stable possible par rapport à la lumière, à la température, aux moisissures, etc... Des essais préliminaires de confrontation à des températures assez élevées et d'exposition aux ultra-violets plaident pour une certaine résistance de l'altosid et de l'altozar. SARMIENTO et al. (1973) rapportent que certains HJA exposés durant 8 heures aux sunlights ne perdent que 1 % de leur activité, 12 % après

une mise en solution dans l'eau de 24 heures. Les essais de stabilité sont maintenant entrepris en même temps que pour la toxicité et la biodégradabilité (HANGARTNER et al., 1976).

Le taux d'éclosion des oeufs de grillon a été abaissé à 50 % après traitement à l'altosid au 1/7000ème (I_1), au 1/15.000ème (I_2), au 1/80.000ème (I_3) et par l'altozar au 1/325ème (A_1) et au 1/2500ème (A_2). On peut, par un calcul simple, chiffrer approximativement la quantité de produit qui a pénétré dans chaque oeuf au cours de ces manipulations. En effet, le poids augmente pour chacun d'entre eux de 0,9 mg en moyenne entre la ponte et l'éclosion. Cela représente, en lui attribuant une densité égale à 1, le poids maximum de solution susceptible de traverser le chorion, en supposant que la perméabilité de celui-ci soit orientée (ce qui est certainement inexact : il a pu être montré l'existence d'une perméabilité dans les deux sens pour certaines espèces par CHAUVIN et al., 1973 chez *Triatoma infestans*). En tenant compte des pourcentages de produit actif dans les échantillons testés cela représente, au maximum, un poids approximatif de 68 nanogramme/oeuf pour I_1

32 nanogramme/oeuf pour I_2

6 nanogramme/oeuf pour I_3

1,8 microgramme/oeuf pour A_1

0,25 microgramme/oeuf pour A_2

Ces chiffres doivent être réduits environ de moitié quand il s'agit du traitement d'oeufs âgés de plus de 60 heures, car à cet âge, l'augmentation de poids est déjà réalisée pour moitié. Il existe des HJA actifs à raison d'une fraction de nanogramme par oeuf, voire à raison du picogramme par oeuf.

La différence de pouvoir ovicide manifestée par l'altosid et l'altozar sur les pontes de grillon n'a pas été retrouvée chez *Ephestia* ni chez *Bombyx mori*. De plus, l'activité manifestée sur les oeufs de *B. mori* est différente de celle constatée sur ceux d'*Ephestia* (appartenant pourtant au même ordre) et sur ceux de *Gryllus*. Cependant, il n'est pas prouvé que les embryons des deux Lépidoptères soient moins sensibles aux 2 HJA que ceux du grillon, car dans leur cas l'oeuf n'augmente pas (ou

très peu de volume et la quantité de produit qui le pénètre est peut-être égale voire plus faible que celle entrant dans l'oeuf de grillon.

L'action manifestée sur les embryons de grillon et sur ceux d'*Ephestia* et de *Bombyx* est qualitativement distincte. On retrouve chez l'embryon de grillon des malformations du type produit par le farnesol au niveau des appendices et sur le mécanisme général embryogénétique. L'embryon d'*Ephestia* ne montre pas de malformation. Dans certains cas, l'oeuf renferme une chenille entièrement formée mais qui n'éclot pas. Dans d'autres, l'arrêt du développement est plus précoce et le vitellus montre une coloration inhabituelle. Dans ce dernier cas, l'étude histologique montre que c'est le système nerveux qui est le plus atteint. Chez le grillon, cette structure est également touchée après des traitements pratiqués sur des oeufs fraîchement pondus, mais le plus fort effet concerne le tégument et le tube digestif. Il serait intéressant de déterminer si ce sont des sites d'accumulation du produit, ou bien si on assiste à une manifestation induite par une action à un autre niveau.

Ce travail, s'il a permis d'apporter des confirmations, des réponses à certaines questions posées à la suite de l'étude de l'action ovicide du farnesol, amène d'autres questions. Les HJA constituent une voie de recherche récente et les études, si elles permettent de résoudre certains des problèmes posés, débouchent parfois sur des réponses inattendues. MORS et al., 1967, réalisant un essai de toxicité sur des souris découvrent un traitement efficace contre un Trematode parasite. On peut retenir aussi la perspective d'emploi d'HJA, au travers de leur capacité d'induire des stades larvaires surnuméraires, pour obtenir des cocons de ver-à-soie géants (CHANG, 1972 ; MURAKOSKI et al., 1972).

Mais du point de vue vraiment "insecticide", ces HJA ne suscitent plus le même enthousiasme. Comme le dit LECARRE (1972), ils ne constitueront pas l'arme absolue contre les insectes nuisibles, mais arriveront en complément d'autres méthodes de lutte, biologique, bactériologique, par les phérormones etc... Il existe néanmoins des espèces qui résistant à plusieurs insecticides conventionnels résistent également aux HJA (DYTE, 1972). Mais contre ces irréductibles, il est d'ores et déjà question de mettre au point une "4ème génération d'insecticides" : les anti-hormones ou antiallatotropines ou précocènes (MAUGH, 1976), inspirés elles aussi des réactions des végétaux aux insectes parasites, tout comme la découverte du "paper factor" avait introduit la 3ème génération d'insecticides.

BIBLIOGRAPHIE

ABDEL-GAWAAD (A.A.), 1976. - Effect of three juvenile hormone analogues on insects from different orders. Z. Angew. Entomol., 80, n° 4, pp. 346-355.

ABDEL-GAWAAD (A.A.), ABDEL-KARIM (E.S.), EL-LAKWAH (F.A.) et EL-BERRY (A.R.), 1974.- Effects of some juvenile hormone analogues on *Spodoptera littoralis* Boisd. (Noctuidae, Lepidoptera). Z. ang. Ent. 76, pp. 321-325.

AHMED (S.M.) et ABDEL-GAWAD (A.A.), 1975. - Labor-und Freiland versuche zur Bekämpfung von vier Blattlausarten mit zwei synthetischen Juvenilhormon-Analogen. Anz. Schädlingskde Pflanz-u. Umweltschutz, 48, n° 10, pp. 148-150.

BAGLEY (R.W.) et BAUERNFEIND (J.C.), 1972.-Field experiences with juvenile hormone mimics. Insect Juvenile hormone MENN (J.J.) BEROZA (M.), pp. 113-151.

BALACHOWSKY, 1972.- Entomologie appliquée à l'agriculture. Tome II, vol. 2, Masson et cie.

BERKOFF (C.E.), 1970.- Synthetic JH and "Synthetic J.H.". Science USA, 168, n° 3939, pp. 1607.

BOBOYE (S.O.) et CARMAN (G.E.), 1975.- Effect of insect growth regulators with Juvenile hormone activity on the development of the california red scale. J. Econ. Entomol., 68, pp. 473-476.

BOWERS (W.S.), 1968.- Juvenil hormone activity of natural and synthetic synergists. Science, 161, n° 3844, pp.895-897.

BOWERS (W.S.), 1971.- Chemistry and biological activity of morphogenetic agents. Bull. Soc. ent. suisse, 44, n° 1-2, pp. 115-130.

BOWERS (W.S.) et THOMPSON (M.J.), 1963.- Juvenile Hormone Activity. Effects of Isoprenoïd and Straight-chain Alcohols on Insects. Science, 142, n° 3598, pp. 1469-70.

BOWERS (W.S.), THOMPSON (M.J.) et VEBEL (E.C.), 1965.- Juvenile and gonadotropic hormone activity of 10-11 epoxyfarnesenic acid methyl ester. Life Sci., 4, pp. 2323-2331.

BRANSBY-WILLIAMS (W.R.), 1972.- Activity of two juvenile hormone analogues with *Heliothis armigera* HUBNER, *Sitophilus zearmais* MOTSHULSKY and *Ephestia cautella* WALKER. East African Agricultural and Forestry journal, 28, n°2, pp. 170-174.

BREEDEN (G.C.), TURNER (E.C.) et BEANE (W.L.), 1975.- Methoprene as feed additive for control of the house fly breeding in chicken manure. J. Econ. Entomol., 68, pp. 451-452.

BROWNING (T.O.), 1965.- Observations on the absorption of water, diapause and embryogenesis in the egg of cricket *Teleogrillus commodus* WALKER. J. exp. Biol. 43, pp. 433-439.

BULL (O.L.), RIOGWAY (R.L.), BUXKEMPER (W.E.), SCHWARZ (M.), Mc GOVERN (T.P.) et SARMIENTO (R.), 1973.- Effects of synthetic JH on certain injurious and beneficial Arthropods associated with cotton. J. Econ. Entomol., 66, 3, pp. 623-626.

CERF (D.C.) et GEORGHIOU (G.P.), 1972.- Evidence of Cross-resistance to a Juvenile Hormone Analogue in Some Insecticide-resistant Houseflies. Nature, 239, n° 5372, pp. 401-402.

CHAMBERLAIN (W.F.), HOPKINS (O.E.) et SCHWARZ (M.), 1973.- Cattle biting louse : Evaluation of compounds for JHA. II Hormonal and toxic effects. J. Econ. Entomol. 66, 3, pp. 703-706.

CHANG (C.F.), 1972.- Giant cocon on formation in the silkworm *Bombyx mori* L. topically treated with methyllenedioxyphenyl derivates. Agric. Biol. Chem., 36, pp. 692-694.

CHAUVIN (G.), BARBIER (R.) et BERNARD (J.), 1973.- Ultrastructure de l'oeuf de *Triatoma infestans* KLUG. Z. Zellforsch., 138, pp. 113-132.

CROCHARD (C.), 1974.- Etude expérimentale du pouvoir ovicide d'un analogue de l'hormone juvénile (le Farnesol) sur des pontes de *Gryllus bimaculatus* De Geer (Insecte - orthoptère). DES Université de Nancy, 153 p.

CROCHARD (C.), 1975.- Définition du test "Grillon" d'activité ovicide des analogues de l'hormone juvénile des insectes. C.R. Acad. Sc., 281, D, pp. 61-64.

CUPP (E.W.) et O'NEAL (J.), 1973.- The morphogenetic effects of two juvenile hormone analogues on larvae of imported Fire Ants. Environmental Entomology, 2, n° 2, pp. 191-194.

CUZIN-ROUDY (J.) et SRIHARI (T.) (1975).- Action de substances mimétiques de l'hormone juvénile sur le développement post-embryonnaire d'un insecte aquatique : *Notonecta maculata* FABRICIUS (Hétéroptères). C.R. Acad. Sc. (D) 280, n° 4, pp. 459-462.

DAOUD (S.D.) et SEHNAL (F.), 1974.- Effects of juvenoïds on the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (WIED) (Diptera, Trephritidae). Bull. ent. Res., 64, pp. 643-651.

DUNN (R.L.) et STRONG (F.E.), 1973.- Control of catch-basin mosquitoes using Zoecon ZR 515 formulated in a slow release polymer. A preliminary report. Mosq. News. 33, 1, pp. 110-111.

DYTE (C.E.), 1972.- Resistance to synthetic JH in a strain of the flour Beetle *Tribolium castaneum*. Nature, 238, 5358, pp. 48-49.

EDWARDS (J.P.), 1975.- The effects of a juvenile hormone analogue on laboratory colonies of pharaon's ant, *Monomorium pharaonis* L. (Hymenoptera, Formicidae). Bull. entomol. Res., 65, n° 1, pp. 75-80.

EL-GAYAR (F.), 1976.- Some effects of a cyclic and an acyclic juvenoîd on *Aphidoletes aphidimyza* (Dipt : Cecidomyiidae). Entomophaga 21, n° 3, pp. 297-301.

EL-TANTAWI (M.A.), GOUHAR (K.A.), MANSOUR (M.M.) et GUIRGUIS (M.W.), 1976.- Blocking of embryonic developpement in the southern cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* F. (Col. Bruchidae), by some juvenile hormone analogues. Z. angew.Entomol., 81, n°1, pp. 37-42.

FEWKES (D.W.), 1963.- The effect of Farnesol on the eggs of *Aeneolamia varia saccharina* (Homoptera, Cercopidae) Naturwiss., 50, 18, pp. 601-602.

FINDLAY (J.A.), 1971.- Synthesis of Cecropia juvenile hormones and related compounds. Bull. Soc. ent. suisse, 44, n° 1-2, pp. 65-72.

FYTIZAS (E.), 1975.- L'action d'un analogue de l'hormone juvénile, l'Altosid, sur *Dacus oleae* GMEL (Diptera, Trypetidae). Z. ang. Ent., 78, pp. 45-48.

GELBIC (I.) et SEHNAL (F.), 1973.- Effects of juvenile hormone mimics on the codling moth. *Cydia pomonella* L. (Lep., Olethrentidae). Bull. ent. Res., 63, pp. 7-16.

GRANETT (J.), 1974.- Juvenile hormone analogue toxicity to laboratory reared gypsy moth larvae, *Porthetria dispar* (Lepidoptera : Lymantriidae). Can. Ent., 106, 7, pp. 695-699.

GRANETT (J.), WESELOH (R.M.) et HELGERT (E.), 1975.- Activity of Juvenile Hormone analogues on Hymenopterous parasitoids of the Gypsy moth. Ent. exp. et appl., 18, pp. 377-383.

GRELLET (P.), 1969$_1$.- Perméabilité des enveloppes de l'oeuf de *Scapsipedus marginatus* (orthopt. Gryllide). C.R. Acad. Sci., D, Fr, 269, n° 22, pp. 2236-9.

GRELLET (P.), 1969$_2$.- Etude expérimentale de l'absorption d'eau par l'oeuf de *Scapsipedus marginatus* (Orthop. gryllide). C.R. Acad. Sc, D. Fr, 269, n° 24, pp. 2417-20.

HANGARTNER (W.W.), SUCHY (M.) WIPF (H.K.) et ZURFLUEH (R.C.) 1976.- Synthetis and laboratory and field evaluation of a new, highly active and stable insect growth regulator. J. agric. Food chem., 24, n° 1, pp. 169-175

HENRICK (C.A.), STAAL (G.B.) et SIDALL (J.B.), 1973.- Alkyl 3, 7, 11-trimethyl-2, 4-dodecodiensates, a new class of potent insect growth regulators with juvenile hormone activity. J. Agr. Food Chem., 21, pp. 354-359.

HUNT (L.M.) et SHAPPIRIO (D.G.), 1973.- Larval development following juvenile hormone treatment of eggs of the lesser milkweed bug, *Lygaeus kalmii*. J. Insect Physiol., 19, n° 11, pp. 2129-2134.

JENNINGS (R.C.), JUDY (K.J.), SCHOOLEY (D.A.), HALL (M.S.) et SIDDALL (J.B.), 1975.- The identification and biosynthesis of two juvenile hormones from the tobacco budworm moth (*Heliothis virescens*). Life Sci., 16, n° 7, pp. 1033-1039.

JOHANNSEN (O.A.) et BUTT (F.H.), 1941.- Embryology of Insects and Myriapodes. Mc Graw-Hill book Company, N.Y. London.

JUDY (K.J.), SCHOOLEY (D.A.), DUNHAM (L.L.), HALL (M.S.), BERGOT (B.J.) et SIDDALL (J.B.), 1973.- Isolation, structure and absolute configuration of a new natural insect juvenile hormone from *Manduca sexta*. Proc. nation. Acad. Sci., 70, n°5, pp. 1509-1513.

JUDY (K.J.), SCHOOLEY (D.A.), TROETSCHLER (R.G.), JENNINGS (R.C.), BERGOT (B.J.) et HALL (M.S.), 1975.- Juvenile hormone production by corpora allata of *Tenebrio molitor* in vitro. Life Sci., 16, n° 7, pp. 1059-1066.

KARLSON (P.) et NACHTIGALL (M.), 1961.- Ein biologischer test zur quantitiven bestimmung der Juvenilhormon aktivitä von Insektenextrakten. J. Insect Physiol., 7, n°3-4, pp. 210-215.

KONTEV (C.), SEHNAL (F.), ZDAREK (J.) et ONDRACEK (J.), 1974.- The possible control of *Eurygaster integriceps* (Heteroptera, Scutelleridae) by treating eggs and adults with juvenoïds. Acta Ent. bohemoslov., 71, pp. 72-79.

LAW (J.H.), CHING YUAN et WILLIAMS (C.M.), 1966.- Synthesis of a material with high juvenile hormone activity. Proc. Nat. acad. Sci., U.S., 55, pp. 576-578.

LECARRE (A.), 1972.- Une nouvelle génération d'insecticides. La recherche, 3, 21, pp. 221.

LECLANT (F.), 1973.- Aspect écologique de la transmission de la Sharka (Plum pox) dans le Sud-Est de la France. Mise en évidence de nouvelles espèces d'Aphides vectrices. Ann. Phytopath. INRA, 5, pp. 431-439.

LECLANT (F.), LABONNE (G.), LAURIAUT (F.), et RENOUST (M.), 1976.- Essais d'analogues d'hormones juvéniles sur *Myzus persicae* SULZ. (Hom. Aphididae) en verger de pêchers. Ann. Zool. Ecol. animale, 8, n° 1, pp. 109-117.

LEWALLEN (L.L.), 1964.- Effects of farnesol and Ziram on mosquito larvae. Mosq. News, 24, pp. 43-45.

MASNER (P.), SLAMA (K.), LANDA (V.), 1968.- Natural and synthetic materials with insect hormone activity. IV Specific sterility effects produced by a JHA. J. embryol. exp. morph., 1968, vol. 20, 1 pp. 25-31.

MATOLIN (S.), 1970.- Effects of a juvenile hormone analogue on embryogenesis in *Pyrrhocoris apterus* L. Acta Entomol. Bohemoslov., 67, 1, pp. 9-12.

MATOLIN (S.), 1971.- Effets d'un analogue de l'hormone juvénile sur les embryons de 3 ordres d'insectes. Arch. Zool. Exp. Gen. 112-113, pp. 505-509.

MATOLIN (S.) et ROHDENDORF (E.B.), 1972.- Effects of F.M.E vapours on the embryogenesis of *Lepisma inquilinus* (= *Thermobia domestica*) (Thysanura). Acta Entomol. Bohemoslov., 69, pp. 1-6.

MAUGH (T.H.), 1976.- Plant Biochemistry : Two New Ways to fight pests. Science, 192, n° 4242, pp. 874-876.

METWALLY (M.M.), SEHNAL (F.), et LANDA (V.), 1972.- Reduction of fecundity and the control of khapra beetle by the juvenile hormone mimics. J. econ. Entomol., 65, n°6, pp. 1603-1605.

METWALLY (M.M.) et SEHNAL (F.), 1973.- Effects of juvenile hormone analogues on the metamorphosis of beetles *Trogoderma granarium* (Dermestidae) and *Caryedon gonagra* (Bruchidae). Biol. Bull. 144, pp. 368-382.

MEYER (A.S.), SCHNEIDERMAN (H.A.), HANZMANN (E.), et KO (J.H.), 1968.- The two juvenile hormones from the Cecropia silk moth. Proc Nat. Acad. Sci. USA, 60, pp. 853-860.

MILLER (S.) et COLLINS (J.M.), 1975.- The nature of the changes in the pattern of RNA synthesis by the juvenile hormone altosid. J. Insect Physiol., 21, n° 6, pp. 1295-1303.

MILLER (W.W.), WILKINS (J.S.) et DUNHAM (L.L.), 1975.- Determination of altosid insect growth regulator in waters, soils, plants and animals by gas-liquid chromatography. J. of the AOAC., 58, n°1, pp. 10-18.

MJENI (A.M.) et MORRISON (P.E.), 1976.- Juvenile hormone Analogue and Egg Development in the Blowfly, *Phormia regina* (MEIG). Gen. Comp. Endocrinol., 28, n°1, pp. 17-23.

MORENO (D.S.), FARGERLUND (J.) et SHAW (J.G.), 1976.- California red scale : development of a method for testing juvenoïds. J. econ. Entomol., 69, n°2, pp. 292-297.

MORS (W.B.), FASCIO DOS SANTOS (M.), MONTEIRO (H.J.) et GILBERT (B.), 1967.- Chemoprophylactic Agent in Schistosomiasis : 14-15-Epoxygeranylgeraniol. Science, 157, 3791, pp. 950-951.

MULLA (M.S.), NORLAND (R.L.), IKESHOJI (T.), et KRAMER (W.L.), 1974.- Insect Growth Regulators for the control of aquatic Midges. J. Econ. Entomol., 67, n°2, pp. 165-170.

MURAKOSKI (S.), CHANG (C.F.) et TAMURA (S.), 1972.- Increase in silk production by the silkworm, *Bombyx mori* L., due to oral administration of a Juvenile Hormone analogue. Agri. Biol. Chem., 36, pp.695-696.

NORLAND (R.L.) et MULLA (M.S.), 1975.- Impact of altosid on selected members of an aquatic ecosystem. Environmental Entomology, 4, n° 1, pp. 145-152.

NOVAK (V.J.A.), 1969.- Morphogenetic analysis of the effects of juvenile hormone analogues and other morphogenetically active substances on embryos of *Schistocerca gregaria* FORSKAL. J. Embryol. exp. Morph., 21, n°1, pp. 1-21.

NOVAK (V.J.A.), 1971.- Historique et état actuel de la recherche des hormones d'insectes tenant spécialement compte des travaux tchécoslovaques. Arch. Zool. Exp. gen. 112, p. 519-551.

NOVAK (K.) et SEHNAL (F.), 1973.- Action of juvenile hormone analogues om *Euproctis chrysorrhoea* and *Yponomeuta malinella* under field conditions. Acta Entomol. Bohemoslov., 70, n° 1, pp. 20-29.

NOVAK (V.), SEHNAL (F.), ROMANUK (M.) et STREINZ (L.), 1976.- Responses and sensitivity of *Ips typographus* L. (Col. Scolytidae) and *Hylobius abietis* (Col. Curculionidae) to juvenoïds. Z. angew. Entomol., 80, n°2, pp. 118-131.

PASSERA (L.) et SUZZONI (J.P.), 1974.- Action d'un analogue de l'hormone juvénile sur la fécondité d'une fourmi. (Hymenoptera, Formicidae). C.R.Acad. Sci. D, 279, n° 26, pp. 2079-2082.

PETAVY (G.), 1976.- Phagocytose et athrocytose dans l'oeuf d'un insecte, le criquet migrateur africain (*Locusta migratorioïdes*) R. et F., Orthoptère, Acridien. Démonstration, Congrès du centenaire de la Société zoologique de France, PARIS, 6-11 sept.

PEYER (B.) et VOGEL (W.), 1971.- Correlations in the spectrum of activity of JHA. Mitt. Schweiz. Ent. Ges., 44, 1-2, pp. 187-191.

PIHAN (J.C.) et CROCHARD (C.), 1975_1.- Nouveau test biologique de l'activité ovicide des analogues de l'hormone juvénile (AHJ) et intérêt de cette activité. 3ème colloque de physiologie des insectes. Strasbourg, 2 et 3 mai 1975.

PIHAN (J.C.) et CROCHARD (C.), 1975_2.- Action d'un mimétique de l'hormone juvénile sur le développement embryonnaire du Grillon (*Gryllus campestris*). Bull. Soc. Zool. Fr., 100, n°2, pp. 259.

POLIVANOVA (E.N.), 1975.- Inhibition de l'embryogénèse précoce chez *Eurygaster intergriceps* par des analogues de l'hormone juvénile. Zool. Zh. SSSR, 54, n°6, pp. 928-936.

RADWAN (W.) et SEHNAL (F.), 1974.- Inhibition of Metamorphosis by Juvenoïds in *Nauphoeta cinerea* (OLIVIER). Experientia, 30, pp. 615-618.

REDDY (G.) et KRISHNAKUMARAN (A.), 1973.- Effect of Diet on response to Juvenile Hormone in *Galleria mellonella* larvae. Experientia, 29, (5), pp. 621-622.

RETNAKARAN (A.), 1970.- Blocking of embryonic development in the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lépido. Tortricidae) by some compounds with JH activity. The Can. Ent., 102,pp. 1592-96. 102, pp. 1592-96.

RETNAKARAN (A.), 1973_1.- Ovicidal effect in the white weevil *Pissodes strobi* (Coleoptera Curculionidae) of a synthetic analogue of Juvenile Hormone. Can. Ent. 105, 4, pp. 591-594.

RETNAKARAN (A.), 1973_2.- Hormonal induction of supernumerary instars in the spruce budworm, *Chroristoneura fumiferana* (Lepidoptera : Tortricidae). Can. Ent., 105, n°3 pp. 459-461.

RETNAKARAN (A.), 1974.- Induction of sexual maturity in the white pine weevil *Pissodes strobi* (Coleoptera : Curculionidae), by some analogues of Juvenile Hormone. Can. Ent., 106, pp. 831-834.

RETNAKARAN (A.), 1975.- Hormone-mimetic and pharmacological effects of some juvenile hormone analogs on the embryonic respiration of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clemens). Comp. Biochem. Physiol., 50, n° 1, pp. 81-87.

RETNAKARAN (A.), GRISDALE (D.), 1970.- The ovicidal effect of Hydrochlorination reaction mixture on the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidopt. Tortricidae). Ann. of the Entom. Soc. of Amer., 1970, 63, pp. 907-9.

RIDDIFORD (L.M.), 1969.- JH application to hemipteran eggs = delayed effects on postembryonic development. American Society of Zoologists. 9, pp. 1120.

RIDDIFORD (L.M.), 1970_1.- Effects of juvenile hormone on the programming of postembryonic development in eggs of the silkworm, *Hyalophora cecropia*. Dev. Biol., 22, pp. 249-63.

RIDDIFORD (L.M.), 1970_2.- Prevention of metamorphosis by exposure of insect eggs to J.H. analogs. Science USA, 1970, 167, n° 3916, pp. 287-8.

RIDDIFORD (L.M.), 1971.- J.H. and insect embryogenesis. Bull. soc. ent. suisse. Volume 44, n°1-2, pages 177-186.

RIDDIFORD (L.M.), 1972.- JH and Insect embryonic development Its potential role as an ovicide. Insect. juvenile Hormone. MENN JJ BEROZA M., 1972, pp. 95-111.

RIDDIFORD (L.M.) et WILLIAMS (C.M.), 1967.- The effects of juvenile hormone on the embryonic development of silkworms. Proc. Nat . Acad. Sci. USA., 57, pp. 595-601.

RIVIERE (J.L.), 1975.- Effet d'un analogue de l'hormone juvénile sur le développement d'un insecte entomophage *Palesa pavida* (Diptère, Tachinides). Entomophaga, 20 n° 4, pp. 373-379.

RODHENDORF (E.B.) et SEHNAL (F.), 1973.- Inhibition of reproduction and embryogenesis in the firebrat, *Thermobia domestica*, by juvenile hormone analogues. J. Insect Physiol., 19, n°1, pp. 37-56.

ROLLER (M.), DAHM (K.H.), SWEELY (C.C.) et TROST (B.M.), 1967.- The Structure of Juvenile hormone. Angew. Chem. Intern., 6, pp. 179-180.

ROMANUK (M.), SLAMA (K.) et SORM (F.), 1967.- Constitution of a compound with a pronounced juvenile hormone activity. Proc. Nat. Acad. Sci. (USA), 57, pp. 349-352.

ROUSSEL (J.P.), 1973.- Action de substances mimétiques de l'hormone juvénile sur le rythme cardiaque de *Locusta migratoria* L. et de *Schistocerca gregaria* FORSK. C.R. Acad. Sci. D, 277, n°12, pp.1053-1056.

ROUSSEL (J.P.), 1975_1.- Actions juvénilisante, chromatotrope, gonadotrope et cardiotrope de JH III sur *Locusta migratoria*. J. Insect. Physiol., 21, n°5, pp.1017-1025.

ROUSSEL (J.P.), 1975_2.- L'activité de l'hormone juvénile synthétique en C-18 de *Hyalophora cecropia* chez *Locusta migratoria* en fonction de l'âge des solutions. Bull. Soc. Zool. Fr , 100, n°4, pp. 551-560.

ROUSSEL (J.P.), PERRON (J.M.), 1974.- Action de substances mimétiques de l'hormone juvénile sur *Schistocerca gregaria* FORSK. Arch. Zool. exp. gén., 115, pp. 251-262.

SARMIENTO (R.), Mc GOVERN (T.P.) et BEROZA (M.), 1973.- Insect Juvenile Hormones : highly potent synthetic mimics. Science, 179, 4080, pp. 1342-1343.

SCHAEFER (C.H.) et WILDER (W.H.), 1972.- Insect developmental Inhibitors : A practical Evaluation as Mosquito Control Agents. J. Econ. Entomol., 65, pp. 1066-1071.

SCHAEFER (C.H.) et WILDER (W.H.), 1973.- Insect Developmental Inhibitors. 2. Effects on target Mosquito species. J. Econ. Entomol., 66, pp.913-916.

SCHMIALEK (P.), 1961.- Die identifiezierung zneier in tenebriokot und in nefs verkommeuder substanzen mit juvenilhormonwinklung.Z. Naturforsch. 16 B, pp.461-464.

SCHMIALEK (P.), 1963_1.- Metamorphosehemmung von *Tenebrio molitor* durch F.M.E. Z. Naturforsch., 18, n°7, pp. 513-515.

SCHMIALEK (P.), 1963_2.- Uber Verbrindungen mit Juvenilhormonwirkung. Z. Naturforsch., 18, n°7, pp. 516-519.

SCHNEIDERMAN (H.A.) et GILBERT (L.I.), 1964.- Control of growth and development in Insects. Science, 143, pp. 325-333.

SEHNAL (F.), METWALLY (M.M.) et GELBIC (I.), 1976.- Reactions of immatures stages of noctuid moths to juvenoïds. Z. angew. Entomol. 81, n° 1, pp. 85-102.

SHOUKRY (A.) et EL-DESSOUKI (S.A.), 1974.- Effects of the juvenile hormone analogue ZR-512 on the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* WIELD. Z. angew. Entomol. 76, n°2, pp. 134-137.

SKUHRAVY (V.), 1973.- Field control of the larch case-bearer moth *Coleophora latricella* with a juvenoïd. Acta Entomol. bohemoslov., 70, 5, pp. 313-322.

SLAMA (K.), ROMANUK (M.) et SORM (F.), 1969.- Natural and synthetic materials with insect hormone activity. II : J.H. activity of some derivates of farnesenic acid. Biol. Bull. USA, 136, n°1, pp.91-95.

SLAMA (K.) et WILLIAMS (C.M.), 1966_1.- "Paper factor" as an inhibitor of the embryonic development of the European bug, *Pyrrhocoris apterus*. Nature (London) 210, pp. 329-330.

SLAMA (K.) et WILLIAMS (C.M.), 1966_2.- The J.H. V. The sensitivity of the Bug *Pyrrhocoris apterus* to a hormonally active factor in american paper pulp. Biol. Bull., 130, pp. 235-246.

SMITH (R.F.) et ARKING (R.), 1975.- The effects of juvenile hormone analogues on the embryogenesis of *Drosophila melanogaster*. J. Insect Physiol., 21, n°4, pp.723-732.

SMITH (E.H.) et SALKELD (E.H.), 1966.- The use and action of ovicides. Ann. Rev. Entomol., 1966, 11, pp.331-368.

SORM (F.), 1971.- Some juvenile hormone analogues. Bull. Soc. ent. suisse., 44, n°1-2, pp. 7-16.

SPIELMAN (A.) et WILLIAMS (C.M.), 1966.- Lethal effects of synthetic JH on larvae of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. Science, 1966, 154, pp. 1043.

SRIHARI (T.), BREUZET (M.) et CAUSSANEL (C.), 1975.- Effets d'un mimétique de l'hormone juvénile sur le développement post-embryonnaire de *Labidura riparia* (dermoptera Labiduridae). C.R. Acad. Sc. (D), 280, n°9, 1107-1110

SROKA (P.), BARTH (R.H.), GILBERT (L.I.) et STAAL (G.B.), 1975.- Insect juvenile hormone mimics : a structural basis for gonadotropic activity in a cockroach and a moth. J. Insect Physiol., 21, n°2, pp. 463-469.

STAAL (G.), 1971.- Practical aspects of Insect control by Juvenile Hormone. Bull. Wld. Hlth. Org., 44, pp.391-394.

STAAL (G.B.), 1972.- Biological activity and Bio-Assay of J. H.A. In Insect Juvenil Hormones, MENN J.J. et BEROZA M., pp. 69-94.

STAAL (G.B.), NASSAR (S.) et MARTIN (J.W.), 1973.- Control of the citrus mealybug with insect growth regulators Juvenile Hormone activity *Planococcus citri*. J. Econ. Entomol., 66, 4, pp.851-853.

STEELMAN (C.D.), FARLOW (J.E.), BREAUD (T.P.), et SCHILLING (P.E.), 1975.- Effects of growth regulators on *Psorophora columbiae* (DYAR and KNAB) and non-target aquatic species in rice fields. Mosquito news, 35, n°1, pp.67-76.

STOCKEL (J.), 1975.- Les analogues de l'hormone juvénile, ou régulateurs de croissance chez l'insecte. Possibilités d'application dans la lutte contre les espèces nuisibles. Ann. Zool. Ecol. anim., 7, n°1, pp.91-118.

STOCKEL (J.)- Premiers résultats de laboratoire sur l'efficacité curative et préventive d'analogues de l'hormone juvénile appliqués en tant qu'insecticides contre deux insectes des céréales entreposées *Sitotroga cerealella* OLIV. et *Sitophilus granarius* L. (sous presse).

TAKESHI MIURA et TAKAHASHI (R.M.), 1973.- Insect Developmental inhibitors. 3 - Effects on Nontarget Aquatic Organisms. J. Econ. Entomol., 66, pp.917-922.

TAKIGAWA (T.), MORI (K.) et MATSUI (M.), 1975.- Synthesis and biological activity of some juvenile hormone analogs lacking the alkyl substituent at C-7 or both at C-3 and at C-7. Agric.biol.Chem., Jap.,39, n°1,pp.249-258.

TRAUTMANN (K.H.), MASNER (P.), SCHULER (A.), SUCHY (M.) et WIPF (H.K.), 1974.- Evidence of the juvenile hormone methyl (2E-6E)-10, 11-epoxy-3, 7,11-trimethyl-2, 6-dodecadienoate (JH_3) im insects of four orders. Z. Naturforsch., 29, n° 11-12, pp.757-759.

TROISI (S.J.) et RIDDIFORD (L.M.), 1974.- Juvenile hormone effects on metamorphosis and reproduction of the fire ant *Solenopsis invicta*. Environment. Entomol. 3, n°1, pp.112-116.

VAN DE VEIRE (M.) et DE LOOF (A.), 1973.- Effects of synthetic cecropia juvenile hormone and of a mimic substance, applied to different stages of the cabbage maggot *Hylemyia brassicae*. Entomol. exper. appl., 16, n°4, pp.491-498.

VAN TAMELEN (E.E.) et MAC CORMICK (J.P.), 1970.- Synthesis of Cecropia juvenile hormone from trans, trans-farnesol. J. Am. chem. Soc., 92, pp.737-738.

VOEGELE (J.), 1966.- Biologie et morphologie de *Graphosoma semipunctata* FABRICIUS (Heteroptera, Pentatomidae). Al Awamia, 20, pp.43-101.

VOEGELE (J.), 1967.- Embryogénèse de *Aelia cognata* FIEB. Al Awamia, 24, pp.41-65.

WALKER (W.F.), 1973.- Mexican bean bettle. Compounds with Juvenile activity (juvegens) as potential control agents ; *Epilachna varivestis*. J. Econ. Entomol. 66, 1, pp.30-33.

WALKER (W.F.) et BOWERS (W.S.), 1970.- Synthetic juvenile hormones as potential coleopteran ovicides. J. Econ. Entomol., 63, pp.1231-1233.

WALKER (W.F.) et BOWERS (W.S.), 1973.- Comparative juvenile hormone activity of some terpenoïd ethers and esters on selected coleoptera. J. Agr. Food Chem., 21, pp. 145-148.

WALL (C.), 1974.-Disruption of embryonic development by juvenile hormone and its mimics in *Dysdercus fasciatus* Sign. (Hemiptera, Pyrrhocoridae). Bull. entomol. Res., 64 n°3, pp.421-433.

WANYONYI (K.), 1974.- The influence of the juvenile analogue ZR-512 (Zoecon) on caste development in *Zootermopsis nevadensis* HAGEN (Isoptera). Insectes soc. Fr.,21 n°1, pp. 35-44.

WIGGLESWORTH (V.B.), 1963.- J.H. effect of farnesol and some related compounds : quantitative experiments. J. Insect Physiol., 9, pp.105-119.

WIGGLESWORTH (V.B), 1969.- Chemical structure and JH activity. Nature G.B 1969, 221, n°5176, pp.190-191.

WIGGLESWORTH (V.B.), 1973.- Assays on *Rhodnius* for Juvenile Hormone activity. J. Insect Physiol., 19, n°1, pp. 205-211.

WILLIAMS (C.M.), 1956.- The J.H. of Insects. Nature, G.B. 178, pp.212-213.

WILLIAMS (C.M.), 1966.- Selective control of insects by juvenile hormone analogues. Science, 152, pp. 677.

WILLIAMS (C.M.), 1967.- Third generation of pesticides. Scientific American, 217, pp. 13-17.

WILLIAMS (C.M.), 1969.- JH insecticides. Acad. Naz. Lincei (Roma), 128, pp.79-87.

WILLIS (J.H.) et LAWRENCE (P.A.), 1970.- Deferred action of J.H., Nature G.B., 1970, 225, 5227, pp. 81-83.

WRIGHT (J.E.) et BOWMAN (M.C.), 1973.- Determination of the JH active compound Altosid and its stability in stable fly medium. J. Econ. Entomol., 66, 3, pp.707-709.

YOUNGER (R.L.), WRIGHT (J.E.), SMALLEY (H.E.), CROOKSHANK (H.R.) et NORMAN (J.O.), 1975.- Effects of 5 juvenile hormone analogues applied topically to cattle naturally infested with *Hypoderma larvae* (Diptera, Oestridae). J. med. Entomol. HAWAII, 12, n°5, pp.517-524.

ZAMBRE (S.K.), 1974.- Effect of JHA on the embryonic Development of *Drosophila melanogaster* Meigen. General and comparative Endocrinology, 1974, 22, n°3, pp.415.

ANNEXE BIBLIOGRAPHIQUE

EL-IBRASHY (M.T.), 1970.- Insect Hormones and Analogues : Chemistry, Biology and insecticidal Potencies. Z. angew. Entomol. (D), 66, n°2, pp. 113-144.

MENN (J.J.) et BEROZA (M.), 1972.- Insect Juvenile hormone Academic Press, 341p.

PIHAN (J.C.), 1975.- Utilisation des effets tératogènes des hormones juvéniles et de leurs mimétiques dans la lutte contre les insectes. Année biol., 14, n° 1-2, pp. 29-44.

PIHAN (J.C.), 1976. - Intérêts écologiques et limite de l'utilisation des analogues del'hormone juvénile et des hormones de mue et de croissance comme insecticides. Congrès de l'Association Française pour l'avancement des Sciences, 5-8 juillet 76.

SLAMA (K.), 1971.- Insect JH analogues. Ann. Rev. Biochem., 40, pp. 1079-1102.

SLAMA (K.), ROMANUK (M.) et SORM (F.), 1974.- Insect hormones and Bioanalogues. Springer-Verlags, 477 p.

STAAL (G.B.), 1975.- Insect growth regulators with juvenile hormone activity. Annu. Rev. Entomol., 20, pp. 417-460.

STOCKEL (J.), 1975.- Les analogues de l'hormone juvénile, ou régulateurs de croissance chez l'insecte. Possibilités d'application dans la lutte contre les espèces nuisibles Ann. Zool. Ecol. Anim., 7, n°1, pp.91-118.

Colloque franco-tchécoslovaque sur les hormones des insectes, Prague 12 - 15 octobre 1970, dans : Arch. Zool. Exp. Gén., 1971, 112, pp. 505-589.

1er Symposium Suisse sur les Hormones Juvéniles, Bâle, 16 et 17 octobre 1970 dans : Bull. Soc. ent. suisse 1971, 44, n°1-2, 207 p.

PLAN DETAILLE

INTRODUCTION

A - Du farnesol à l'altozar et à l'altosid..... 2
B - Travaux déjà réalisés avec l'altozar et l'altosid..... 6
C - Le pouvoir ovicide des analogues de l'hormone juvénile..... 9
D - Présentation du travail actuel..... 16

CHAPITRE I : EXPERIMENTATION SUR LES OEUFS DE *GRYLLUS BIMACULATUS*

I - MATERIEL ET TECHNIQUES UTILISES..... 18

A - Méthode d'élevage..... 18
1°) Conduite de l'élevage..... 18
2°) Prélèvement des pontes..... 19

B - Méthode expérimentale..... 19
1°) Utilisation des produits..... 19
2°) Mode d'application des produits..... 19
3°) Incubation et lecture des résultats..... 19
4°) Techniques histologiques..... 20

II - LES PRINCIPALES ETAPES DU DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE NORMAL..... 21

III - ETUDE EXPERIMENTALE DU POUVOIR OVICIDE..... 23

A - Traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure..... 23
1°) Taux d'éclosion des témoins..... 23

2°) Action de l'altosid..... 23
a) Etude quantitative..... 23
b) Etude qualitative..... 28
α) influence sur le moment de l'éclosion..... 28
β) examen des oeufs non éclos..... 31
γ) étude histologique..... 36
. Action sur le système nerveux..... 36
. Action sur les appendices..... 38
. Action au niveau du tube digestif.. 38
- stomodéum..... 38
- voisinage de la valvule cardiaque..... 39
- mésentéron..... 40
. Actions diverses..... 40
- muscles..... 40
- oenocytes..... 40

3°) Action de l'altozar..... 47
a) Etude quantitative..... 47
b) Etude qualitative..... 53

B - Traitement d'oeufs au cours du développement embryonnaire..... 57
1°) Effet sur les taux d'éclosion..... 57
a) cas de faibles dilutions..... 57
b) cas de dilutions voisines de la DI. L. 50..... 58
c) cas de dilutions supérieures à la DI. L. 50..... 58
d) cas de grandes dilutions..... 59
2°) Etat des embryons morts dans l'oeuf..... 67
a) résultats..... 67
b) discussion..... 71
α) expériences de lavage..... 71
β) expériences de transferts d'activité. 75
γ) expériences de traitements topiques.. 78
δ) conservation de l'activité ovicide... 79

c) étude histologique..... 81
α) action sur les appendices et le tégument..... 82
β) action sur le système nerveux..... 82
γ) action au niveau du tube digestif..... 83
δ) actions diverses..... 84

C - Conclusions et discussion..... 92

CHAPITRE II : EXPERIMENTATION SUR LES OEUFS D'
EPHESTIA KUEHNIELLA

A - MATERIEL ET TECHNIQUE UTILISES..... 98
1°) Méthode d'élevage..... 98
2°) Méthode expérimentale..... 99
a) obtention des oeufs..... 99
b) traitement..... 100
3°) Techniques histologiques..... 102

B - DEVELOPPEMENT TEMOIN..... 104

C - ETUDE DE L'ACTION OVICIDE..... 114
1°) Etude quantitative..... 114
a) traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure..... 114
b) traitement au cours du développement embryonnaire..... 118
c) expériences de lavages..... 121
2°) Etude qualitative..... 121
a) considérations générales..... 121
b) étude histologique..... 122
α) traitement d'oeufs âgés de moins d'une heure..... 122
β) traitement d'oeufs âgés de 24 heures. 125

D - CONCLUSIONS ET DISCUSSION..... 130

CHAPITRE III : ESSAIS DIVERS

I - *Tenebrio molitor*..... 133

II - *PENTATOMIDES* 134

III - *Culex pipiens*..... 135

IV - *Bombyx mori*..... 135

CONCLUSION GENERALE ET DISCUSSION..... 139

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE..... 146

ANNEXE BIBLIOGRAPHIQUE..... 161